

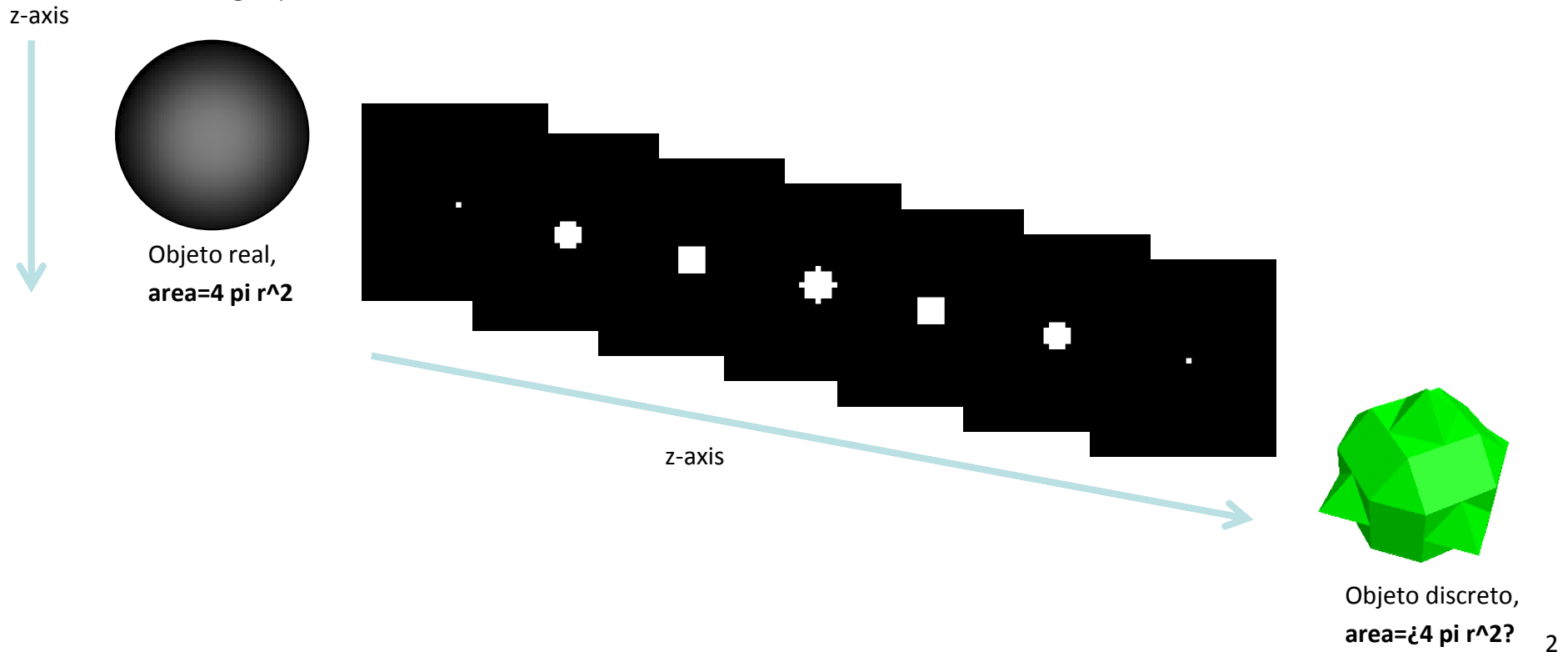
Image Analysis 3:

Shape & Topology description

Mauricio Cerda

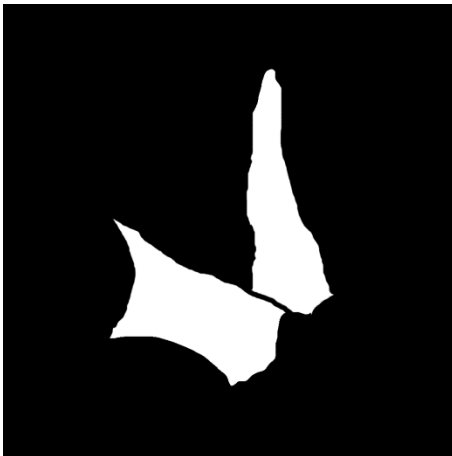
Luego de realizar la segmentación (automática o manual):

- ¿Cómo caracterizar 1 objeto o diferenciar 2 (o más) objetos?
- ¿Cómo cuantificar en imágenes discretas?
- ¿Qué error tendrá esta medición?



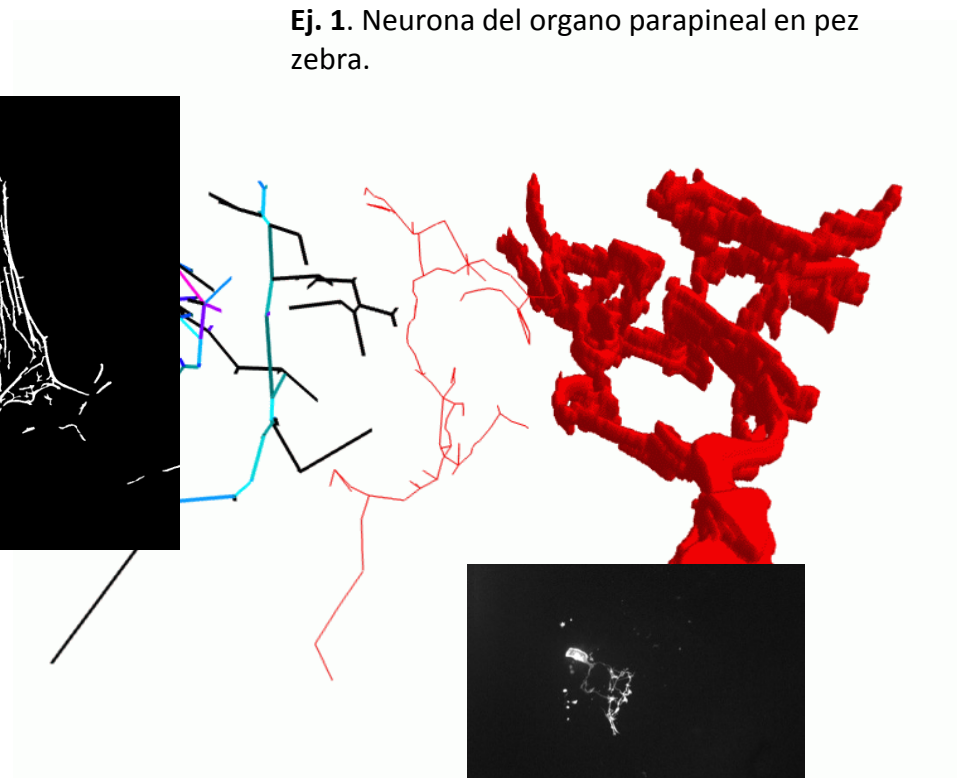
En esta sesión estudiaremos los principales parámetros para cuantificar un ROI (binario).

Ej. 1. Análisis de forma y fibras de actina en cultivos de fibroblastos.



Imágen original (2D), Prof. Lisette Leyton

Ej. 1. Neurona del organo parapineal en pez zebra.

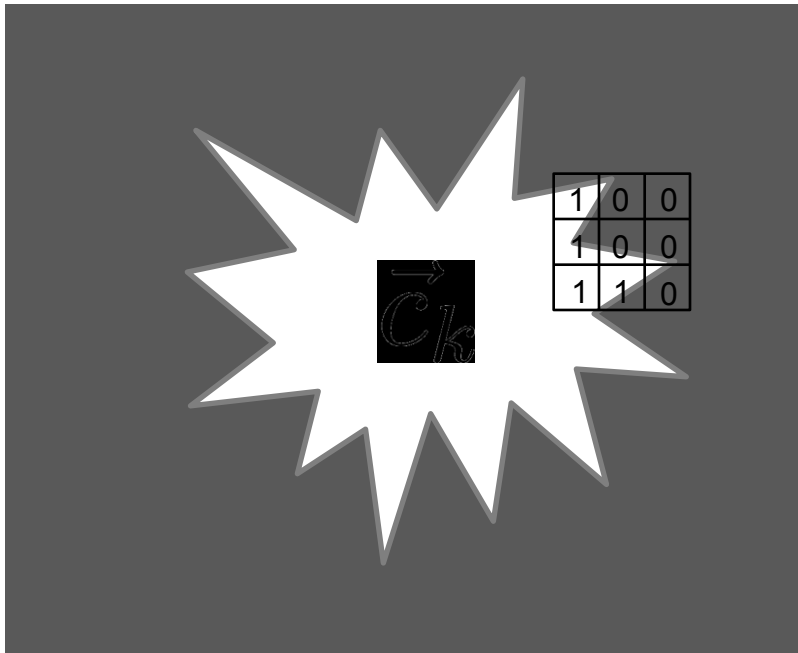


Imágen original y segmentación (3D), Karina Palma y colaboradores.

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. Momentos de morfología (orden 0-2).
3. Descriptores compuestos.
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. Momentos de morfología (orden 0-2).
3. Descriptores compuestos.
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).
6. Texturas

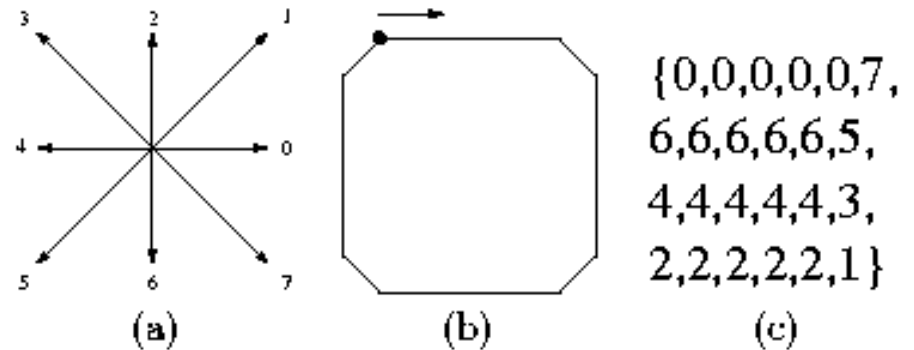
Definición de un ROI (binario) en una imagen/stack y su representación “chain code”.



Definiciones:

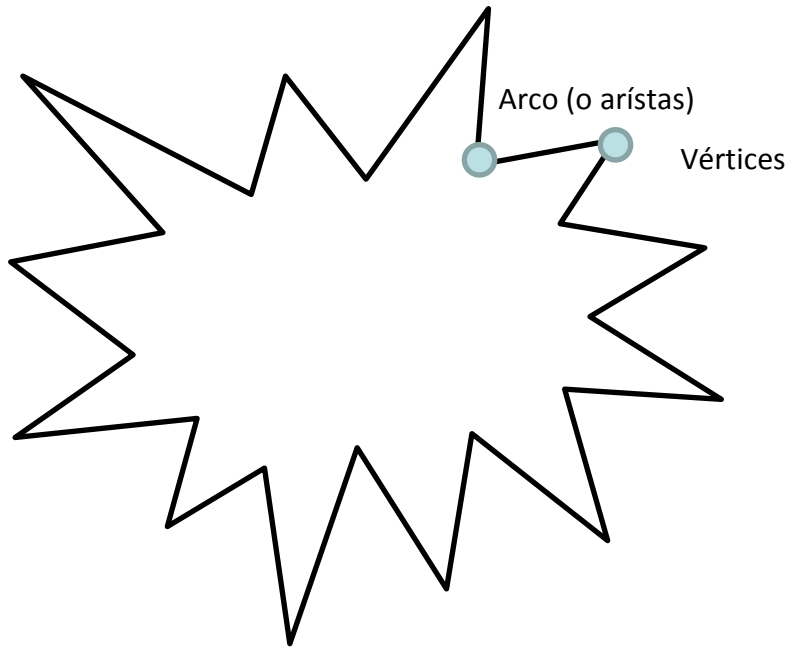
- Imagen Binaria $I(x, y) \in \{0, 1\}$
- Coordenadas del ROI $\vec{c}_k = (x, y)$
- Entonces $I(\vec{c}_k) = 1$

- Alternativa, chain code:



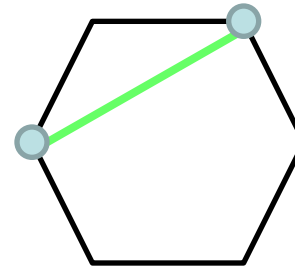
Otra representaciones:

- Polígono (2D)=vertices y arcos
- Superficie (3D)=caras

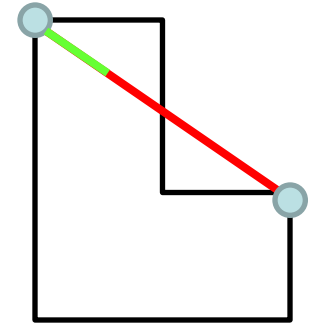


Clasificación:

- Si la línea entre dos puntos siempre pertenece al conjunto.



Polígono convexo



Polígono no-convexo

Dado un ROI binario, existen varias definiciones de su ubicación:

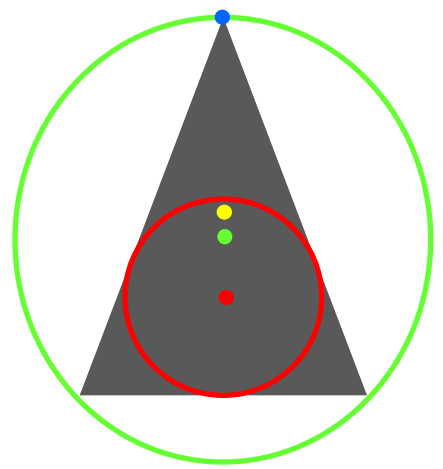
- Punto más cercano (■)
- Centro de masa/baricentro (■)
- Incentro (■)
- Circuncentro (■)

$$\vec{c}_p = \operatorname{argmin}_{\vec{c}_p} \{ |\vec{p} - \vec{c}_p| \}$$

$$\vec{c}_m = \frac{\sum \vec{c}_k}{n}$$

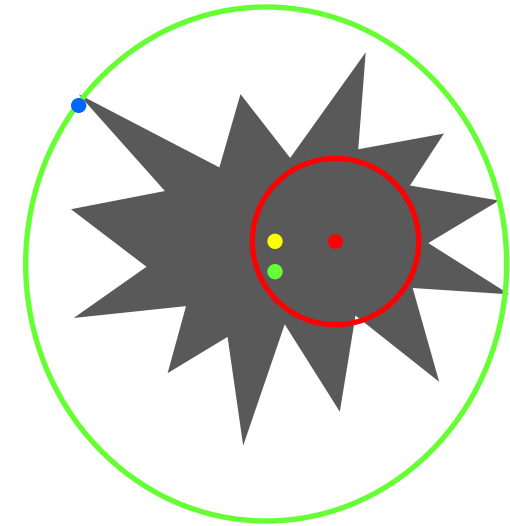
$$c_i$$

$$c_o$$



Polígono convexo (3)

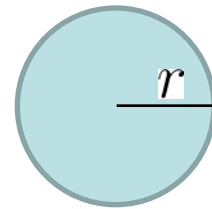
⊗
 p



Polígono no convexo (3)

El perímetro es el largo de contorno de un ROI en 2D. Para figuras simples es:

- Círculo



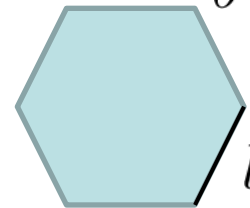
$$2\pi r$$

- Rectángulo



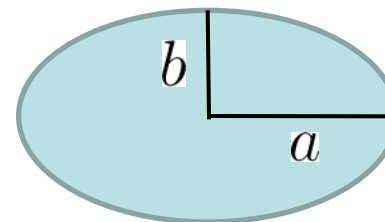
$$2(a + b)$$

- Polígono regular de n caras de largo l



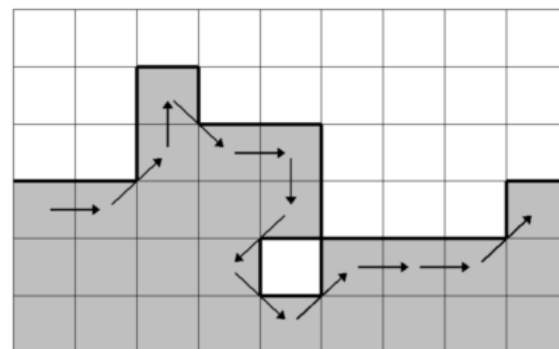
$$nl$$

- Elipse...



El perímetro se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?

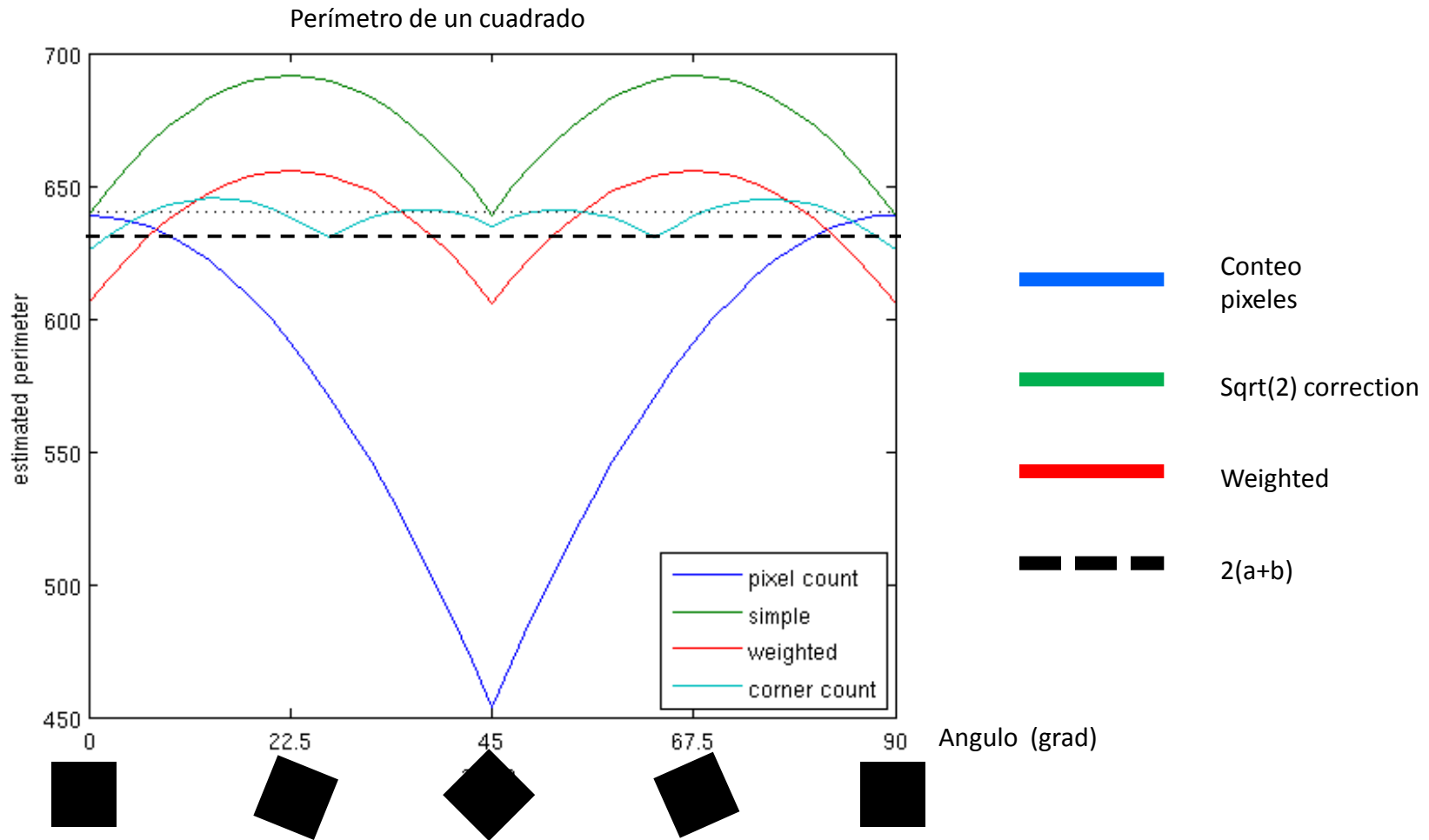
- Usando “chain code” cuento pixeles, Cada “flecha” suma 1
 - ¿Qué mejora se puede realizar?



- Usando representación poligonal (ej. contornos activos), suma de segmentos de recta

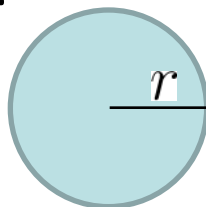


En general el perímetro se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?



El area describe la superficie de un objeto 2D. Existen formulas conocidas en geometrías simples:

- Circulo



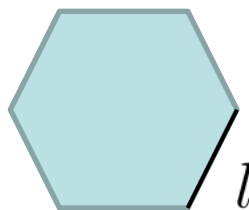
$$\pi r^2$$

- Rectangulo



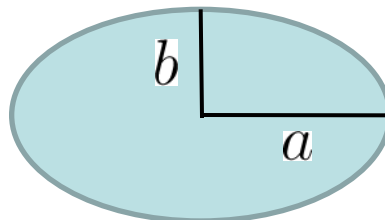
$$ab$$

- Polígono regular de n
caras de largo l



$$n \frac{l^2}{4} \tan \left(\frac{\pi(n-2)}{2n} \right)$$

- Elipse

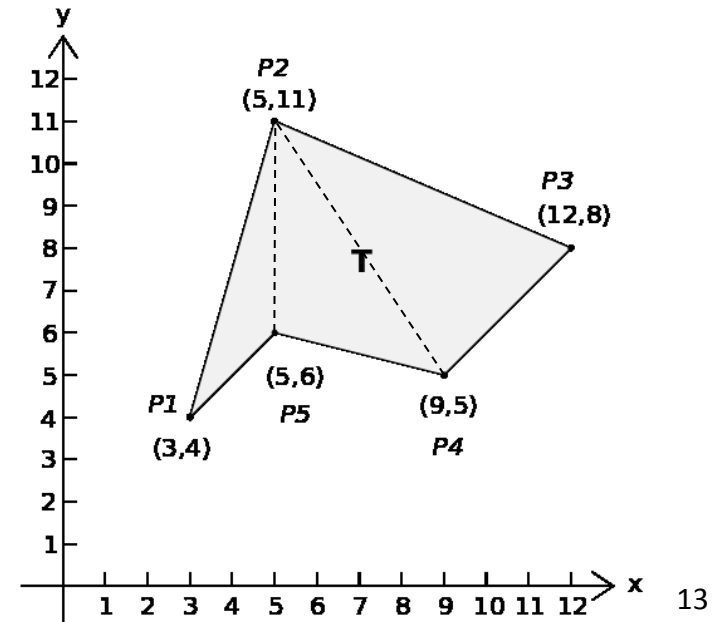
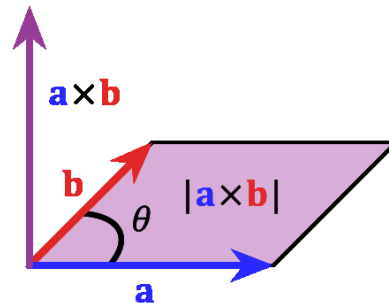
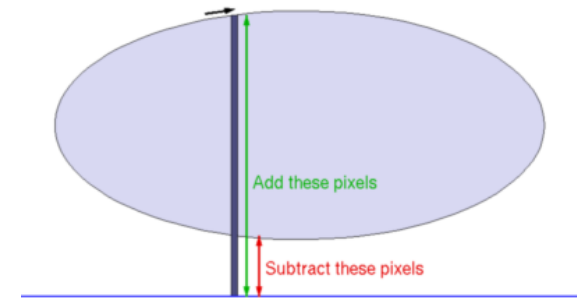


$$\pi ab$$

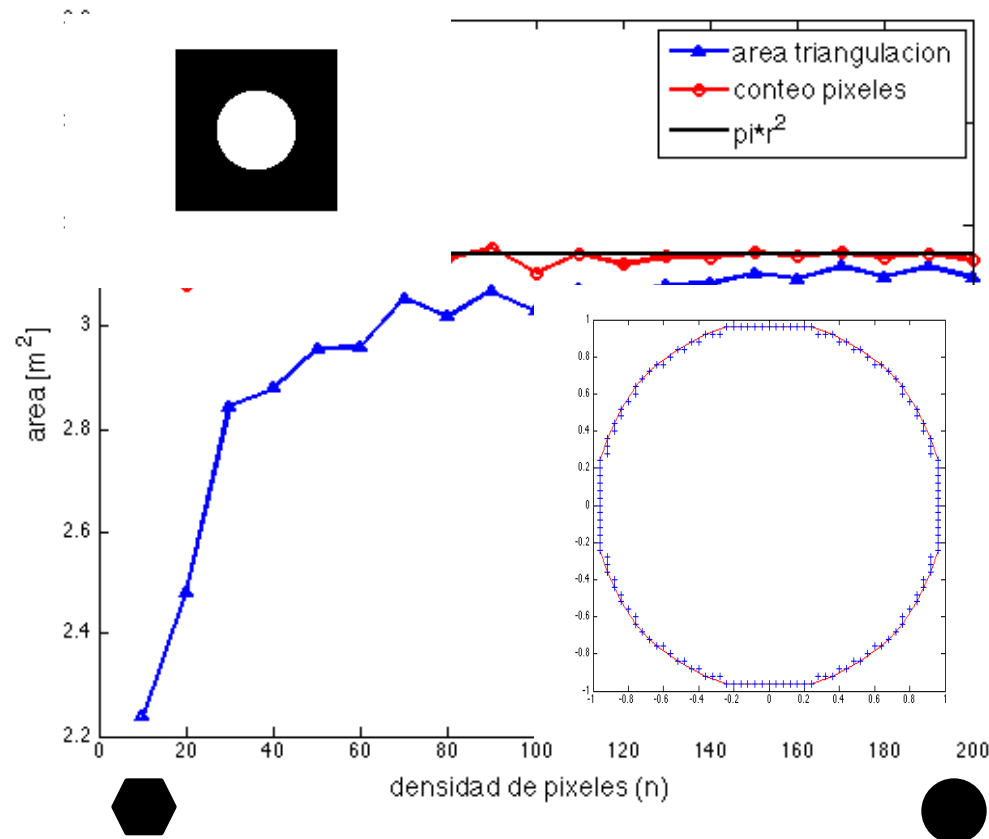
El area (2D) se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?

- Usando ROI binario
 - Sumar todo el ROI
 - Usar chain code con una línea extra

- Usando representación del contorno
 - Usando el algoritmo de shoelace.

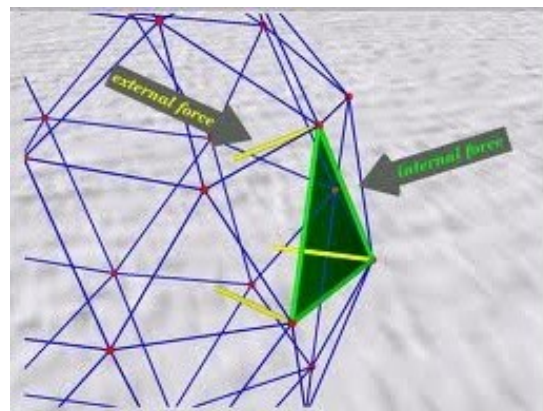


En general el area (2D) se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿que metodo elegir?

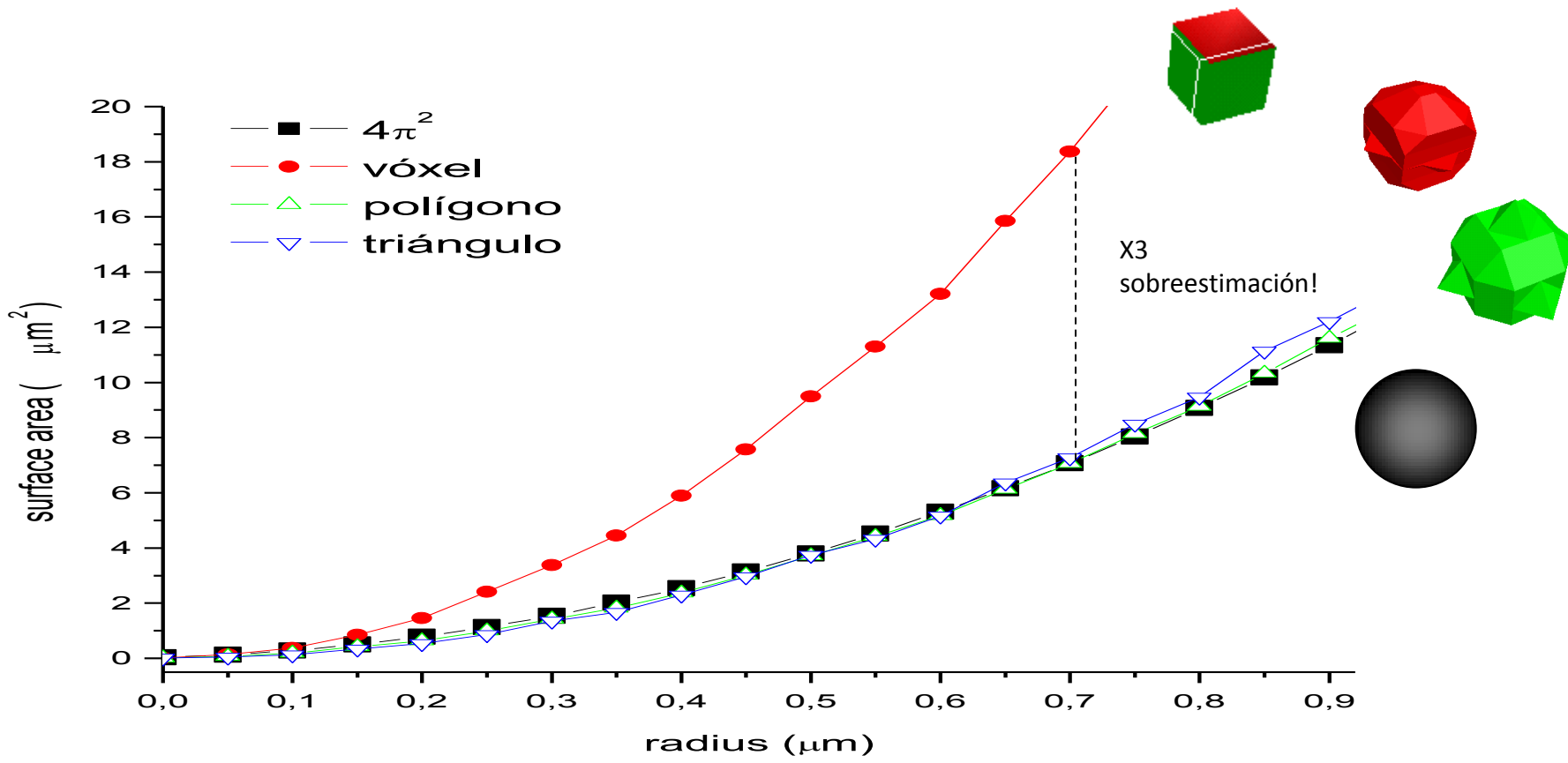


En 3D también se puede medir la superficie de un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?

- Usando ROI Binario, contar cada voxel del contorno
- Representación de superficie
Medir el area de cada triangulo



En 3D también se puede medir la superficie de un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?



El volume describe la el tamaño de un objeto 3D. Existen formulas conocidas en geometrías simples:

- Esfera



$$\frac{4}{3}\pi r^3$$

- Elipsoide



$$\frac{4}{3}\pi abc$$

- Paralelepipedo



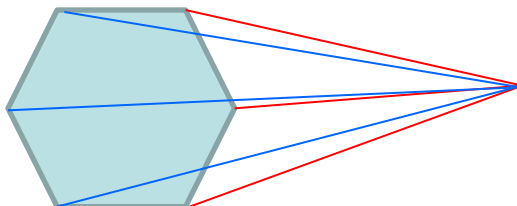
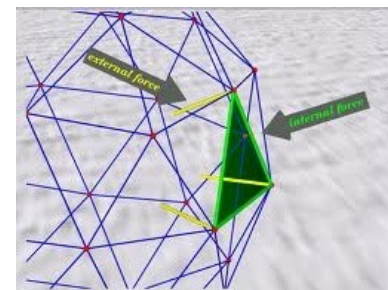
$$abc$$

En general el volumen (3D) se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?

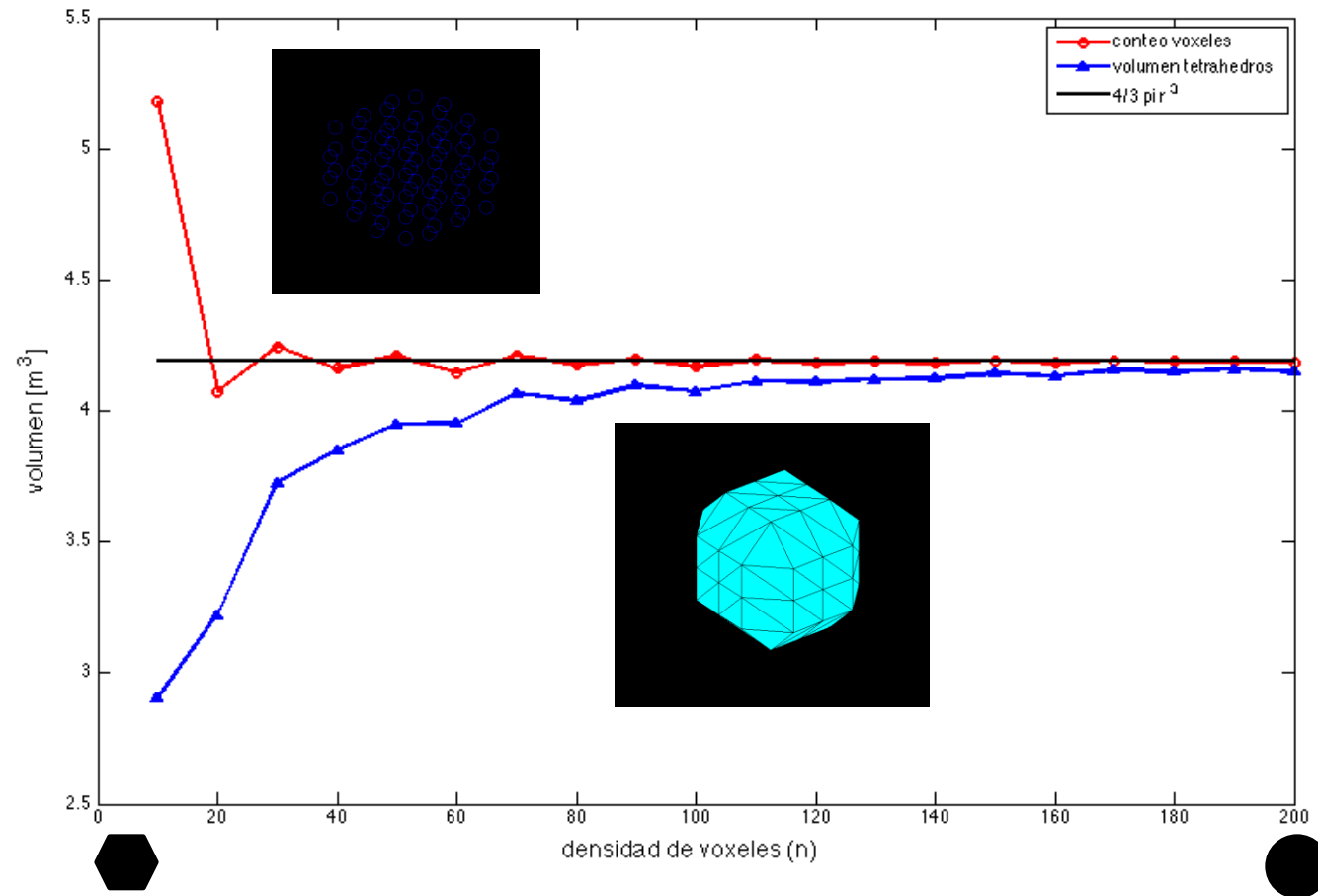
- Usando ROI Binario, contar cada voxel del ROI



- Representación de contorno, sumar El volumen con signo del tetrahedro de cada triangulo y un punto cualquiera.



En general el volumen(3D) se puede medir directamente en un ROI binario o el polígono que lo representa, ¿cuál elegir?



- Hay un compromiso entre algoritmos:
 - Simples, rápidos, poco preciso
 - Más complejos, más pesados, más precisos
 - Al medir perímetro (2D) /curvatura (2D) / area (3D) las representaciones geométricas son mas precisas.
 - Al medir area (2D) / volumen el conteo de pixeles es preciso.

1.- Calcule el area y el volumen de la siguiente figura:

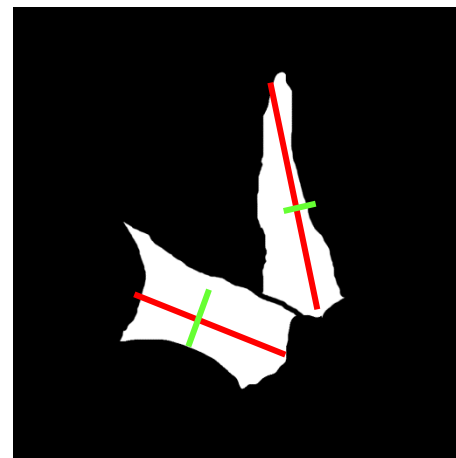
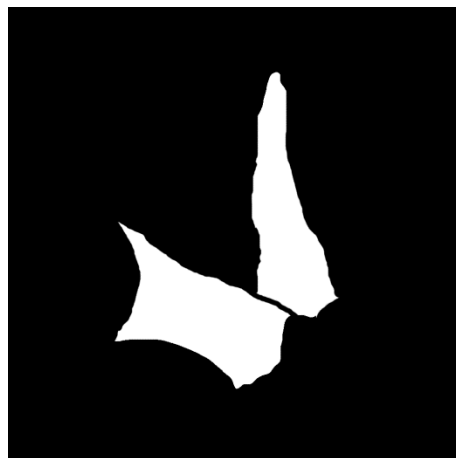


$$AB = 1 \quad BC = 2$$

2.- A partir de un polígono de n vertices cualquiera, se puede construir un polígono convexo con sus vértices, proponga paso a paso como podría calcularlo (gráficamente). ¿Cuántos pasos requiere su algoritmo?

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. **Momentos de morfología (orden 0-2).**
3. Descriptores compuestos.
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).
6. Complejidad y el camino más corto.

Ubicación, perímetro, area y volumen describen parcialmente un objeto, pero no caracterizan su forma.



Imágen original (2D),
Prof. Lissette Leyton

¿Como cuantificar que tan alargado es un objeto?

Un ROI también se puede analizar como una “distribución” cuyos momentos describen sus características.

En 1 dimensión el momento estadísticos de orden p es:

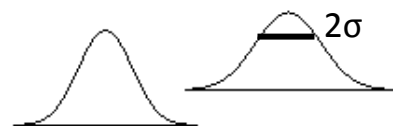
$$m_p = \sum x^p \rho(x)$$

$$\rho(x) = 1$$

$$\mu_p = \sum (x - \bar{x})^p \rho(x)$$

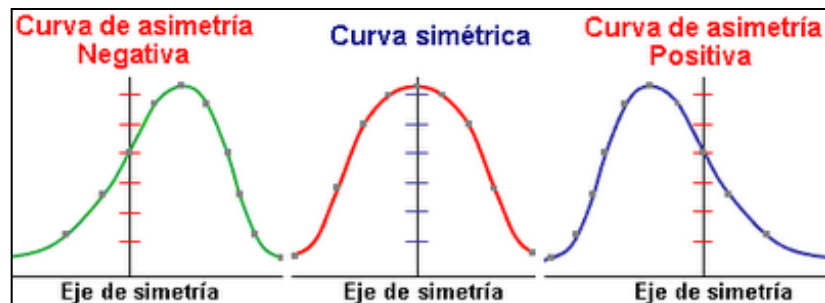
$K=2$

Medición de
Dispersión



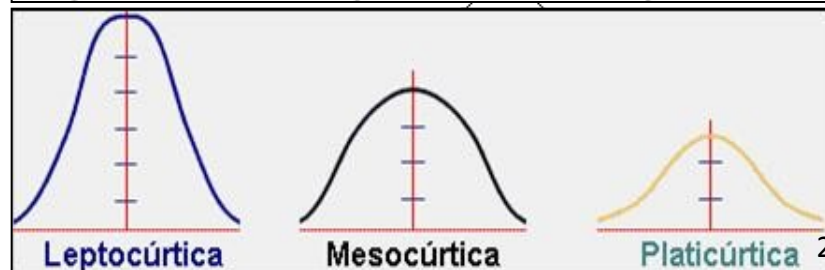
$K=3$

Medición de
Asimetría



$K=4$

Medición de
Curtosis



En 2D se pueden definir “momentos” de morfología:

$$m_{p,q} = \sum x^p y^q I(x, y) \quad \mu_{p,q} = \sum (x - \bar{x})^p (y - \bar{y})^q I(x, y)$$

Momento centrado de orden p

El momento de orden zero:

$$m_{0,0} = \sum I(x, y)$$

$$area = m_{0,0}$$

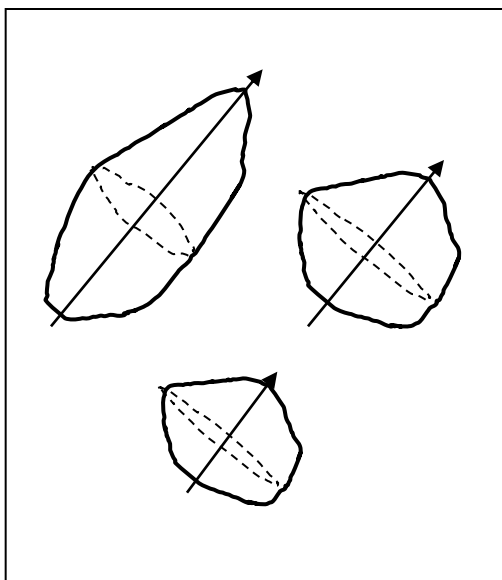
Los momentos de orden uno:

$$m_{1,0} = \sum x I(x, y)$$

$$m_{0,1} = \sum y I(x, y)$$

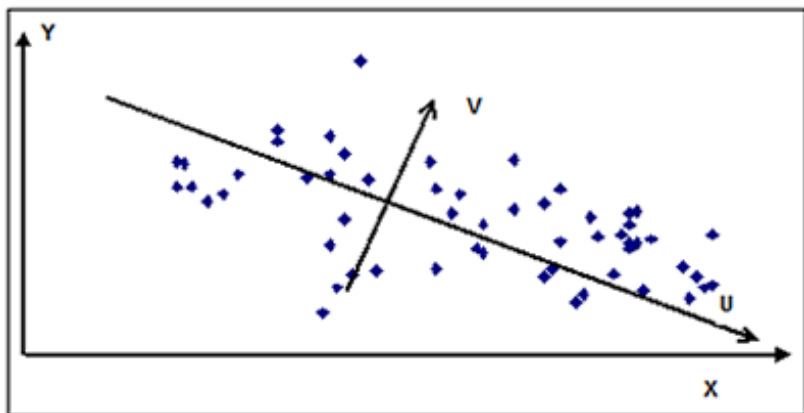
$$\vec{c}_m = \left(\frac{m_{1,0}}{m_{0,0}}, \frac{m_{0,1}}{m_{0,0}} \right)$$

Combinaciones de momentos de morfología de orden 2 describen ROI's con más detalle mediante sus **ejes principales**:



- El **Eje Principal** corresponde a aquel en la dirección a lo largo de la cual la **varianza sea máxima**
- El **Eje Secundario** será el que, siendo ortogonal al anterior, se ubique en la dirección que represente la mayor varianza de puntos
- (3D) El **Eje Terciario**, es ortogonal a los dos anteriores.

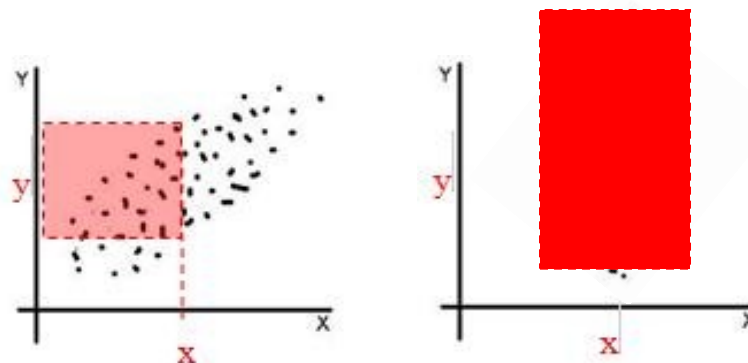
Varianza



En la nube de puntos, la varianza en X es mayor que en Y, pero si definimos los nuevos ejes U y V obtendremos **la máxima varianza** en U

$$\sigma_x^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N} = \frac{\mu_{2,0}}{\mu_{0,0}}$$

Covarianza



Covarianza positiva

Covarianza cero

Su valor representa el **grado de correlación** entre una coordenada y otra en la forma del objeto

$$\sigma_{xy}^2 = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{N} = \frac{\mu_{1,1}}{\mu_{0,0}}$$

Cálculo de ejes principales mediante mom. de orden 2

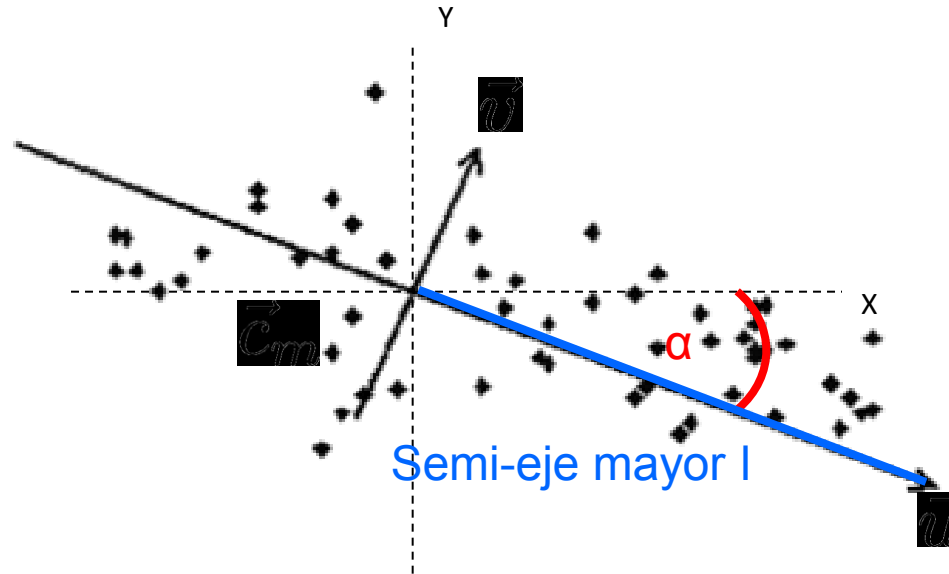
Matriz de Varianza/Covarianza

$$\sigma^2 = \frac{1}{\mu_{0,0}} \begin{bmatrix} \mu_{2,0} & \mu_{1,1} \\ \mu_{1,1} & \mu_{0,2} \end{bmatrix}$$

La covarianza será **no nula** cuando la coordenada **x** nos dé algún indicio de la coordenada **y**

Para el sistema de los ejes principales, las covarianzas se ANULAN
Es decir la matriz es diagonal

Buscamos dos parámetros para caracterizar el ROI:



- La rotación del eje mayor la llamamos “ α ”
- Si sabemos que la matriz de varianza/covarianza es diagonal en las direcciones propias.
- Si además supongo una forma para u

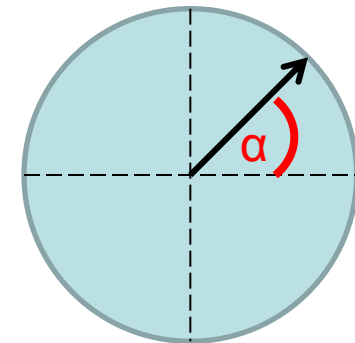
$$\sigma^2 \vec{u} = \lambda \vec{u}$$

$$\sigma^2$$

Es la matriz de varianza/covarianza

$$\hat{u} = \begin{pmatrix} a \\ b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos(\alpha) \\ \sin(\alpha) \end{pmatrix}$$

$$\cos(\alpha)^2 + \sin(\alpha)^2 = 1$$



$$\sigma^2 \vec{u} = \lambda \vec{u}$$

$$\hat{u} = \begin{pmatrix} a \\ b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos(\alpha) \\ \sin(\alpha) \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} (\sigma_{xx}^2 - \lambda) \cos(\alpha) + \sigma_{xy}^2 \sin(\alpha) \\ (\sigma_{xy}^2 \cos(\alpha) + (\sigma_{yy}^2 - \lambda) \sin(\alpha)) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

$$\alpha = \frac{1}{2} \arctan \left(\frac{2\mu_{1,1}}{\mu_{2,0} - \mu_{0,2}} \right)$$

- Si la matriz de varianza/covarianza es diagonal al rotar α ,
- Conociendo sus valores propios
- Sabiendo que la raíz de su valor propio mayor, es el semi-eje mayor l

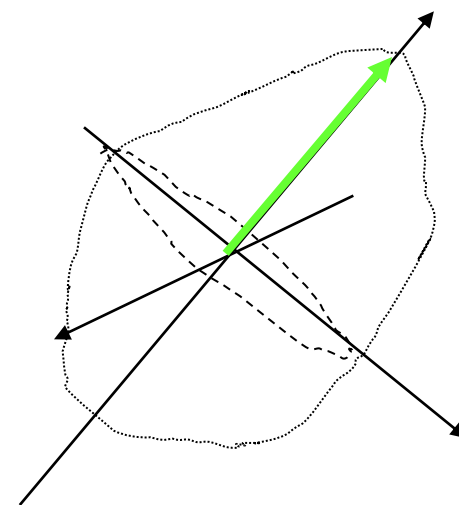
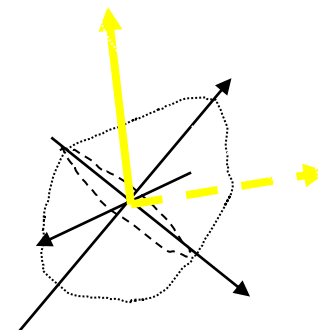
$$l^2 = \lambda = \frac{Tr(\sigma^2)}{2} + \sqrt{\frac{Tr^2}{4} - det(\sigma^2)}$$



$$l^2 = \lambda = \frac{1}{2} \left(\sigma_{xx}^2 + \sigma_{yy}^2 + \sqrt{(\sigma_{xx}^2 - \sigma_{yy}^2)^2 + 4(\sigma_{xy}^2)^2} \right)$$

Los ejes principales son mas convenientes:

- A lo largo de estas direcciones tiene sentido definir las dimensiones del objeto, como **LARGO**, **ALTO** y **ANCHO**.
- En base a las direcciones principales se pueden calcular relaciones de orientación entre distintos objetos

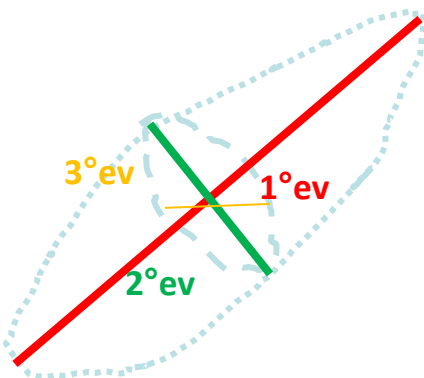


Comparándolos entre ejes principales, podemos parametrizar características como la elongación (*Elongation*), elongación relativa (*Rel. Elongation*), o el aplanamiento (*Flatness*) del objeto.

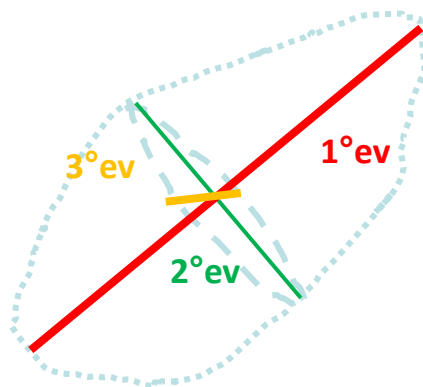
$$Elong = 1 - \frac{2^{\circ}ev}{1^{\circ}ev}$$

$$R.Elong = 1 - \frac{3^{\circ}ev}{1^{\circ}ev}$$

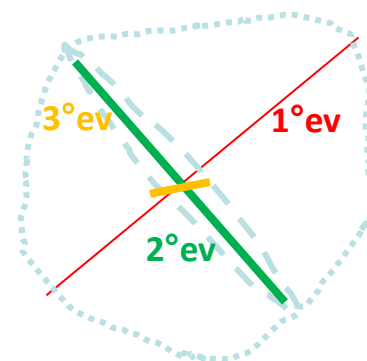
$$Flatness = 1 - \frac{3^{\circ}ev}{2^{\circ}ev}$$



$1^{\circ}ev \gg 2^{\circ}ev$
 Elong. ~ 1

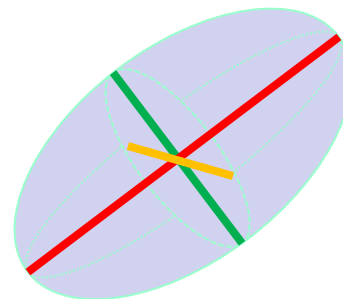


$1^{\circ}ev \gg 3^{\circ}ev$
 R. Elong. ~ 1

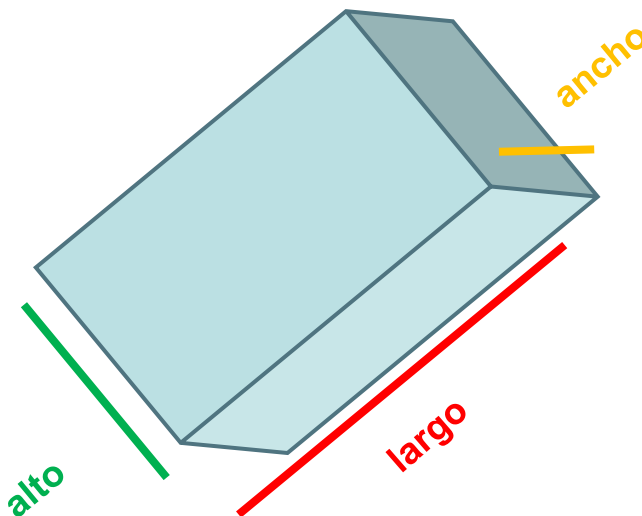


$2^{\circ}ev \gg 3^{\circ}ev$
 Flatn. ~ 1

Si el objeto fuese una elipsoide, la proporcionalidad entre el valor propio (varianza) y la dimensión en cada eje principal sería fácilmente calculable



Las dimensiones *reales* del objeto se miden encapsulándolo en una caja de lados perpendiculares a los ejes principales: *Box Parameters*



- La obtención del centro de masas nos permite ubicar espacialmente a cada célula
- La varianza nos permite encontrar sus ejes principales (vectores propios) y cuantificar la dispersión en las direcciones de cada eje principal (valores propios)
- Los momentos de orden superior nos permiten parametrizar detalles más finos de la forma, como el nivel de asimetría o de curtosis
- Índices compuestos entre valores propios nos entrega parámetros morfológicos como elongación y aplanamiento

¿Cual de las siguientes cantidades es invariante a rotaciones?

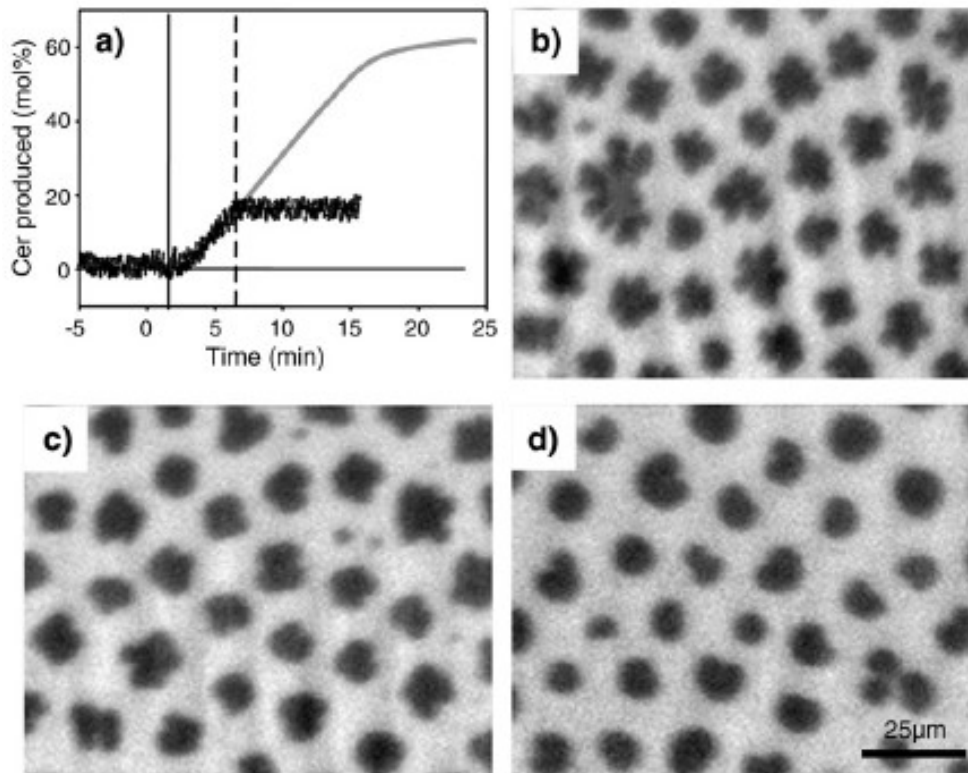
$$Elong = 1 - \frac{2^{\circ}ev}{1^{\circ}ev}$$

$$\theta = \frac{1}{2} \left(\frac{\mu_{1,1}}{\mu_{2,0} - \mu_{0,2}} \right)$$

¿Son los momentos de morfología de orden 2 (centrados), una cantidad invariante a rotaciones?, ¿Qué puede concluir?

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. Momentos de morfología (orden 0-2).
- 3. Descriptores compuestos.**
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).

Comparar un ROI a figuras bien conocidas (círculos, elipses) provee información para caracterizar formas.



¿Cómo cuantificar la evolución temporal?

Existen otros indicadores que son especialmente útiles para comparar células.

- Compactación
- Elongación
- Circularidad
- Esfericidad
- Convexidad
- “Solidez”

- Razón entre el area del objeto y el área de un círculo.
- El radio del círculo es la distancia promedio de c_m al borde.
- Valor = 1 para un círculo, $\pi/4$ para un cuadrado

$$compactación = \frac{4\pi * area}{perimetro^2}$$



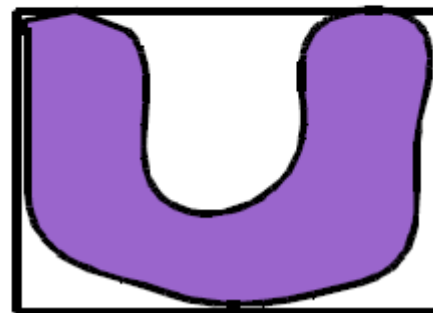
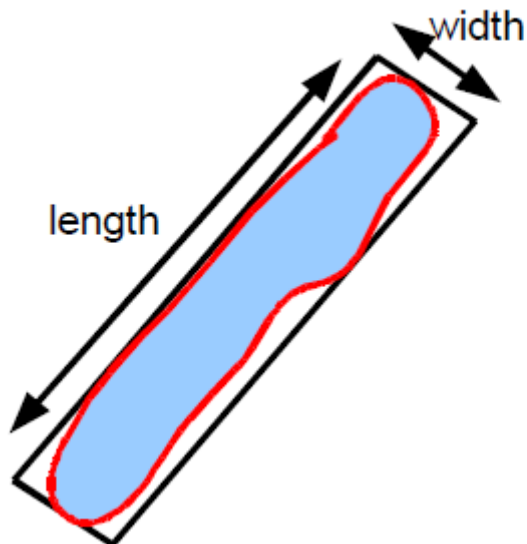
Low compactness



High compactness

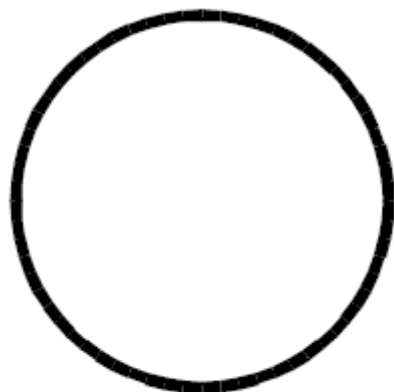
- Razón entre ancho y el largo del rectángulo que contiene el objeto.
- Diferente a los ejes principales.
- Valores >0 , <1 , 1 para un cuadrado

$$\text{elongacion} = \frac{\text{ancho}}{\text{largo}}$$

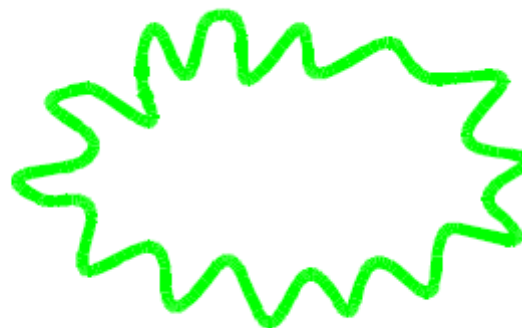


- Razón entre el area y el area del polígono convexo asociado.
- Polígono convexo -> envoltura convexa (convex hull).
- Valores > 0 y < 1 , 1 para un círculo.

$$circularidad = \frac{4\pi * area}{AreaConvexa}$$



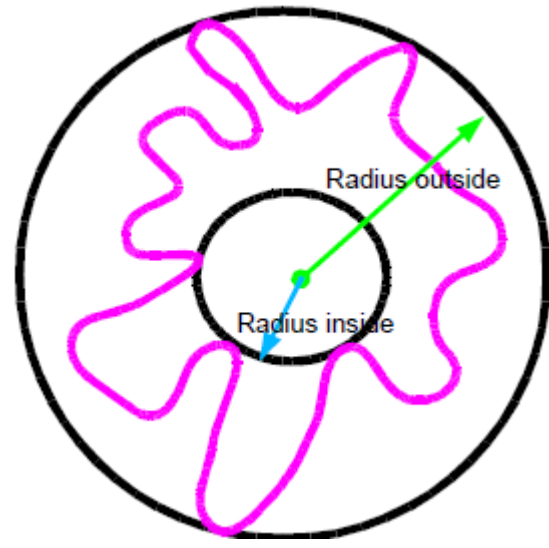
Higher roundness



Lower roundness

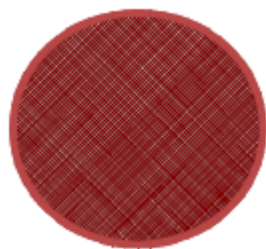
- Razón entre radio inscrito y circunscrito.
- Valores > 0 y < 1 , 1 para un círculo.

$$esfericidad = \frac{R_{inscrito}}{R_{circunscrito}}$$



- Razón entre perímetro convexo y del objeto.
- Valores > 0 y < 1 , 1 para objeto convexo.

$$\text{convexidad} = \frac{\text{perímetro}_{\text{convexo}}}{\text{perímetro}}$$



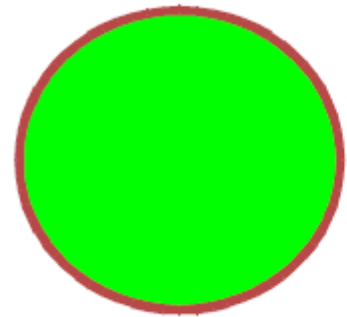
High convexity



Low convexity

- Razón entre area del objeto y area convexa.
- Valores > 0 y < 1 , 1 para objeto convexo.

$$solidez = \frac{area}{area_{convexa}}$$

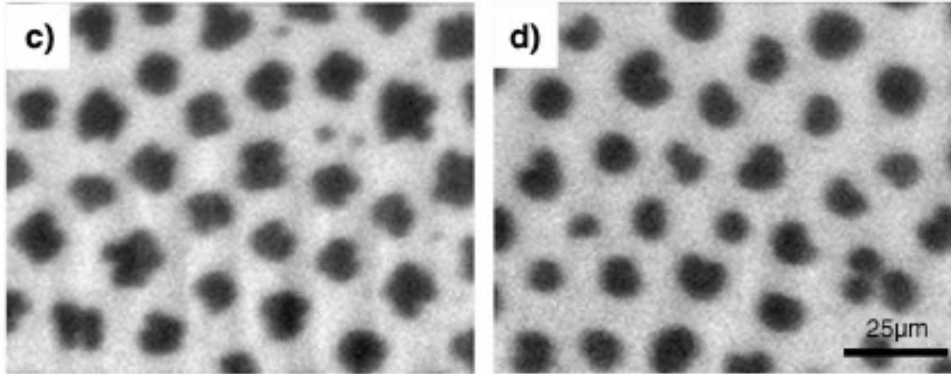


Higher solidity



Lower solidity

Para las siguientes figuras, determine cual parámetro compuesto es más adecuado para cuantificar el cambio.

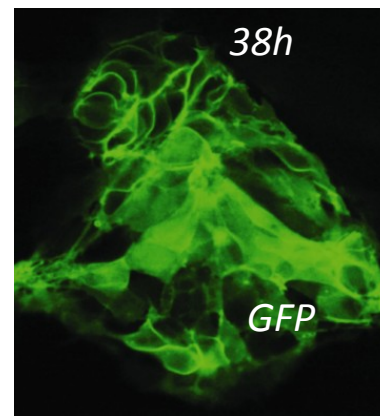
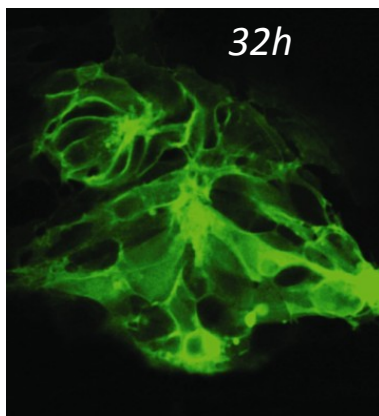
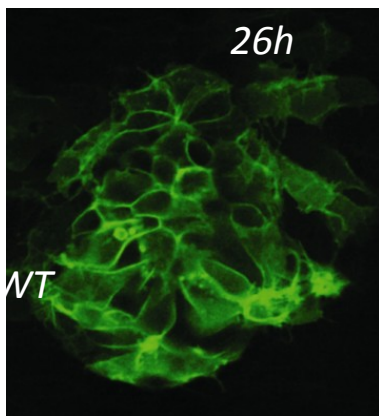


Fanani et al. Biochimica et Biophysica, 2010.

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. Momentos de morfología (orden 0-2).
3. Descriptores compuestos.
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).

Al estudiar conjuntos de objetos (tejidos, glándulas, órganos), las relaciones entre parámetros son cruciales. Por ej. En Biología del desarrollo.

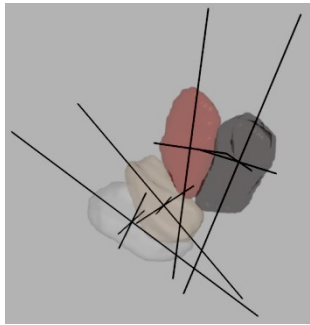
Apical Clustering



Imágenes, gentileza de Carmen Lemus y colaboradores.

Ya hemos discutido descriptores compuestos. Existen otros indicadores que son especialmente útiles estudiar grupos de ROI y relaciones entre ellos.

- Alineamiento
- Compactación
- Solapamiento

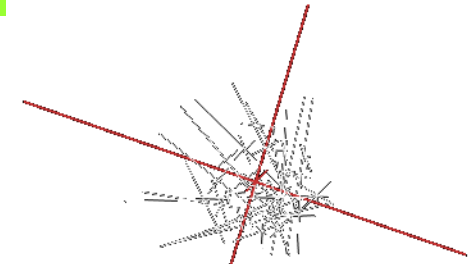
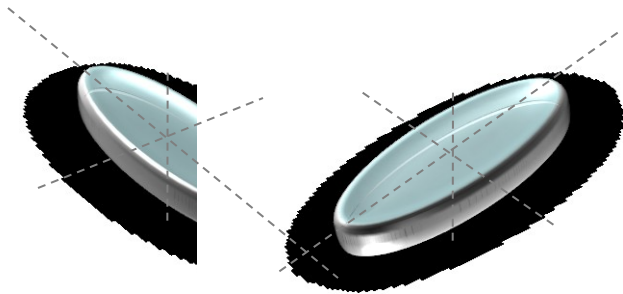


1st axis alignment

2nd axis alignment

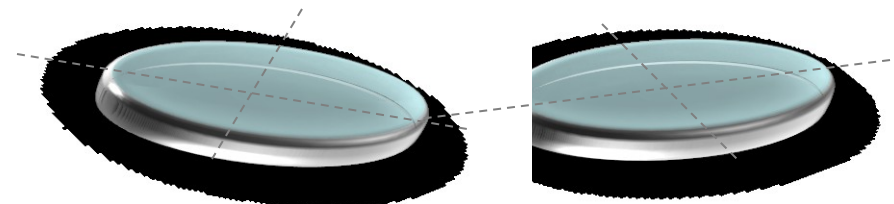
3rd axis alignment

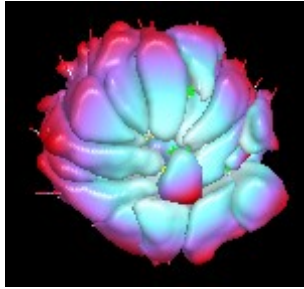
Alignment with major axis (AMA)



Cada valor representa el ángulo de alineamiento del eje de un objeto con respecto al eje de cada uno de los demás objetos estudiados.

Cada valor representa el ángulo de alineamiento del primer eje de un objeto con respecto al primer eje del grupo de objetos.



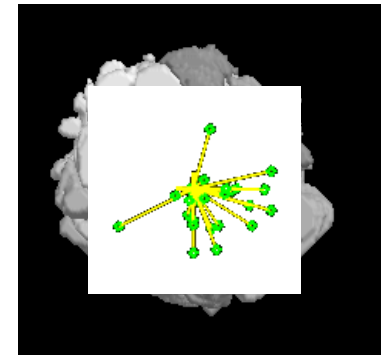
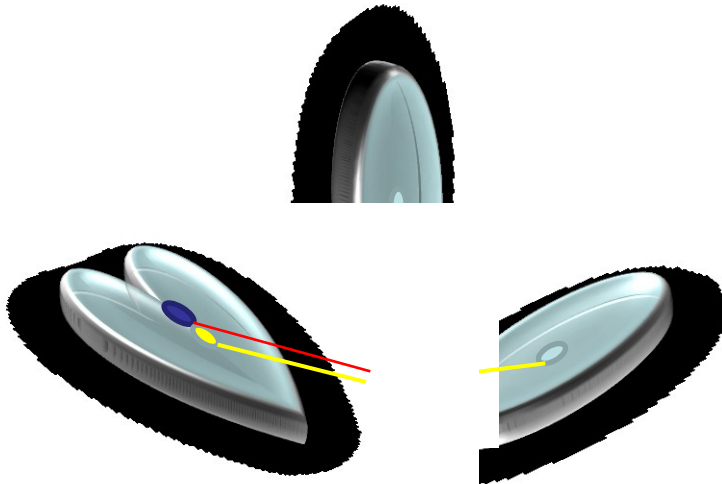


1. Mean object center distances (MOCD)

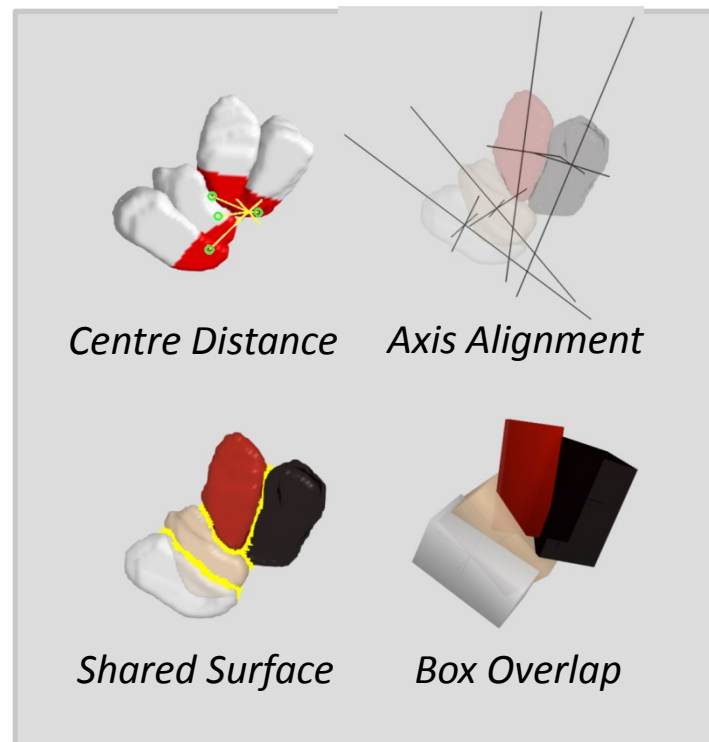
Promedio de las distancias de un objeto al centro del objeto.

2. Center distances

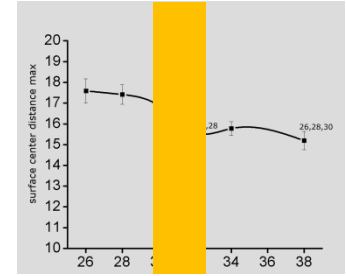
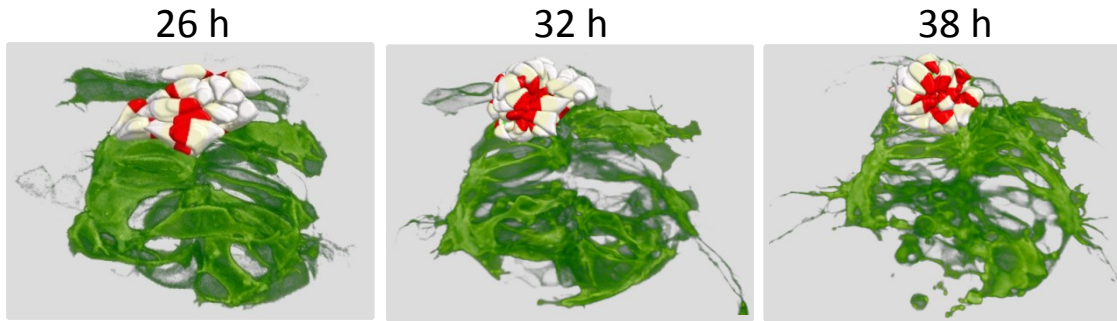
Distancia desde el centro de cada objeto al centro del grupo de objetos



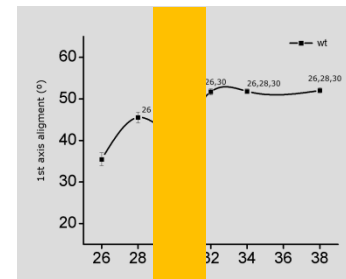
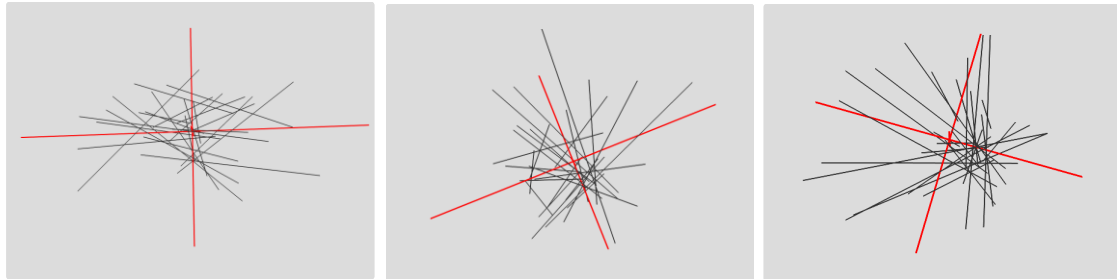
- Solapamiento mide el porcentaje relativo de area/volumen compartido.
- Requiere de un modelo de caja asociado.
- Para el modelo de volumen permite cuantificar la superficie compartida.



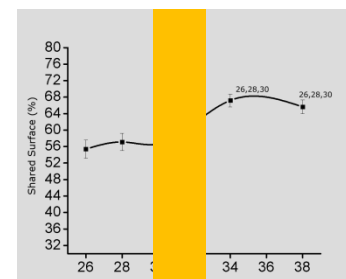
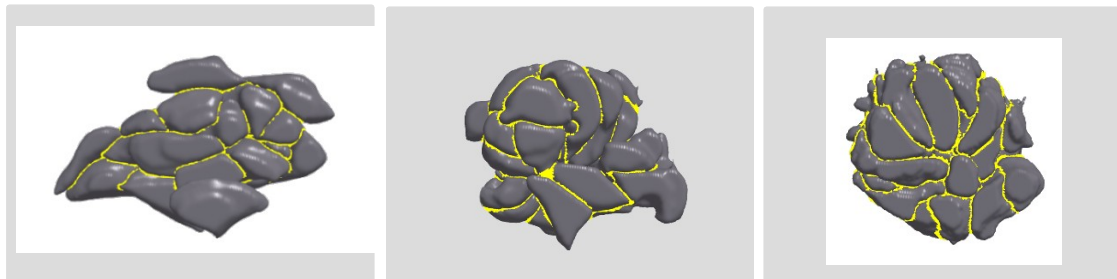
Center Distance



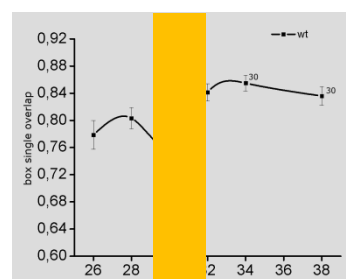
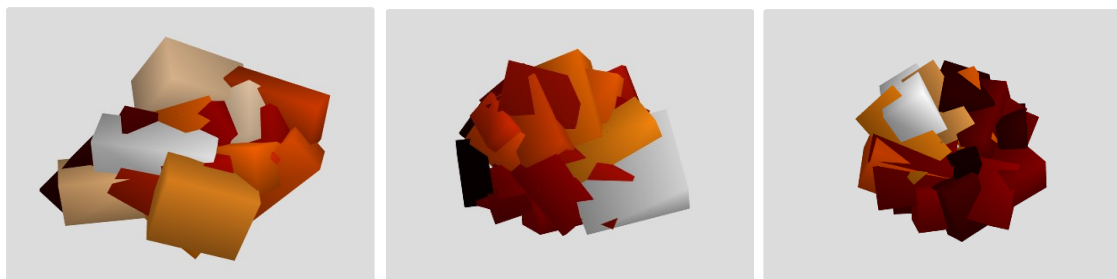
Axis Alignment



Shared Surface

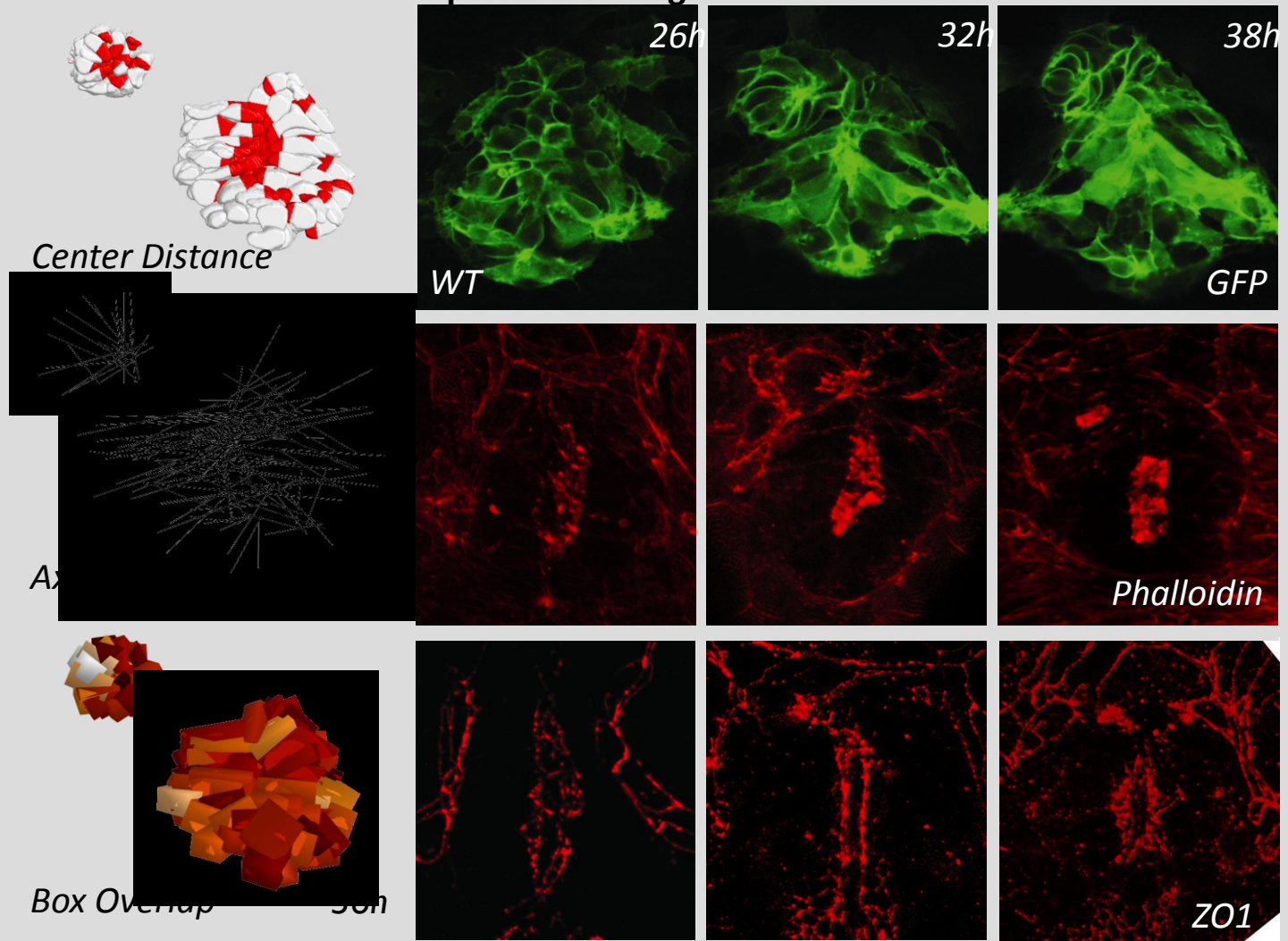


Box Overlap



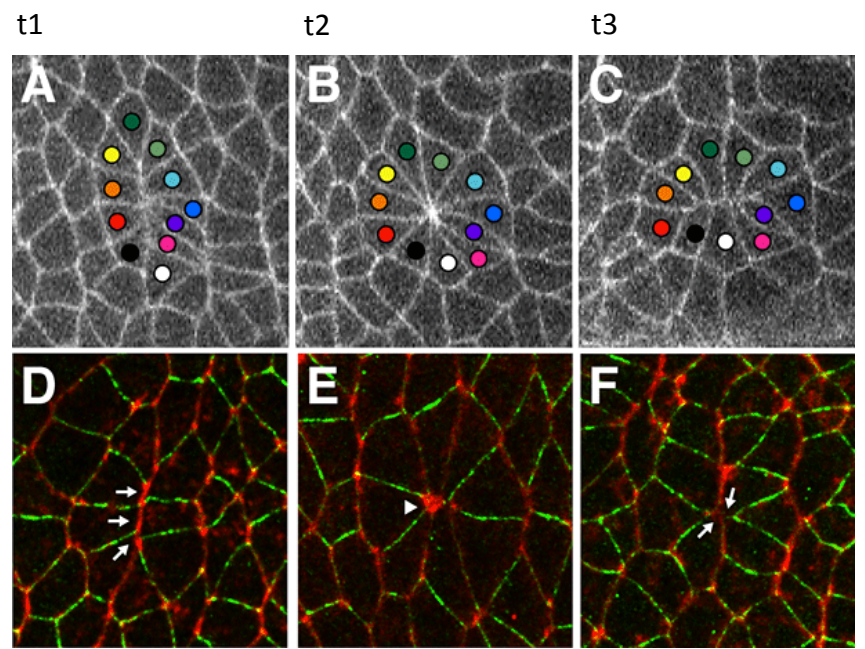
A. CONCURRENT FORMATION OF ROSETTES IN PARAPINEAL AND PINEAL NUCLEI

Apical Clustering



- Hemos presentado algunos descriptores de grupos.
- Se basan en los descriptores simples ya estudiados.
- Especialmente utilizados en biología del desarrollo.
- Suelen ser ajustados según el problema a resolver, Ej. entropía de ejes principales u otros.

Para los siguientes procesos de grupo, determine graficamente la evolución de la alineación (del eje principal y secundario), compactación y solapamiento en el tiempo.



Blankenship et al. 2006, Cell Development.

1. Descriptores geométricos: ubicación, perímetro, area, volumen, curvatura.
2. Momentos de morfología (orden 0-2).
3. Descriptores compuestos.
4. Descriptores de grupos de objetos.
5. Topología en computación (skeletons).

Para ROI binarios, hemos estudiado diferentes descriptores pero, ¿cómo caracterizar compleja estructuras biológicas?
Ej. Neuronas, Reticulo endoplasmatico.

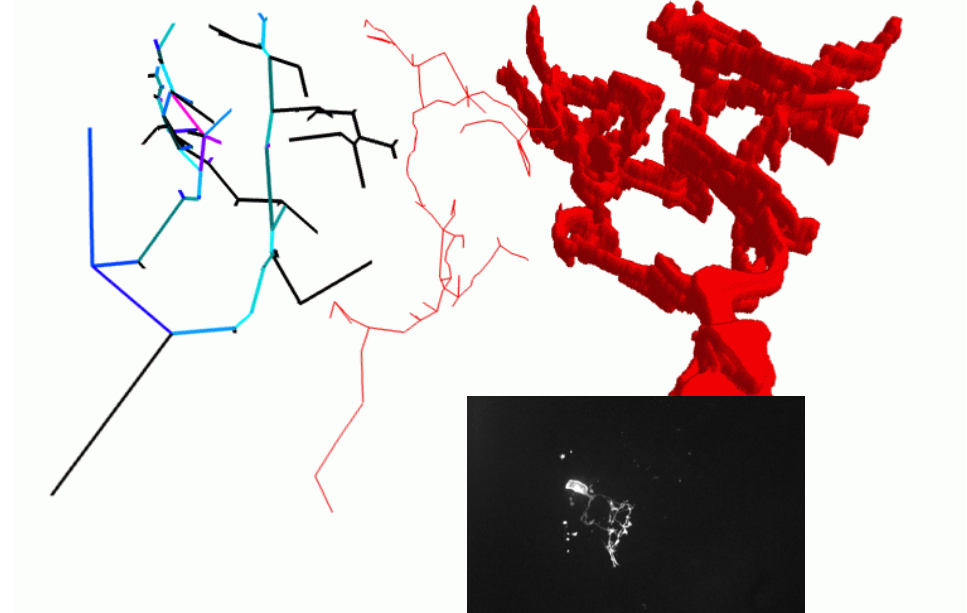
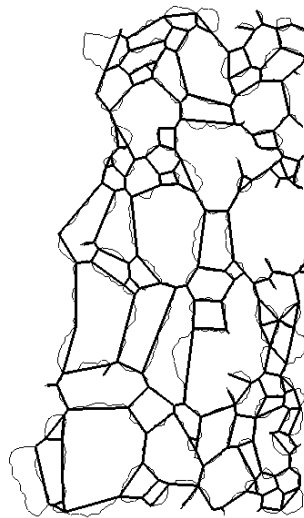
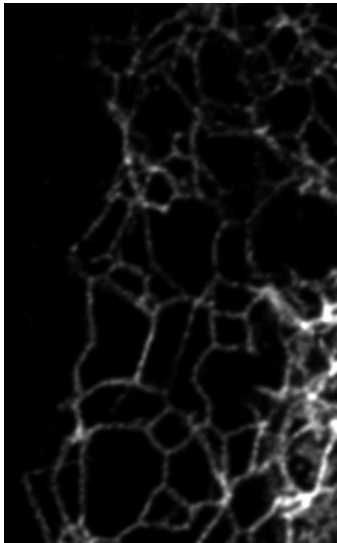


Imagen original y Segmentación gentileza Omar Ramírez y Jorge Toledo respectivamente.

Imagen original y segmentación (3D), gentileza Karina Figueroa y colaboradores.

¿Qué es un skeleton?

- Es una representación 1D de un objeto (sólo líneas)
- Aproximadamente equidistante de los bordes del objeto.
- Busca retener sus propiedades geométricas y topológicas (como conectividad, largo, ancho, túneles)



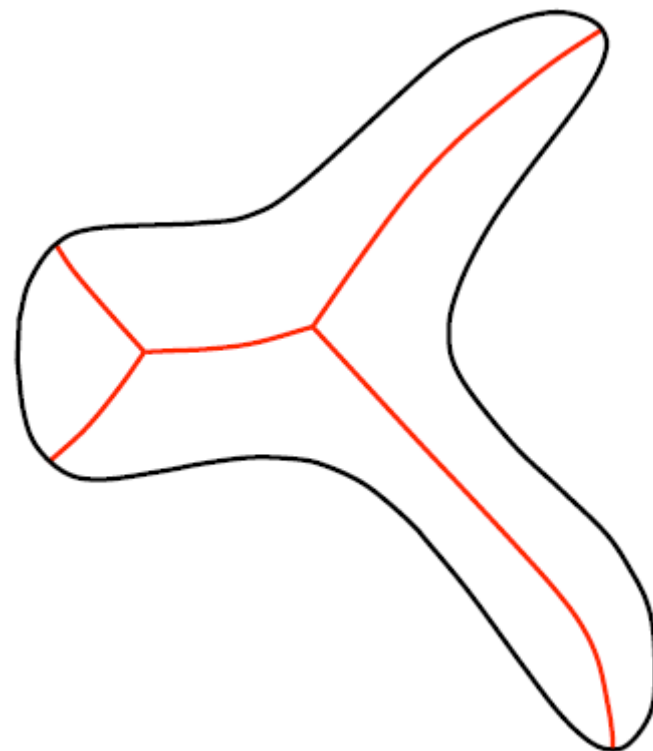
Problema con los skeletons: no tienen una sola definición.

Las más aceptadas son dos:

- Eje medial y superficie medial.
 - Centro de discos o bolas maximales.
- Por lo tanto, se pueden obtener diferentes skeletons a partir del mismo objeto (especialmente con modelos 3D discretos).
- Además, no siempre los skeletons obtenidos por definición son buenos (dependiendo del problema) y existen muchos algoritmos para generar skeletons

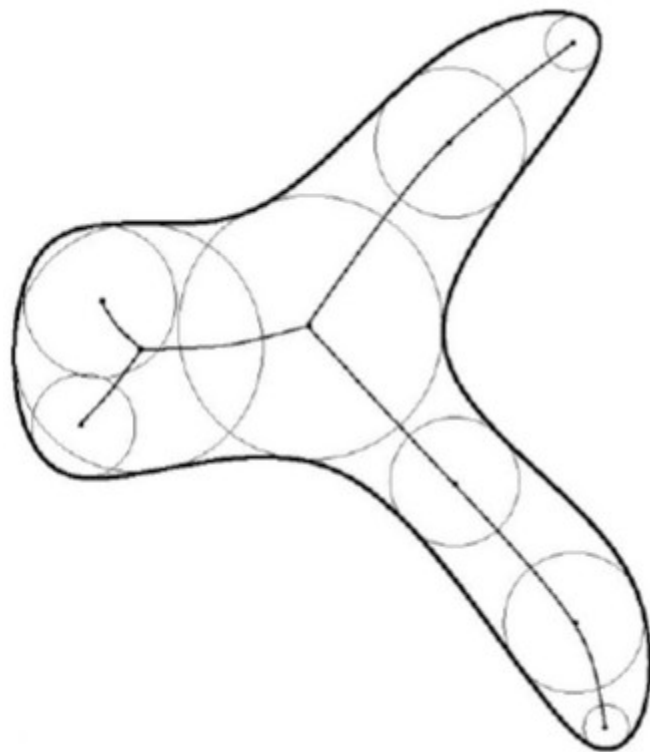
Locus de puntos de la figura que tienen al menos dos puntos más cercanos en el borde.

- Caso 2D: eje medial.
- Caso 3D: superficie medial.
- En este caso, no se obtiene directamente un skeleton, que debe ser 1D.
- Se puede utilizar como punto de partida.



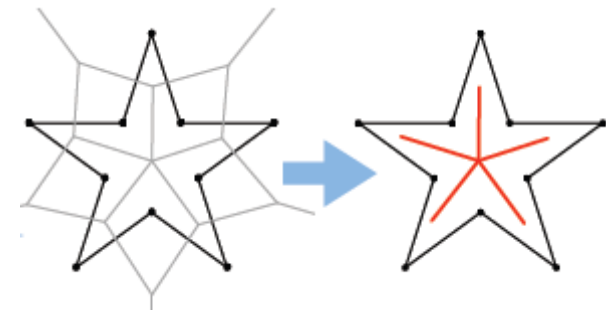
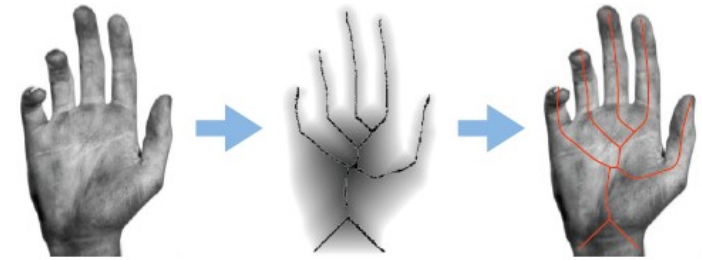
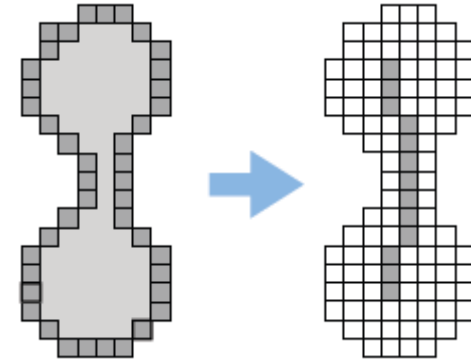
Definición de skeleton más aceptada.

- Locus de puntos que corresponden a centros de discos (caso 2D) o esferas (caso 3D) maximales abiertos inscritos en el objeto.
- Una bola dentro de un objeto es maximal cuando no está incluida en ninguna otra bola del objeto.



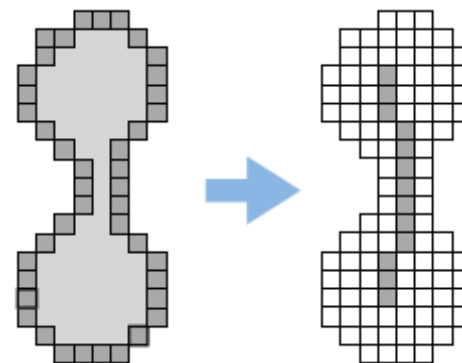
Existen múltiples algoritmos para el cálculo de skeletons, basado en criterios:

- Morfológicos
- Grafos
- Geométricos

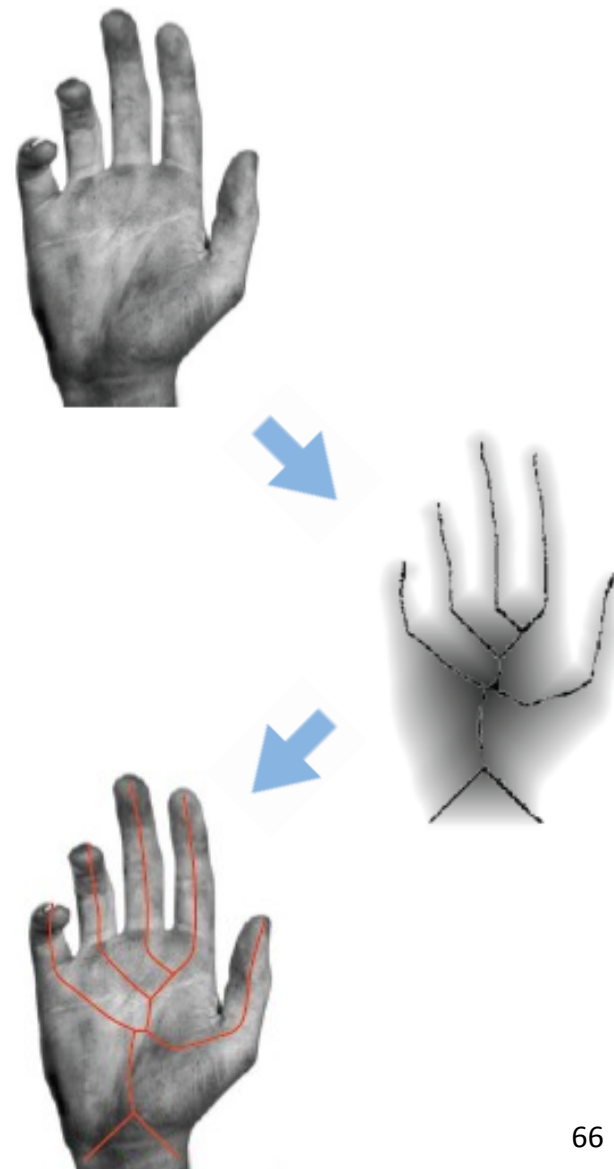


Se basan en remover iterativamente píxeles o voxeles simples del borde de un objeto hasta alcanzar el espesor deseado (1).

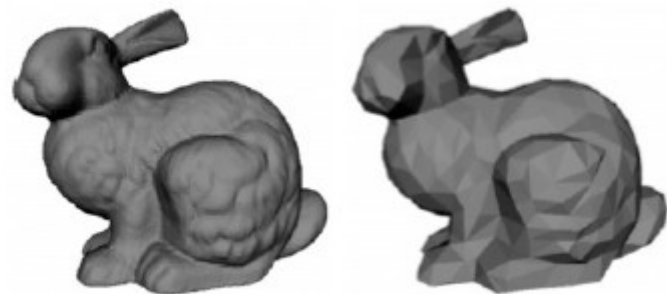
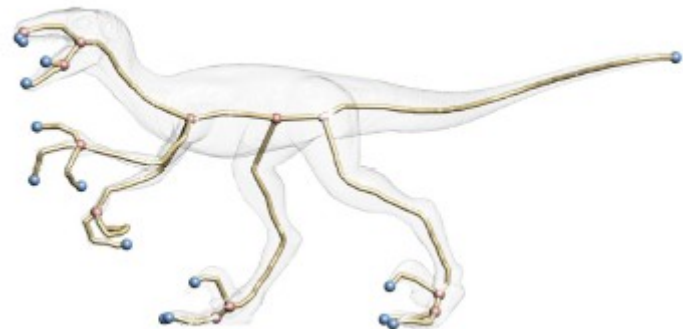
- Funcionan solamente en el espacio discreto.
- El resultado no está centrado.
- Sensible a ruido.
- Rápido.
- Disponible comúnmente (imageJ)



- Una función de distancias se define para los puntos interiores de un objeto.
- El campo de distancias consiste en la menor distancia desde cada punto hasta el borde del objeto.
- Crestas de la función de campo: locus de puntos que están centrados localmente dentro del objeto (máximos locales).
- Múltiples parámetros a configurar en nuestras pruebas.

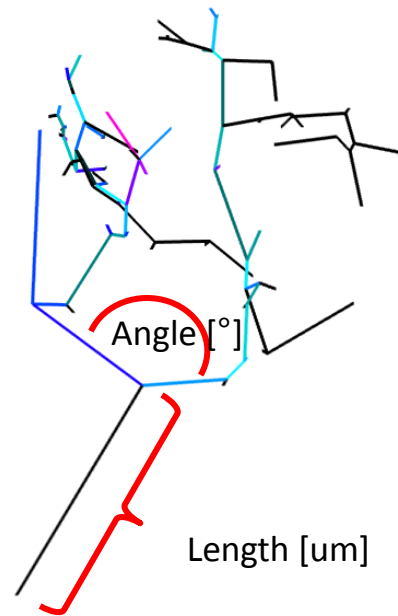


- Algoritmo geométrico basado en la suavización y simplificación de una malla geométrica.
- Diseñado para mallas de superficie.
- Resultado centrado.
- Robusto a ruido.
- Lento de calcular (días).
- Implementado y mejorado en SCIAN-Lab.

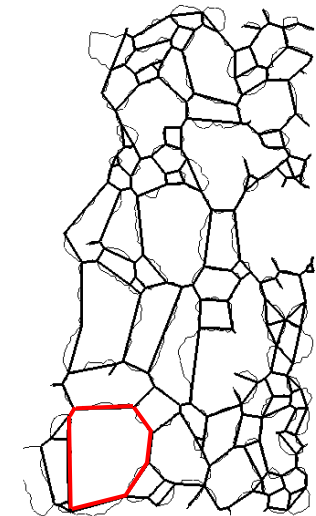


¿Qué parámetros de interés se pueden calcular de un skeleton?
(un grafo en general)

- Nro de nodos
- Nro de arcos
- Nro de túneles
- Largo de cada arco
- Grado de cada bifurcación



Palma et al, 2012



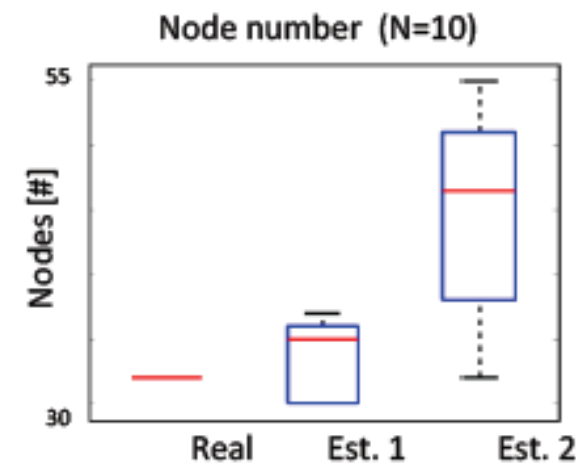
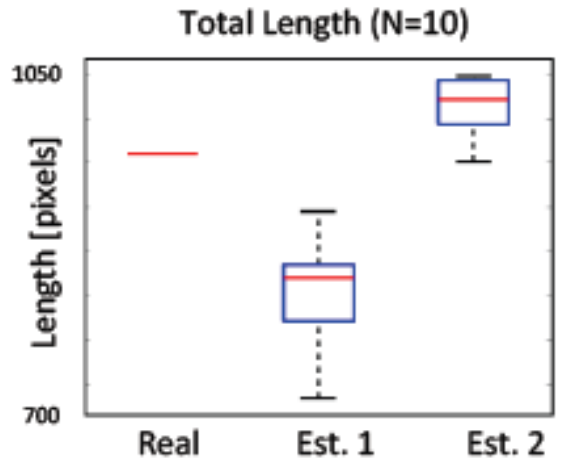
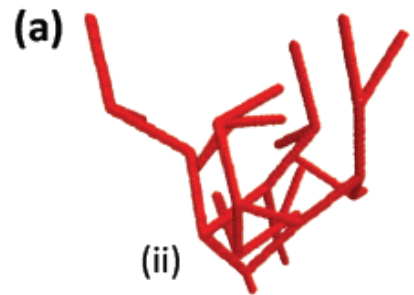
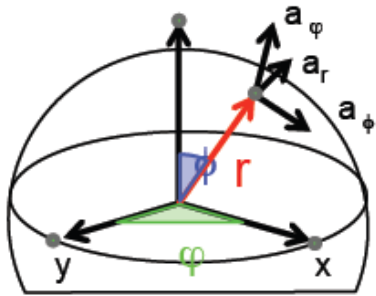
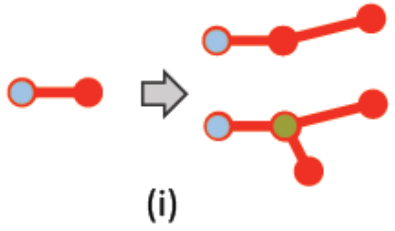
Ciclos/túneles [#]

Ramirez et al., 2012

Existen otro tipo de parámetros, inspirados por la teoría de grafos y complejidad:

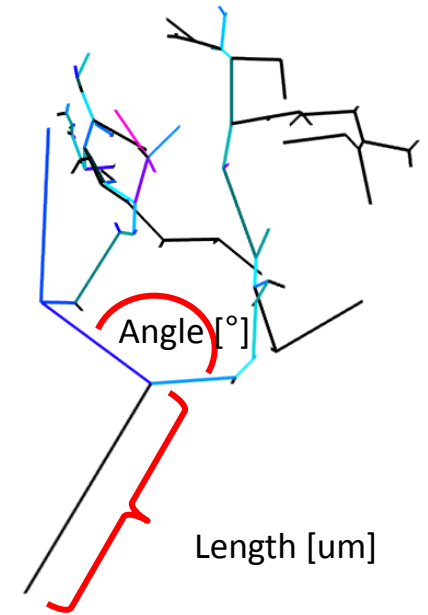
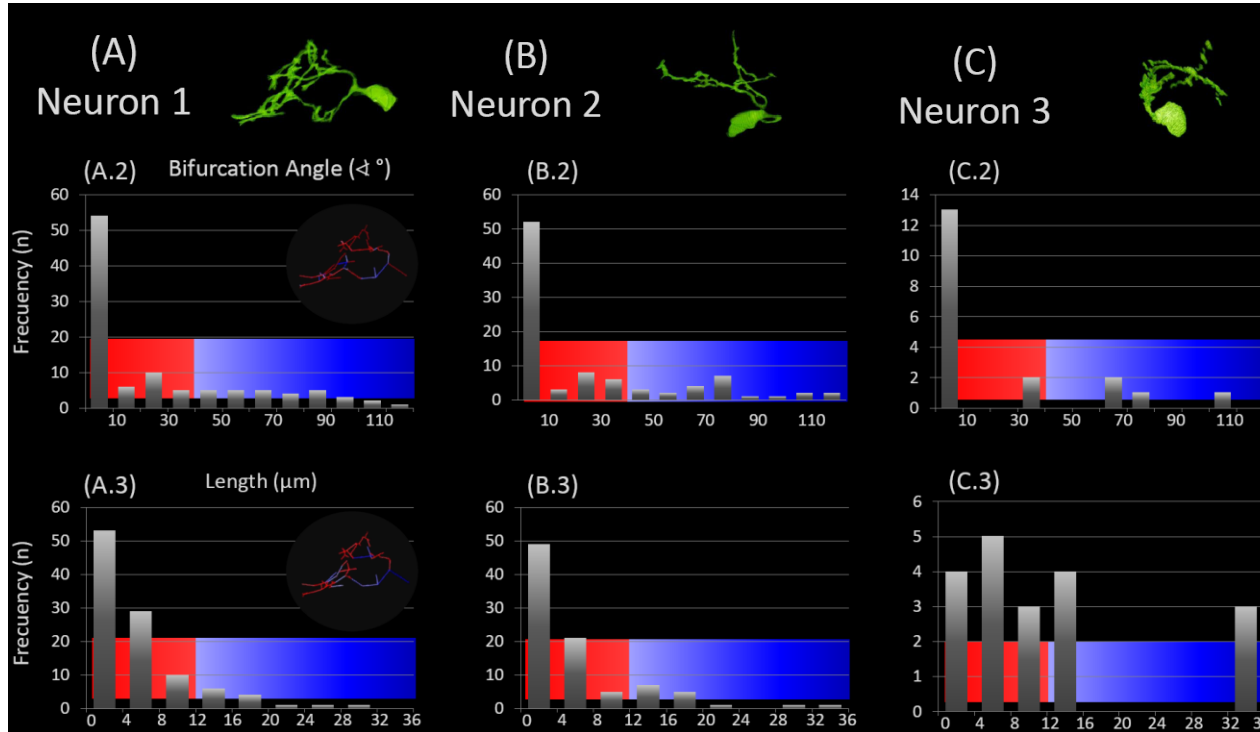
- Complejidad de Scholl (scholl analysis)
- Camino más corto
- Entropía
- Complejidad de Kolmogorov

Comparacion de la exactitud de dos algoritmos para calcular skeletons en estructuras tipo arbol.



Est. 1 : Skeleton geometrico
Est. 2 : Skeleton morfologico.

Veamos algunos ejemplos de parametros de un grafo y su interpretación biológica: un árbol dendrítico.



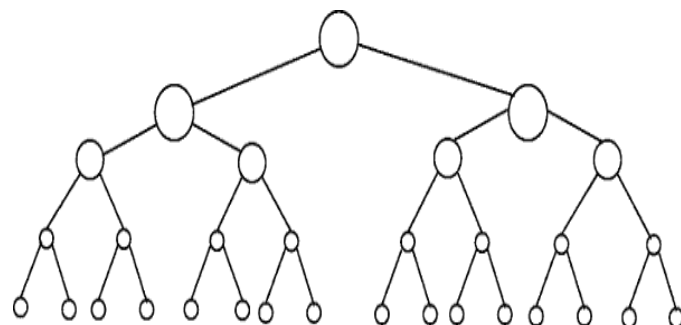
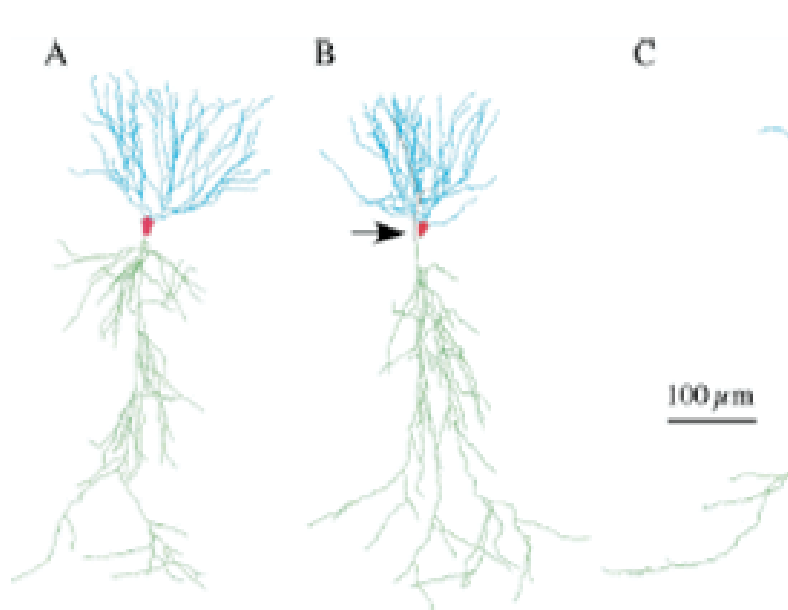
Palma et al, 2012

Dibuje el skeleton de las siguientes figuras siguiendo la definición de discos maximos y distancia medial, ¿qué puede concluir?



Es común dividir los grafos de neuronas en las zonas apicales y basales y calcular su largo (ver figura), suponga que el árbol dendrítico es binario (con bifurcaciones en 45°), cada arco de largo l (de un total de n), y simétrico:

- ¿cuál será el largo de la zona apical?
- ¿cual será el ancho de esta zona?



Ruan et al. 2006,
Neuroscience.