



## CIENCIAS TÉCNICAS

### Artículo original de investigación

# Métodos para el análisis morfológico en imágenes de muestras biológicas aplicando técnicas de inteligencia artificial

Miriela Milagros Escobedo Nicot <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1103-3169>

Silena Herold García <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9238-3472>

Wilkie Ernesto Delgado Font <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1431-2016>

Ligia Ferreira Gomes <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9344-5820>

Antoni Jaume i Capó <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3312-5347>

Manuel González Hidalgo <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4984-387X>

Ximo Gual-Arnau <sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6726-4463>

Amelia Simó Vidal <sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5507-2907>

Yaima Paz Soto <sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5006-6580>

<sup>1</sup> Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup> Universidad de São Paulo. São Paulo, Brasil

<sup>3</sup> Universidad de las Islas Baleares. Palmas de Mallorca, España

<sup>4</sup> Universidad Jaume I. Castellón, España

<sup>5</sup> Universidad de Guantánamo. Guantánamo, Cuba

\*Autor para la correspondencia: miri@uo.edu.cu

#### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

#### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

## RESUMEN

**Introducción:** El estudio morfológico de objetos se aplica en diversos contextos; en particular, en el ámbito médico, ciertas enfermedades o procesos relacionados pueden provocar alteraciones en las células. La identificación de estas deformaciones es fundamental para realizar diagnósticos y proponer tratamientos. Esta investigación se centra en 2 ejemplos: la anemia drepanocítica, en la que los glóbulos rojos adoptan una forma de media luna, y la angiogénesis, que se analiza mediante cultivos in vitro de células endoteliales provenientes de venas de cordón umbilical humano. La morfología de estas células se puede asociar con los procesos de migración y proliferación celular. **Objetivo:** Proponer y evaluar nuevos métodos usando técnicas de inteligencia artificial para realizar el análisis morfológico celular de forma automática en ambos tipos de muestras biológicas. **Métodos:** Se desarrollan métodos de procesamiento y análisis usando bases de datos propias, tanto de células individuales, como de campo visual completo. Se proponen y evalúan métodos para las etapas de segmentación, extracción de características y clasificación, así como 2 herramientas que definen el aporte práctico. **Resultados:** Se logran resultados en la clasificación que mostraron un desempeño igual o superior a los más relevantes conocidos hasta el momento. **Conclusiones:** Los métodos y herramientas obtenidos contribuyen a mejorar el diagnóstico y calidad de vida de los pacientes.

**Palabras clave:** anemia drepanocítica; angiogénesis; morfología; clasificación; inteligencia artificial

# Methods for morphological analysis in images of biological samples using artificial intelligence techniques

## ABSTRACT

**Introduction:** The morphological study of objects is applied in various contexts. Certain diseases or related processes can cause changes in cells, identifying these deformations is fundamental to making diagnoses and proposing treatments. This research focuses on two examples: sickle cell anemia, in which red blood cells take on a crescent shape, and angiogenesis, which is studied by in vitro cultures of endothelial cells from human umbilical cord veins. The morphology of these cells can be associated with the processes of cell migration and proliferation. **Objective:** To propose and to evaluate new methods using artificial intelligence techniques to automatically perform cell morphological analysis in both types of biological samples. **Methods:** Processing and analysis methods will be developed using own databases of both single cells and full field of view. **Methods** for segmentation, feature extraction and classification stages are proposed and evaluated, as well as two tools that define the practical contribution. **Results:** Classification results are obtained that show equal or superior performance to the most relevant previous ones. **Conclusions:** The methods and tools developed contribute to improve the diagnosis and the quality of life of patients.

**Keywords:** sickle cell disease; angiogenesis; morphology; classification; artificial intelligence

## INTRODUCCIÓN

Una de las áreas de investigación de la inteligencia artificial es el procesamiento de imágenes; este contempla las etapas de: segmentación, extracción de características y clasificación automática. Dentro de la extracción de características, el estudio de objetos presentes en una imagen digital considerando su forma es de gran utilidad en la práctica. En este trabajo se emplean 2 tipos de muestras biológicas para realizar el análisis morfológico: muestras de sangre periférica para estudio de la anemia drepanocítica y muestras de células endoteliales de venas de cordón umbilical humano (HUVEC) para estudio de la angiogénesis.

La anemia drepanocítica es una enfermedad de origen genético que provoca la polimerización de la hemoglobina que contienen los eritrocitos, lo que hace que los mismos tomen forma de hoz o medialuna, impidiendo su normal funcionamiento y ocasionando el desarrollo de crisis de dolor por obstrucción vascular que pueden generar infartos de la médula ósea, huesos y otros trastornos del organismo. En estos casos el conocimiento que se obtenga sobre los eritrocitos deformados se puede emplear como apoyo al diagnóstico del paciente, lo que permite establecer un criterio sobre el nivel de afectación que tiene el mismo o valorar la influencia de tratamientos terapéuticos indicados, como pueden ser algu-

nos productos o químicos específicos antideformantes. <sup>(1)</sup> La angiogénesis por otra parte, es el proceso que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de una red vascular ya existente. La misma envuelve una secuencia compleja de eventos mediados por moléculas señalizadoras para crecimiento, migración, diferenciación y muerte de diversos tipos celulares. El análisis del crecimiento celular en la angiogénesis, es un objetivo terapéutico en enfermedades en animales y en el ser humano, particularmente en condiciones crónicas relacionadas a inflamaciones y neoplasias. El estudio de este proceso realizado a través de modelos experimentales in vitro de HUVEC, cuya morfología se puede correlacionar con los procesos de migración y proliferación celular, puede ser usado para la valoración de compuestos de carácter pro- o antiangiogénicos. <sup>(2)</sup>

El objetivo del presente trabajo es presentar un conjunto de resultados que mejoran los métodos para el estudio a partir de imágenes digitales de la anemia drepanocítica, y de la angiogénesis, a partir de las HUVEC. El resultado que se presenta agrupa un conjunto de nuevos métodos, algoritmos y herramientas obtenidos en los últimos 15 años, que han permitido la automatización del proceso para los 2 tipos de muestras biológicas, lo cual es más rápido con respecto a la inspección visual humana y reproducible para varias muestras.

## MÉTODOS

Se presenta una revisión sistemática de la literatura (SLR, por sus siglas en inglés) centrada en el análisis morfológico automatizado de eritrocitos en muestras de sangre periférica. El propósito de esta SLR es ofrecer una perspectiva general sobre el tema, examinar las diversas soluciones que ha presentado la comunidad científica, evaluar las evidencias que sustentan cada una de estas propuestas y destacar las principales limitaciones, especialmente en relación con el desarrollo de herramientas automatizadas para el seguimiento clínico de pacientes con esta enfermedad. <sup>(1)</sup>

Se emplean y proponen métodos en las etapas de segmentación, extracción de características/representación del contorno y clasificación; se usan imágenes de bases de datos propias de células individuales y de campo visual completo para comprobar los métodos propuestos, una para eritrocitos pública en internet (<http://erythrocytesidb.uib.es/>) y otra de HUVEC en vías de publicación. <sup>(3)</sup>

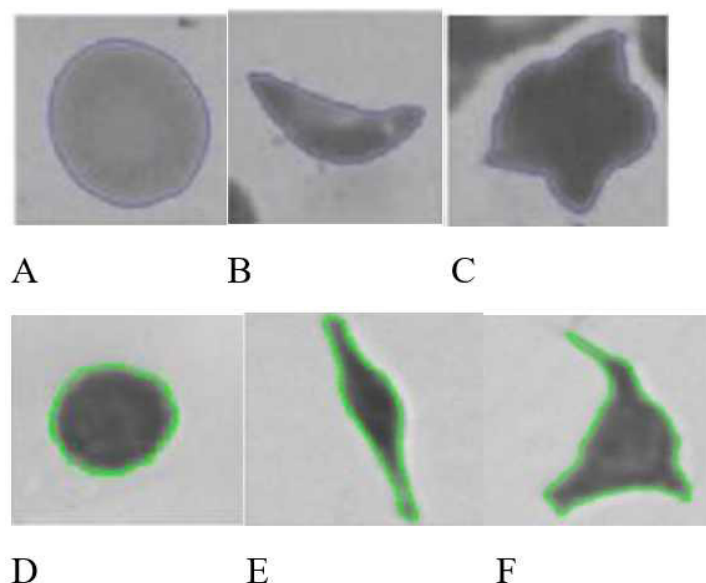
Para eritrocitos se definen 3 clases para la clasificación: la clase de eritrocitos normales o circulares, la clase de eritrocitos falciformes y la clase de eritrocitos con otras deformaciones (figura 1 A, B, C). En el caso de las HUVEC se propone realizar esta diferenciación celular considerando 3 clases igualmente: la clase de células circulares, la clase de células deformadas alargadas y la clase de células deformadas poco alargadas (figura 1 D, E, F). Estas clases fueron definidas por su repetida aparición en las imágenes valoradas.

Esta clasificación permite determinar formas que expresan elementos morfológicos relevantes para la evaluación del

proceso de angiogénesis, como, por ejemplo: formación de prolongamientos celulares, pérdida de la simetría radial, aparición de la simetría axial o de formas triangulares, variaciones de tamaño y el más importante a probar, la correlación con los fenotipos celulares *tip* y *stalk*. Además, la propuesta incluye realizar el análisis de las alteraciones morfológicas a partir de 24 h de incubación, lo que permite lograr una reducción en el tiempo y costo del análisis de la respuesta de proliferación asociada a efectos de sustancias pro- o antiangiogénicas sobre las células endoteliales. <sup>(2)</sup> Esta clasificación en HUVEC es empleada para realizar el análisis morfológico en imágenes de células individuales y de campo visual completo. <sup>(4,5,6,7,8)</sup>

## Segmentación

La primera etapa es la segmentación donde se extraen los objetos de interés en una imagen. El desempeño de las diferentes técnicas de segmentación existentes depende de las características de las imágenes a estudiar, relacionadas con el nivel de ruido que presentan, iluminación, texturas propias de los objetos, entre otras. <sup>(9)</sup> En este trabajo se presenta la implementación de diferentes métodos de segmentación en imágenes de campo visual completo de sangre periférica: umbralización usando el umbral de Otsu, conjuntos de nivel (con 2 inicializaciones: una basada en texturas de los objetos presentes en la imagen y otra que considera los niveles de grises en la imagen) y el método Chan-Vese, con el objetivo de analizar el comportamiento de estas imágenes frente al ruido que se genera por la forma de preparación de la muestra y la captura de las imágenes, y así poder seleccionar el más



**Fig. 1.** Morfologías presentes en las muestras de sangre periféricas y de HUVEC. Definidos con contorno azul eritrocitos (A) circulares, (B) falciformes y (C) con otras deformaciones y definidos con contorno verde HUVEC: circulares, deformadas alargadas y deformadas poco alargadas.

idóneo. <sup>(10,11)</sup> Se emplean para ello 30 imágenes de la base de datos <http://erythrocytesidb.uib.es/>.

Adicionalmente, se propone un estudio comparativo sobre el desempeño de estos métodos de segmentación más el Mean Shift, considerando un total de 60 imágenes adquiridas en los laboratorios de hematología del Hospital General Docente Dr. Agostinho Neto de la provincia de Guantánamo, las mismas pertenecen a muestras de sangre de varios pacientes con anemia drepanocítica en estado de crisis. <sup>(9)</sup>

## Representación del contorno en el espacio de características y clasificación de las imágenes

Se usan los coeficientes de formas elementales: CFS y ESF, para realizar el análisis morfológico de ambos tipos de muestras biológicas. <sup>(4,5,6,10,11)</sup> Se emplea por primera vez en el análisis morfológico la función soporte generalizada y se proponen algunas variantes de la misma como descriptores de contornos ( $p(\sigma, \phi)$ ,  $W(\phi)$ ,  $Wc(\phi)$ ). <sup>(12)</sup> Se utiliza esta función y algunas de las variantes propuestas para obtener representaciones matriciales de características del contorno de eritrocitos en muestras de sangre periférica, que permiten obtener nuevos descriptores de forma. <sup>(12)</sup> Se introduce además una nueva función que se deriva de un resultado clásico de geometría integral, la fórmula de Crofton ( $Cp(\phi)$ ), que hasta el momento no había sido empleada para estudios de forma. <sup>(13)</sup> Se presentan además 2 nuevos descriptores basados en las soluciones previas de geometría integral ( $p_\phi(\sigma, \phi)$  y  $\sigma_\phi(p, \phi)$ ), pero que requieren un costo computacional menor, alrededor de 98 % menos de cómputo. <sup>(14)</sup> Todas estas funciones se emplean como descriptores de formas para el proceso de clasificación de conjuntos no convexos en general. Para estas formas de representación de contornos se emplea como método de clasificación el algoritmo k-NN, y además se muestran otros resultados empleando redes neuronales artificiales (RNA). <sup>(15)</sup>

Por otra parte, se presenta un método que emplea la curvatura del contorno para realizar la caracterización del mismo. <sup>(16,17)</sup> El método de clasificación empleado en este caso son los modelos ocultos de Márkov (HMM), el cual es un método de clasificación probabilístico, que aporta la probabilidad de pertenencia del objeto a la clase.

Se comprueba también el desempeño de modelos de aprendizaje profundo en la clasificación de ambos tipos de células, los cuales reducen la necesidad de intervención manual en la extracción de características, permitiendo un procesamiento más eficiente. Para eritrocitos se aplica el modelo DenseNet y para HUVEC 4 modelos: Swift-Former (SF), Visual Transformer (VT), RegNet (RgN), y ResNet (RsN). <sup>(8,18)</sup>

## Representación del contorno en el espacio, formas planas

La representación geométrica de la forma de un objeto plano ha tenido distintas aproximaciones para su análisis. Una de ellas consiste, en asumir los bordes como curvas cerradas. Teniendo esto en cuenta, se propone un enfoque distinto para caracterizar los contornos de los eritrocitos: considerarlos como formas en el espacio de formas planas S1, empleando una métrica (que tiene estructura de variedad Riemanniana), en este espacio para calcular geodésicas y distancias entre curvas, enfoque que permite ir más allá en este estudio al considerarlos como deformaciones de formas básicas (círculo o elipse). <sup>(19)</sup> Además, se considera la representación de la Función de Velocidad de Raíz Cuadrada (SRVF) de curvas cerradas en  $\mathbb{R}^2$  y se resumen los principales resultados para el espacio de forma S2 con la métrica elástica estándar. <sup>(20)</sup> En concreto, se presentan 3 aplicaciones: interpolación entre formas, clasificación supervisada y agrupamiento no supervisado.

## Análisis de solapamientos

En las imágenes de muestras de sangre hay agrupamientos/solapamientos celulares que se generan por la propia forma de preparación de la muestra. En este sentido, el estudio de estos agrupamientos, permite conocer con mayor exactitud el número de células existentes en estas imágenes. Para ello, se propone el empleo de un método de análisis de solapamientos celulares que emplea un nuevo algoritmo para la detección de puntos de interés (puntos cóncavos) en el contorno correspondiente a un agrupamiento, y se emplea ajuste de elipses combinado con un conjunto de restricciones que permiten clasificar eritrocitos presentes en el agrupamiento en circulares y falciformes, eliminando pasos de procesamiento previos que proponen otros autores. <sup>(3)</sup> Para la validación de este método, se emplean imágenes de campo visual completo, y de eritrocitos normales y falciformes en solapamientos. <sup>(11)</sup>

## Medida SDS-score

Se propone una nueva disposición para tantear el desempeño de la clasificación morfológica en eritrocitos. Es SDS-score el acrónimo en inglés de Sick cell disease Diagnosis Support score. <sup>(11)</sup> Se define para evaluar la clasificación considerando 3 clases: normales, falciformes y otras deformaciones, y la necesaria minimización de falsos negativos en células falciformes y de otras deformaciones, así como de falsos positivos en células normales. Luego la medida queda definida como el cociente de la suma de los verdaderos positivos de las 3 clases (normales, falciformes y otras deformaciones) y el número de células falciformes clasificadas como otras y viceversa, dividido por la suma del numerador anterior

y la suma de las clasificaciones incorrectas que tienen que ver con las células normales.

## Herramientas desarrolladas

Desde el punto de vista práctico el resultado aporta el desarrollo y evaluación de 2 herramientas para realizar el análisis morfológico de eritrocitos para estudio de la anemia drepanocítica. La primera es una aplicación de escritorio desarrollada en Matlab® que se denomina SErClas®. Es un sistema para la clasificación automática de eritrocitos, la cual implementa los resultados de la clasificación empleando coeficientes elementales y la segmentación con los conjuntos de nivel junto a la inicialización basada en texturas de los objetos de interés en la imagen y la segunda una aplicación web SiClad® es un sistema de clasificación celular para el estudio de la anemia drepanocítica, que implementa los resultados de la clasificación empleando igualmente coeficientes elementales, pero con segmentación por el método de Chan-Vese (figura 2).<sup>(10,11)</sup>

## RESULTADOS

Los resultados que se presentan incluyen el análisis de imágenes de células individuales y de campo visual completo

para ambos tipos de muestras eritrocitos y HUVEC. Para la segmentación se usó la expresión descrita en la ecuación 1 para validar la efectividad en la detección de los eritrocitos y evaluar la calidad del proceso:<sup>(10)</sup>

$$\phi(p) = \frac{DC}{DC+NDC+NC} \times 100 \quad (1)$$

donde:

DC: es la cantidad de regiones pertenecientes a células detectadas correctamente,

NDC: es la cantidad de regiones pertenecientes a células no detectadas,

NC: es la cantidad de otras regiones detectadas, no pertenecientes a células.

Se obtiene con Chan-Vese un rendimiento de 96,46 % en la detección inicial de las células, superior al 94,83 % que se obtiene con la inicialización basada en texturas y el método conjunto de nivel, así como un 64,28 % con la umbralización. En cuanto a los conjuntos de nivel con la inicialización basada en niveles de grises, los resultados se analizaron desde el punto de vista visual en comparación con la inicialización basada en texturas.

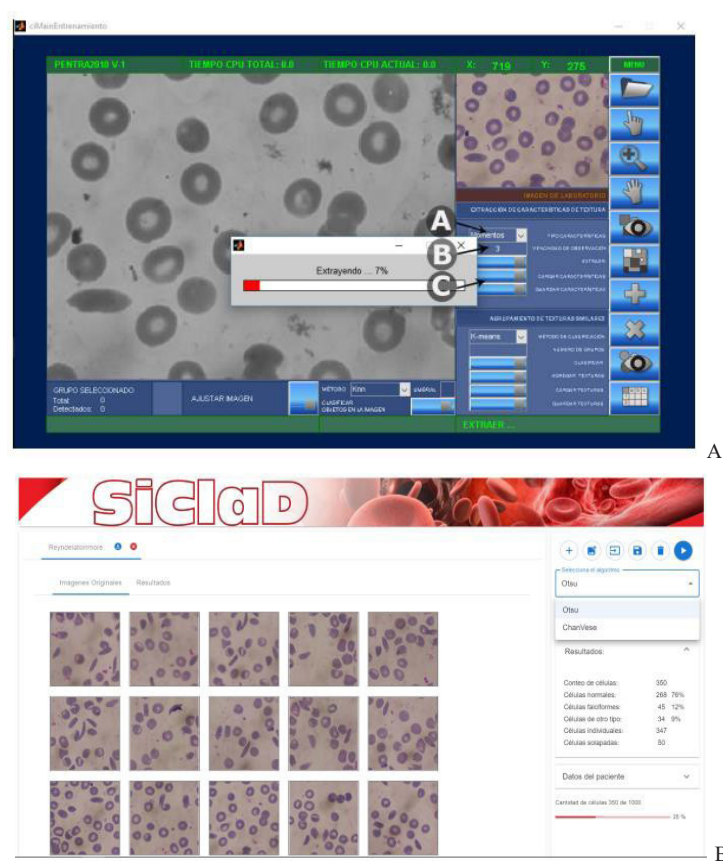


Fig. 2. Herramientas desarrolladas A) SErClas® y B) SiClad®

## Representación del contorno y clasificación

Para evaluar los resultados se usa la matriz de confusión con las siguientes medidas: sensibilidad (True positive rate -TPR ecuación 2), especificidad (True negative rate -TNR ecuación 3), precisión (P ecuación 4), así como la F1 (ecuación 5) para cada clase. Como una medida del desempeño del proceso completo se usa la exactitud (Accuracy -Acc ecuación 6).

$$TPR = \frac{TP}{TP+FN} \quad (2)$$

$$TNR = \frac{TN}{FP+FN} \quad (3)$$

$$P = \frac{TP}{FP+FN} \quad (4)$$

$$F1 = \frac{2(P \times TPR)}{P+TPR} \quad (5)$$

$$Acc = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \quad (6)$$

donde TP se corresponde con los verdaderos positivos, FP con los falsos positivos, FN con los falsos negativos y TN con los verdaderos negativos. Se realizan experimentos teniendo en cuenta los 2 tipos celulares eritrocitos y HUVEC, los 2 espacios el de la forma y el de características, así como los 2 tipos de imágenes células individuales y de campo visual completo.

## Espacio de características

### Imágenes de células individuales

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la exactitud en la clasificación con las funciones basadas en geometría integral, el algoritmo k-NN y las RNA para eritrocitos. También se analizó el desempeño de la función  $p(\sigma, \phi)$  para este tipo de muestras alcanzándose un valor de 94,23 %. <sup>(13)</sup>

Para las HUVEC los resultados son de  $Cp(\phi) = 92,02$  %;  $W(\phi) = 91,92$  %;  $p(\sigma, \phi) = 92,00$  %, Con los coeficientes elementales CSF/ESF el valor de la exactitud en eritrocitos es 79,08 % y para HUVEC es 80,75 %.

Empleando cambios en la curvatura para la descripción del contorno y los HMM, se tiene que el mejor resultado en eritrocitos es considerando 10 estados, con una exactitud del 93,60 %, superior al resultado considerando 3 estados que es de 83,79 %. (17,16) Con el aprendizaje profundo para eritrocitos con la red DenseNet se obtiene en la prueba una exactitud del 99,22 %. <sup>(18)</sup> En el caso de HUVEC luego de aplicar los 4 modelos el mejor resultado se tiene con VT para una exactitud del 99,33 %. <sup>(8)</sup>

## Imágenes de campo visual completo

En eritrocitos considerando los coeficientes elementales, la inicialización basada en texturas y el método de conjuntos de nivel, se tiene una sensibilidad del proceso (que se corresponde con la concordancia obtenida) del 87,10 % para circulares; 90,00 % para falciformes y 56,25 % para otras deformaciones. Para confirmar la utilidad del método en el apoyo al diagnóstico clínico, se estudiaron 2 casos de pacientes en estado de crisis y 2 casos de voluntarios hematológicamente sanos. <sup>(10)</sup>

Con la inicialización basada en los niveles de grises en la imagen y el mismo método de segmentación, se tiene una sensibilidad del 86,05 % para células circulares; el 90,00 % para las falciformes y 53,12 % para las deformadas de otro tipo. Empleando coeficientes elementales y Chan-Vese se tienen valores de sensibilidad de 95,26 % para circulares, el 96,43 % para falciformes y 71,43 % para otras deformaciones; además de un valor del SDS-score del 95,00 %. <sup>(11)</sup>

En el caso de HUVEC aplicando el método de segmentación por umbralización con el umbral de Otsu y los coeficientes elementales, la sensibilidad en la clasificación es del 96,38 % para las circulares; el 97,10 % para las deformadas alargadas y el 96,24 % para las deformadas poco alargadas. <sup>(4,5,6)</sup> En este caso el estudio realizado permite hacer un análisis morfológico cuantitativo de HUVEC presentes en imágenes digitales de cultivos in vitro 2D, bajo la influencia de la  $\beta$  2-glicoproteína I ( $\beta$  2GPI), a la cual le son atribuidas propiedades antiangiogénicas en diferentes ambientes experimentales. Anteriormente, se comprobó el desempeño de la diferenciación celular en muestras in vitro 3D bajo los efectos de

**Tabla 1.** Valores de exactitud (%) en la clasificación de eritrocitos considerando las funciones basadas en geometría integral con k-NN y RNA

Métodos de clasificación	$Cp(\phi)$	$W(\phi)$	$Wc(\phi)$	$p_{\phi}(\sigma, \phi)$	$\sigma_{\phi}(p, \phi)$
k-NN	96,16	95,99	93,91	94,72	94,08
RNA	95,20	96,80	95,20	96,80	98,40

diferentes fracciones de purificación de la  $\beta$  2GPI (dímero, monómero y pool, este último que no es más que la unión de dímero y monómero).<sup>(21)</sup>

En el espacio forma en la clasificación supervisada de eritrocitos se tiene una exactitud del 93,53 % para S1 y un 94,33 % para S2. (19,20) Para el agrupamiento no supervisado, se tiene una exactitud de 88,16 % para S1 y un 94,67 % para S2.

### Análisis de solapamientos

Con el empleo de imágenes de eritrocitos normales y falciformes en solapamientos se alcanzó una eficiencia del 100 % (60 circulares en agrupamientos circulares de 2 objetos y 33 en agrupamientos circulares de 3 objetos).<sup>(3)</sup> En el caso de las imágenes de campo visual completo se tiene que para las células que forman parte de agrupamientos, se alcanza una sensibilidad del 98,21 % para las células normales y un 93,30 % para las falciformes.<sup>(11)</sup>

En la medida SDS-score se comprueba la efectividad de esta disposición en el experimento que se desarrolla con la base de datos erythrocytesIDB3 y el empleo de los coeficientes elementales y la segmentación por Chan-Vese.<sup>(11)</sup> Los valores que se obtienen para la medida SDS-score son del 95,00 %, tanto para el problema de clasificación de 2 clases, como para el de 3 clases.

## DISCUSIÓN

De forma general la propuesta se centra en el procesamiento de imágenes en 2 ambientes experimentales en el ámbito de la salud, incidiendo en una clasificación más precisa y eficiente de las células, superando métodos previos referenciados en la literatura. El impacto científico se centra no solo en que los resultados validan la utilidad del análisis morfológico para el diagnóstico (anemia drepanocítica) o para la investigación básica (angiogénesis), sino que también ofrecen una nueva perspectiva sobre la interpretación de la deformación celular, contribuyendo al avance del conocimiento en especialidades como la hematología o la patología. Desde el punto de vista social y económico, el impacto se observa al facilitar un diagnóstico más rápido y preciso, las herramientas desarrolladas pueden mejorar significativamente la atención médica, optimizando recursos en entornos hospitalarios y de investigación, potencialmente reduciendo costos asociados a diagnósticos erróneos o tardíos. Esto sugiere que la implementación de estas técnicas podría tener un efecto positivo en la salud pública y en la gestión económica del sistema de salud. Existen otros aspectos críticos desde el punto de vista de cada una de las áreas donde se aportan resultados.

En la etapa de segmentación, en resumen, con la umbralización se detectan una mayor cantidad de zonas que no pertenecen a los eritrocitos e incluso en algunos casos pueden generarse solapamientos celulares, los cuales influyen de forma negativa en la clasificación final. Esto no ocurre cuando se aplica los conjuntos de nivel con la inicialización considerando las texturas de los eritrocitos, pues las regiones iniciales que se detectan, se encuentran solamente en objetos de interés. En cuanto a los conjuntos de nivel con la inicialización por niveles de grises, los resultados en la clasificación de eritrocitos que se obtienen con esta forma de inicialización, se encuentran muy cerca de los que se obtienen con la inicialización basada en texturas, lo que indica que ambos métodos se pueden emplear.

La diferencia de su uso radica en que en los casos donde las imágenes tienen una mayor variedad de texturas el método de niveles de gris no brinda sus mejores resultados y en ese caso la inicialización de los objetos de interés, a partir de las texturas presentes en la imagen, es el método más adecuado. En caso contrario, aunque las texturas también brinden buenos resultados, con la inicialización por niveles de gris se logra hacer el proceso automático completamente, pues elimina la interacción con el usuario que genera el método basado en texturas y además permite minimizar el tiempo de procesamiento, ya que este sólo va a depender del nivel de gris que considere el método. Por otra parte, aplicando el método Chan-Vese se aprecia que los resultados son superiores con respecto a los empleados anteriormente.

Representación del contorno y clasificación: Todos los métodos propuestos para realizar la extracción de características/representación del contorno y la posterior clasificación, mostraron la efectividad del empleo de los descriptores valorados.

En el caso de eritrocitos el estudio de casos realizado, mostró que, para los pacientes en estado de crisis, los exámenes clínicos indicaban que la situación de salud del segundo era más severa que la del primero, por tener menor cantidad de hemoglobina y más reticulocitos (células inmaduras). Sin embargo, los resultados sobre la deformación celular muestran valores más pronunciados en el caso del primer paciente, lo que sugiere un mayor peligro de obstrucción vascular y otras consecuencias, a pesar de la clínica existente. Este estudio comprobó la utilidad de desarrollar un análisis morfológico en estos casos, además de los complementarios que se les indica, pues con ello se cuenta con un mayor conocimiento de la situación real del paciente. En el caso de los voluntarios sanos el comportamiento del análisis morfológico fue el esperado.

Para las HUVEC la propuesta de clasificación automática es válida para el análisis a las 24 h de incubación, para

este tipo de muestras en cultivos 2D, empleando descriptores elementales; con resultados que coinciden en su comportamiento con los que se muestran en las muestras 3D, y que permiten obtener una diferenciación morfológica celular de HUVEC en etapas tempranas del proceso de incubación, con la consiguiente disminución en tiempo de espera.

En los análisis de solapamientos empleando el método propuesto, la eficiencia en la detección de las células normales y falciformes es elevada. Estos niveles de eficiencia son superiores a los resultados obtenidos con métodos propuestos anteriormente aplicados a la misma base de datos. Ello permite considerar que el método puede ser extendido a agrupamientos de varias células; además, es importante mencionar que no requiere entradas de usuario.

La medida SDS-score para el tratamiento clínico y el soporte al diagnóstico, es muy deseable obtener un valor alto para las medidas de rendimiento en general correspondientes a multiclase (3 clases) y biclase (2 clases). En este sentido los valores que se alcanzan con la medida propuesta SDS-score (95,00 %) son adecuados para este propósito, tanto para el problema de clasificación de 2 clases, como para el de 3 clases. Por lo que es posible concluir que la medida resulta factible para respaldar el diagnóstico de pacientes con anemia drepanocítica.

Con ambas herramientas propuestas y desarrolladas se puede hacer una clasificación de los eritrocitos considerando las 3 clases valoradas normales, falciformes y de otras deformaciones. Independientemente que las soluciones propuestas por sí solas constituyen un aporte práctico que puede ser empleado por el personal médico, también sientan las bases para la implementación de nuevas funcionalidades automatizadas a módulos existentes en *softwares* especializados y desplegados en ambientes hospitalarios, lo que hace que se mejoren el diagnóstico y el tratamiento de diferentes enfermedades. Aunque las investigaciones están orientadas al procesamiento de imágenes celulares, pueden ser extendidas a otros ambientes donde se necesite trabajar con el análisis morfológico.

## Conclusiones

Los métodos y las herramientas generados, para el análisis morfológico de imágenes de las muestras biológicas a partir de técnicas de inteligencia artificial, resultan ser significativos para avanzar en los diagnósticos médicos, y en concreto, en el estudio de forma automática de la anemia drepanocítica y la angiogénesis. Los resultados indican una mejora en la precisión y eficiencia del análisis morfológico, y superan el rendimiento de las técnicas tradicionales. La automatización del proceso no solo ataja la subjetividad del análisis visual humano, sino que también permite clasificaciones más rápidas, repetibles y precisas, lo cual es fundamental en

el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades. Las herramientas desarrolladas SErClas® y SiClad®, constituyen aplicaciones que permiten hacer posible, en diversos entornos no sólo de investigación, la implementación de estas técnicas, favoreciendo una mejora clínica en la atención médica. En resumen, el conjunto de nuevas metodologías y algoritmos de análisis morfológico propuestos sientan un referente para las futuras líneas de investigación en el ámbito de la inteligencia artificial aplicada a la biomedicina.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paz Y, Herold S. Perspectivas recientes del análisis morfológico automatizado en eritrocitos. Rev. Cuba. Investig. Bioméd., 2021;suppl.1:40. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-3002021000200014&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-3002021000200014&script=sci_arttext&tlng=en)
2. Escobedo M, Herold S, Ferreira L, Machado F, Monteiro E, Delgado W. Análisis morfológico de muestras de HUVEC utilizando funciones basadas en geometría integral. Rev. Cienc. Mat. 2016;30(2):79-86. Disponible en: <https://revistas.uh.cu/rcm/article/view/8821>
3. González M, Guerrero F, Herold S, Jaume A, Marrero P. Red Blood Cell Cluster Separation from Digital Images for use in Sick Cell Disease. IEEE J Biomed Health. 2014;19(4):1514-25. Disponible en: <https://doi.org/10.1109/JBHI.2014.2356402>
4. Escobedo M, Herold S, Ferreira L, Delgado W, Machado F, Monteiro E. Clasificación morfológica de células endoteliales de venas del cordón umbilical humano en imágenes digitales de cultivos *in vitro*. Revista Medisan. 2017;22(2):123-31. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1029-30192018000200002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1029-30192018000200002&script=sci_arttext&tlng=pt)
5. Escobedo M, Herold S, Ferreira L, Machado F, Monteiro E, Delgado W. Clasificación morfológica usando descriptores elementales en imágenes digitales de muestras de HUVEC. Rev. Cienc. Mat. 2017;31(2):117-23. Disponible en: <https://revistas.uh.cu/rcm/article/view/8845>
6. Escobedo M, Herold S, Ferreira L, Machado F, Monteiro E, Delgado W. Clasificación morfológica de células endoteliales de venas de cordón umbilical humano (HUVEC) en imágenes digitales. Rev. Cuba. Cienc. Informat. 2018;12(1):1-13. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2227-18992018000100001&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2227-18992018000100001&script=sci_arttext)
7. Escobedo M, Delgado W, Monteiro E, Ferreira L. Automatic Morphological Evaluation of Endothelial Cells Using Different Classification Methods. Proceedings IX Latin American Congress on Biomedical Engineering and XXVIII Brazilian Congress on Biomedical Engineering. CLAIB CBEB 2022; 2022 Oct 24-8; Brasil: IFMBE; 2024. 582-91 p. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-49404-8\\_56](https://doi.org/10.1007/978-3-031-49404-8_56)
8. Escobedo M, Delgado W, Jiménez J, Ferreira L. Deep Learning Models for Automatic Morphological Evaluation of Endothelial Cells. Proceedings XXIX Congreso Brasileño de Ingeniería Biomédica (CBEB); 2024 Sep 2-6; Ribeirão Preto-Brasil; 2024.
9. Grandales H, Soto Y, García S. Análisis de desempeño de segmentación sobre imágenes de muestras de sangre periférica. Orange Journal. 2021;3(6):21-33. Disponible en: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.03>

10. Fernández K, Herold S, Fernández A, Escobedo M, Coello G, Marre-ro P. Estudio morfológico en muestras de sangre periférica. Proceedings V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011; 2011 may. 16-21; La Habana, Cuba: Springer Berlin; 2013. 543-6 p. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21198-0\\_139](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21198-0_139)
11. Delgado W, Escobedo M, González M, Herold S, Jaume A, Mir A. Diagnosis support of sickle cell anemia by classifying red blood cell shape in peripheral blood images. Med Biol Eng Comput. 2020;58(6):1265-84. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11517-019-02085-9>
12. Gual X, Herold S, Simó A. Shape description from generalized support functions. Pattern Recognit. Lett. 2013;34(6):619-26. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2012.12.016>
13. Gual X, Herold S, Simó A. Erythrocyte shape classification using integral-geometry-based methods. Med Biol Eng Comput. 2015;53:623-33. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11517-015-1267-x>
14. Herold S, Fernandes L. New Methods for Morphological Erythrocytes Classification. Proceedings 2019 41st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC); 2019 Jul. 23-27; Berlin, Alemania; 2019. 4068-71 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1109/EMBC.2019.8857013>
15. Paz Y, Herold S, Fernandes L, Díaz S. Automatic classification of erythrocytes using artificial neural networks and integral geometry-based functions. Proceedings 33rd SIBGRAPI Conference on Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI); 2020 nov. 7-10; Recife-Brasil: IEEE; 2020. 156-63 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1109/SIBGRAPI51738.2020.00029>
16. Delgado W, González M, Herold S, Jaume A, Mir A. Erythrocytes morphological classification through HMM for sickle cell detection. Proceedings Articulated Motion and Deformable Objects: 9th International Conference AMDO; 2016 Jul. 13-15; Palma de Mallorca, España: Springer International Publishing; 2016.88-97 p. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-41778-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-41778-3_9)
17. Delgado W, Herold S, Escobedo M, Gonzalez M, Jaume A, Mir A, Ferreira L. Classification of Red Blood Cell Shapes Using a Sequential Learning Algorithm. Proceedings XXVII Brazilian Congress on Biomedical Engineering. CBEB 2020; 2020 Oct. 26-30; Brasil: IFMBE Proceedings; 2022. p. 2059-65. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-70601-2\\_301](https://doi.org/10.1007/978-3-030-70601-2_301)
18. Delgado W, Escobedo M, Pascual R. Uso del aprendizaje profundo para identificar formas en eritrocitos. Proceedings XVIII Congreso Internacional COMPUMATG; 2021 Dic. 15; Bayamo-Cuba; 2021.
19. Gual X, Herold S, Simó A. Geometric analysis of planar shapes with applications to cell deformations. Image Anal. Stereol. 2015;34:171-82. Disponible en: <https://doi.org/10.5566/ias.1151>
20. Epifanio I, Gual X, Herold S. Morphological analysis of cells by means of an elastic metric in the shape space. Image Anal. Stereol. 2020;39:281-91. Disponible en: <https://doi.org/10.5566/ias.2183>
21. Machado C, Escobedo M, Nigro C, Vaz S, Prado C, Augusto D, Palacios F, Ferreira L. Digital Image Processing Assessment of the Differential in vitro Antiangiogenic Effects of Dimeric and Monomeric Beta2-Glycoprotein I. J Cytol Histol. 2013;4(4):1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.4172/2157-7099.1000187>

Recibido: 23/09/2025

Aprobado: 13/10/2025

### Agradecimientos

Se agradece a todos los colaboradores que, en calidad de profesores, investigadores, personal de la salud, estudiantes de pregrado y postgrado hicieron posible la realización de esta investigación.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, con la investigación presentada, ni con la institución que representa.

### Contribución de los autores

- Conceptualización: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo, Ximo Gual-Arnau, Amelia Simó Vidal
- Curación de datos: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Ligia Ferreira Gomes, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo
- Análisis formal: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo, Ximo Gual-Arnau, Amelia Simó Vidal, Yaima Paz Soto
- Adquisición de fondos: Antoni Jaume i Capó, Ximo Gual-Arnau, Silena Herold García, Ligia Ferreira Gomes
- Investigación: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Ligia Ferreira Gomes, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo, Ximo Gual-Arnau, Amelia Simó Vidal, Yaima Paz Soto
- Metodología: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo, Ximo Gual-Arnau, Amelia Simó Vidal
- Administración del proyecto: Silena Herold García, Antoni Jaume i Capó, Ximo Gual-Arnau, Ligia Ferreira Gomes,
- Recursos: Antoni Jaume i Capó, Ximo Gual-Arnau
- Software: Silena Herold García, Miriela Milagros Escobedo Nicot, Wilkie Ernesto Delgado Font, Yaima Paz Soto
- Supervisión: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Antoni Jaume i Capó, Manuel González Hidalgo, Ximo Gual-Arnau, Amelia Simó Vidal
- Validación: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font, Ligia Ferreira Gomes, Yaima Paz Soto
- Visualización: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font
- Redacción-borrador original: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font
- Redacción-revisión y edición: Miriela Milagros Escobedo Nicot, Silena Herold García, Wilkie Ernesto Delgado Font

### Financiamientos

Este trabajo fue soportado por los proyectos PCoopUJI-18-01, P11B2012-24 y UJIB2017-13 de la Universidad Jaume I, España, por Grant DPI2017-87333-R por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (AEI/FEDER, UE); proyecto 10150 dentro del Programa Nacional de Ciencias Básicas en la Universidad de Oriente, Cuba; Cooperación de Bélgica para el Desarrollo, a través de VLIR-UOS (*Flemish Interuniversity Council-University Cooperation*)

*for Development*) dentro del programa IUC de la Universidad de Oriente; proyecto DPI2013-47279-C2-1-R, y por el proyecto PROMETEOII/2014/062.

Además, por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (MINECO), la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) por su apoyo a los proyectos TIN2016-81143-R (MINECO/AEI/FEDER, UE) y TIN2016-75404-P (MINECO/AEI/FEDER, UE), y el apoyo del Gobierno de las Islas Baleares y de la Universidad de las Islas Baleares a los proyectos OCDS-CUD2016/01 y OCDS-CUD2017/05. Por el proyecto PT241SC003-006 del Programa Territorial CITMA Delegación Santiago para Desarrollo de Productos y Servicios de Salud 2020. También está soportado por las agencias de investigación brasileñas CAPES proyecto No. 119/11, FAPESP, CNPq proyecto PDJ 402601/2015-7.

#### Cómo citar este artículo

Escobedo Nicot MM, Herold García S, Delgado Font WE, Ferreira Gomes L, Jaume i Capó A, González Hidalgo M, et al. Métodos para el análisis morfológico en imágenes de muestras biológicas aplicando técnicas de inteligencia artificial. An Acad Cienc Cuba [Internet] 2025 [citado en día, mes y año];15(3):e3184. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/3184>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).<sup>©</sup> Los autores, 2025.











