

Determinación Automatizada de Fertilidad en Muestras de Esperma a partir de Secuencias de Video

Pablo Odorico¹, Norbert Kaula², y Claudio Delrieux³

¹ Departamento de Cs. e Ing. de la Computación - Universidad Nacional del Sur -
pablo.odorico@gmail.com

² Department of Computer Science — University of Denver — nkaula@cs.du.edu

³ Departamento de Ing. Eléctrica y Computadoras - Universidad Nacional del Sur -
claudio@acm.org - Parcialmente financiado por la SECyT-UNS

1. Objetivos del Proyecto

En este trabajo se reseñan los resultados preliminares de un proyecto cuyo objetivo es la determinación automática de fertilidad de muestras de esperma obtenida a partir del análisis de videos. La fertilidad de una muestra de esperma se determina a partir de la proporción de espermatozoides que se encuentran en estado de *motilidad hiperactivada*. Esta motilidad puede estimarse a partir de parámetros geométricos obtenidos en una discretización de la trayectoria del espermatozoide. Estos parámetros incluyen la velocidad curvilínea (VCL), el desplazamiento lateral de la cabeza (ALH), y la frecuencia de entrecruzamiento o *beat/cross frequency* (BCF).

Por un lado, la determinación de valores cuantitativos para estos parámetros geométricos es una tarea tediosa, compleja, y sujeta a errores. Y por otro lado, estos parámetros no son robustos para determinar fehacientemente el estado de motilidad hiperactivada en una trayectoria, siendo siempre el experto humano quien debe en definitiva establecer la clasificación. En consecuencia, existen diferentes definiciones o criterios para determinar la hiperactivación en una trayectoria.

Existen en la literatura referencias que muestran que uno de estos criterios adicionales podría ser la dimensión fractal de la curva. En Mortimer et. al. (1996) se utilizan dos definiciones de dimensión fractal para determinar hiperactividad. Los autores muestran que con un intervalo de confianza razonable, es posible clasificar como hiperactivadas aquellas curvas que bajo su definición tienen dimensión fractal mayor que 1.3, mientras que aquellas que están por debajo de 1.2 no son hiperactivadas. El método, sin embargo, tiene falsos positivos en trayectorias circulares.

En este trabajo avanzamos hacia dos direcciones que permiten automatizar el proceso completo. Primero, para obtener discretizaciones adecuadas de las trayectorias, implementamos un algoritmo de *tracking* automático de trayectorias de espermatozoides en secuencias de video. Este algoritmo se basa en una segmentación por medio de distancia cromática, y la búsqueda en cuadros sucesivos de clusters de pixels segmentados en posiciones cercanas. Segundo, investigamos dos otras posibles dimensiones fractales para realizar esta determinación, respectivamente la dimensión *box*, y la regresión obtenida por medio de muestreos a frecuencias de muestreo decrecientes. Esta última podría ser considerada una forma indirecta de computar la dimensión del compás. Los resultados hasta ahora son promisorios, restando la contrastación de nuestro método con los métodos tradicionales.

2. Tracking de Trayectorias

El algoritmo para discretizar las trayectorias se basa en dos pasos. El primer paso determina una segmentación inicial y se realiza en el primer cuadro, mientras que el segundo, de actualización, toma la segmentación del cuadro anterior y en base a la misma actualiza la segmentación en el cuadro actual. La siguiente es una descripción de cada una de las responsabilidades en este algoritmo. Cabe mencionar que todas ellas requieren operaciones muy sencillas y eficientes de procesamiento de imágenes (binarización, morfología, etc.).

1. **Segmentación:** En todos los videos analizados fue imposible encontrar una función robusta de segmentación en el espacio cromático, por lo que nos manejamos con un criterio heurístico consistente en utilizar un umbral relativamente alto para clasificar un pixel como *foreground* (espermatozoide). Esto es así dado que el algoritmo de tracking resultó ser más robusto respecto de los falsos negativos que de los falsos positivos.
2. **Inicialización:** Este paso es similar al paso inicial de marcado en los algoritmos de *watershed*. A partir de un número n de trayectorias que se desea seguir (determinado externamente por el usuario), el algoritmo determina los n puntos iniciales de mayor probabilidad, basándose en los valores de la función de segmentación y de la cantidad de pixels que forman el cluster.

Para cada pixel con un valor alto de segmentación positiva, se determinan los pixels vecinos que también son segmentados positivamente, lo cual forma un cluster. Para cada cluster se determinan los valores x, y del centroide. La secuencia de centroides será en definitiva la secuencia de puntos de discretización que va a ir generándose cuadro a cuadro.

3. **Actualización:** Para cada cluster, cuyo centroide está determinado en el cuadro anterior, se busca en el cuadro actual la posición más probable. Ésta se computa por una búsqueda local alrededor de dicho centroide de por lo menos un pixel con segmentación positiva, encontrándose luego sus pixels vecinos localmente conectados en *foreground* que conforman el cluster. Se computa el centroide, y se computan las diferencias de posición entre el centroide actual y el anterior. Si no hay un cluster satisfactorio en la cercanía, y el centroide anterior estaba cerca del borde del cuadro, se asume que la trayectoria salió del cuadro y se termina la discretización.
4. **Colisiones:** Eventualmente dos o más trayectorias colisionan, cuando las cabezas de dos espermatozoides están suficientemente juntas como para que las segmentaciones se confundan. Para evitar el problema del cruzamiento, el algoritmo utiliza la diferencia entre posiciones de centroides sucesivos como mecanismo de desambiguación. En la mayoría de los casos, una regresión lineal con los últimos dos o tres puntos de la trayectoria es suficiente, pudiendo, si es necesario, realizarse una regresión de orden superior.

En caso de que la desambiguación no sea exitosa, puede abortarse la discretización de las trayectorias que estén colisionando, dado que para los objetivos de este estudio, la longitud (en cantidad de muestras) de las trayectorias discretizadas no es un requisito fundamental, pero si lo es la certeza de que el análisis de cada trayectoria se realiza con discretizaciones adecuadas.

En la Fig. 1 podemos ver dos *screenshots* de nuestra aplicación **STrack** para diferentes partes de la discretización de trayectorias. En particular, la cantidad de trayectorias elegida es 15 y se muestra el primer cuadro (inicialización) y luego de 80 cuadros. En <http://www.youtube.com/watch?v=o53t0tD2MFU> puede encontrarse el video de una discretización completa realizado por los autores.

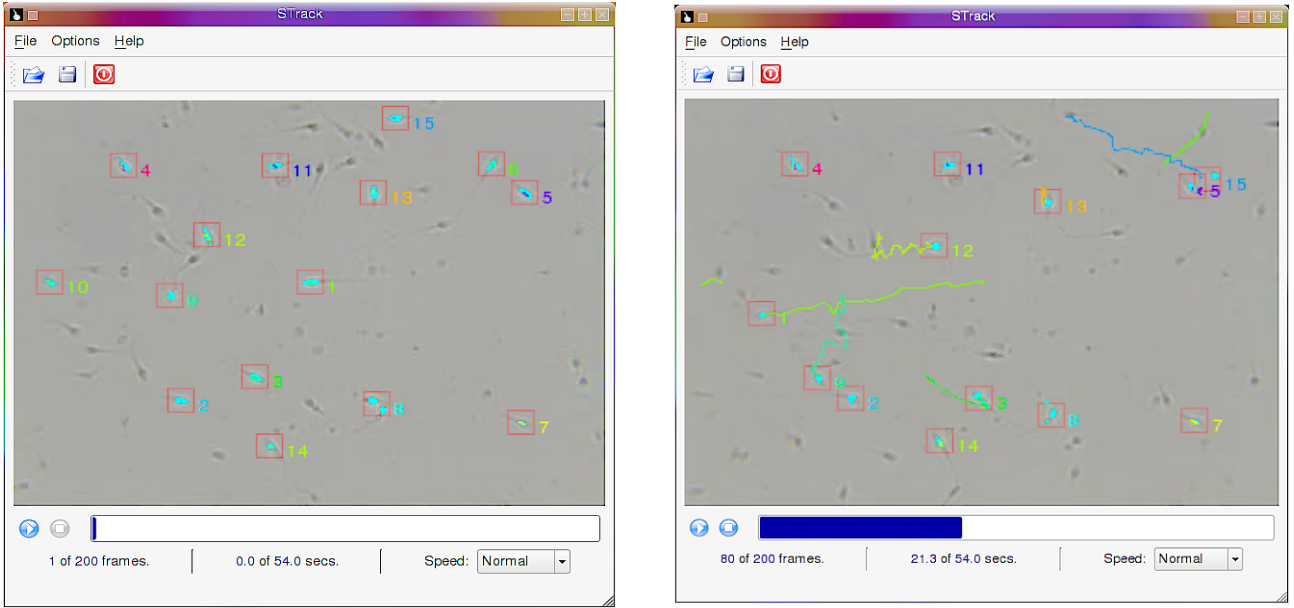


Figura 1: Tracking de trayectorias (a) luego de la inicialización (primer cuadro), y (b) luego de 80 cuadros.

3. Análisis Fractal de Trayectorias

La caracterización fractal de objetos geométricos ha sido objeto de un intenso estudio desde que tres décadas atrás su uso fuera impulsado por B. Mandelbrot. Por dicha razón es posible conjeturar que para objetos como los de nuestro trabajo, trayectorias de espermatozoides, las herramientas desarrolladas para determinar dimensión fractal de curvas deberían ser adecuadas. En particular, la denominada *dimensión del compás* ha sido exitosamente aplicada para caracterizar objetos naturales como costas, ríos, fronteras, etc. La dimensión del compás consiste en realizar la regresión en un espacio logarítmico de la longitud de la curva rectificada con una poligonal de lado l , en función del lado l :

$$D_c = \lim_{l \rightarrow 0} \frac{\log(\text{long}(l))}{\log(1/l)}.$$

Mortimer et. al. (1996) proponen una definición alternativa que tiene en cuenta además la cantidad n de muestras en la trayectoria y la extensión planar d del rectángulo que contiene propiamente a la misma:

$$D_m = \frac{\log(n)}{\log(n) + \log(d/l)}.$$

Los autores no realizan ningún tipo de regresión, lo cual es metodológicamente cuestionable. De todas maneras, sus resultados muestran que para trayectorias superactivadas se observa que $D_m \geq 1.3$, mientras que para no superactivadas el valor está debajo de 1.2 (con excepción de trayectorias circulares), lo cual es un buen indicador de que la caracterización fractal puede ser un criterio robusto para clasificar la motilidad.

Como parte de este proyecto, estudiamos otras dos caracterizaciones de la dimensión fractal. La primera de ellas es la conocida dimensión *box* o dimensión de ocupación, la cual es la regresión espacio logarítmico de la cantidad n de cuadrículas de lado l visitadas por la trayectoria, en función del lado l :

$$D_b = \lim_{l \rightarrow 0} \frac{\log(n(l))}{\log(1/l)}.$$

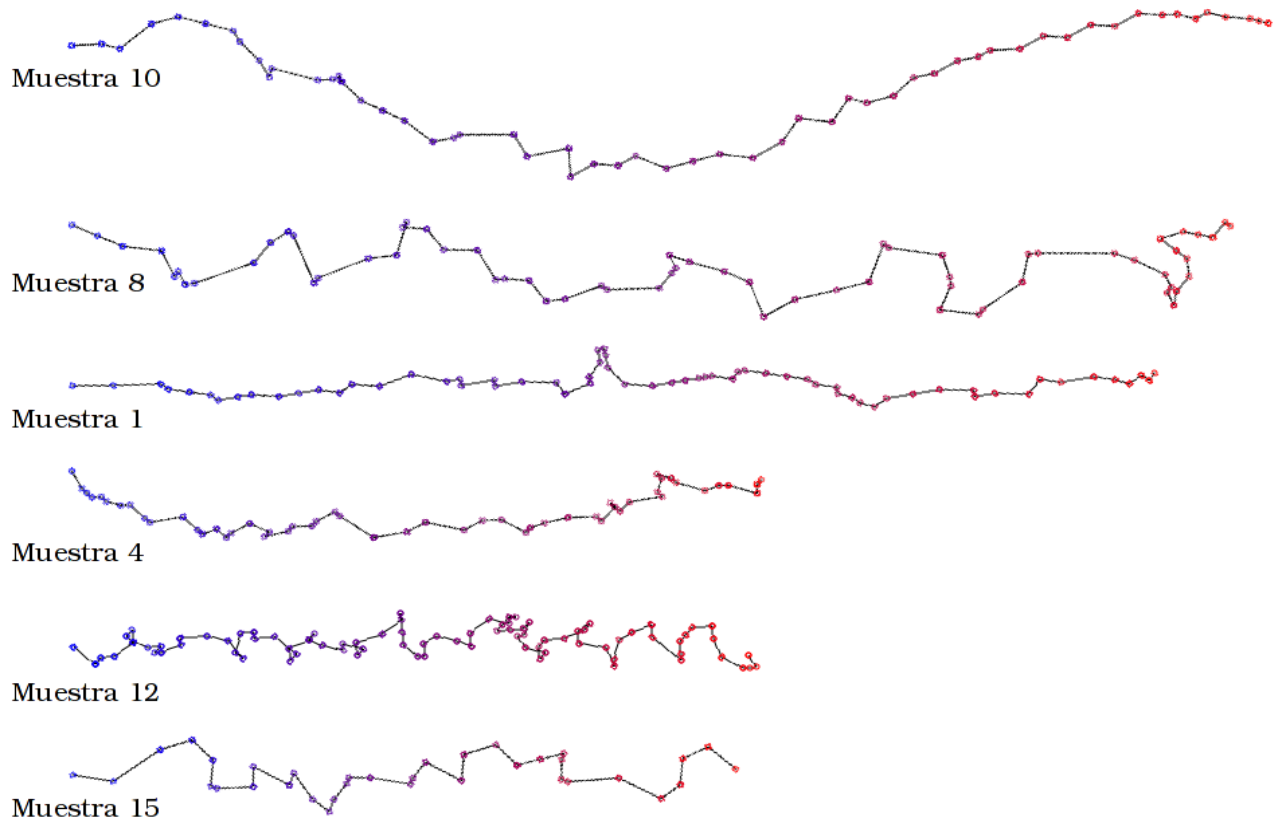


Figura 2: Tracking de trayectorias obtenidas, identificadas cada una por su número.

La segunda caracterización tiene en cuenta la dependencia del nivel de detalle de la trayectoria en función de la frecuencia de muestreo del video, y por lo tanto es una regresión espacio-temporal en un espacio logarítmico de la longitud de la curva discretizada con un tiempo de muestreo t :

$$D_t = \lim_{t \rightarrow 0} \frac{\log(\text{long}(t))}{\log(1/t)}.$$

Todas estas regresiones se realizan por cuadrados mínimos y hasta el límite práctico de un pixel de distancia y un cuadro de tiempo de muestreo. En la Fig. 2 se muestran algunas trayectorias elegidas para su estudio, y en la Tabla 1 se consignan los resultados de aplicar estas dos metodologías de dimensión fractal.

4. Conclusiones y Trabajo Futuro

Presentamos los resultados intermedios tendientes a la determinación automatizada de fertilidad de muestras de espermatozoides obtenida a partir del análisis de videos. Para obtener discretizaciones adecuadas de las trayectorias se implementó un algoritmo de *tracking* de trayectorias de espermatozoides en secuencias de video. Asimismo se investigaron otras posibles dimensiones fractales para realizar la determinación de motilidad hiperactivada a partir de las trayectorias. Los resultados hasta ahora son promisorios, restando la contrastación de nuestro método con los métodos tradicionales.

Los pasos siguientes de este trabajo consisten en automatizar el sembrado del algoritmo de tracking, para poder analizar la mayor cantidad posible de trayectorias en un video (incluyendo

Trayectoria	D_t	D_b
10	1.13911	1.01489
8	1.20840	1.07117
1	1.14355	1.05294
4	1.17517	1.03801
12	1.27538	1.18789
15	1.35917	1.11135

Tabla 1: Valores de D_t y D_b para las trayectorias de la Fig. 2.

aquellas que corresponden a espermatozoides que entran dentro de área analizable en un cuadro intermedio). Esto permitirá realizar una estadística del porcentaje de trayectorias clasificadas como hiperactivadas, y finalmente decidir acerca de la fertilidad potencial de la muestra.

5. Bibliografía

- Boyers, S.P., Davis, R.O. and Katz, D.F. (1989).** Automated semen analysis. *Curr. Problems Obstet. Gynecol. Fertil.*, XII, 167-200.
- Burkman, L.J. (1991).** Discrimination between nonhyperactivated and classical hyperactivated motility patterns in human spermatozoa using computerised analysis. *Fertil. Steril.*, 55, 363-371.
- Davis, R.O. and Siemers, R.J. (1995).** Derivation and reliability of kinematic measures of sperm motion. *Reprod. Fertil. Dev.*, 7, 857-869.
- Katz, M.J. (1988).** Fractals and the analysis of waveforms. *Comput. Biol Med.*, 18, 145-156.
- Mandelbrot, B.B. (1983).** *The Fractal Geometry of Nature.* W.H.Freeman and Company, New York.
- Mortimer, S.T. and Mortimer, D. (1990).** Kinematics of human spermatozoa incubated under capacitating conditions. *J. Androl.*, 11, 195-203.
- Mortimer, S.T., Swan, M.A. and Mortimer, D. (1996).** Fractal analysis of capacitating human spermatozoa. *Human Reproduction* vol.11 no.5 pp. 1049-1054, 1996.
- Mortimer, S.T. and Swan, MA. (1995).** Kinematics of capacitating human spermatozoa analysed at 60 Hz. *Hum. Reprod.*, 10, 873-879.
- Salvatelli, A., Caropresi, J.L., Delrieux, C., Izaguirre, M.F. and Casco, V. (2007).** Cellular Outline Segmentation using Fractal Estimators. *Journal of Computer Science and Technology* Vol. 7, No. 1, págs. 14-22, ISSN 1666-6046.