



Carlos Óscar Sánchez Sorzano

Profesor adjunto y coordinador del área de teoría de la señal y las comunicaciones de la Universidad San Pablo CEU



José Mª Carazo García

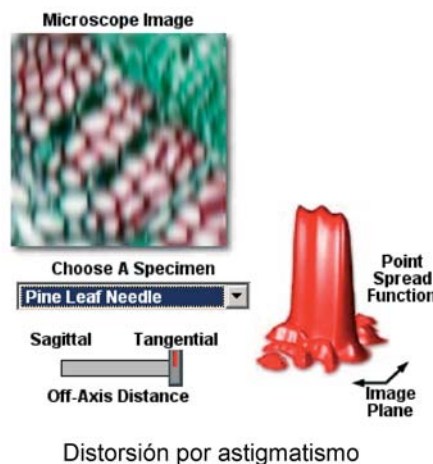
Director de la unidad de biocomputación del Centro Nacional de Biotecnología del CSIC

Avances en el procesamiento de imágenes biológicas a nivel microscópico: restauración de imágenes

En el artículo anterior presentamos los principales conceptos de microscopía y los problemas de procesamiento de imagen asociados. En esta entrega nos centraremos sobre el primero de los problemas que presentábamos: ¿cómo corregir las imperfecciones o aberraciones del microscopio? Es lo que se conoce como restauración de imágenes, y en el caso lineal, deconvolución. Como veremos, la restauración de imágenes permite mejorar por métodos de procesado de señal las limitaciones físicas de los microscopios.

Los microscopios, como cualquier otro dispositivo de adquisición de señales del mundo real, introducen una cierta distorsión a la señal adquirida. Esta distorsión puede tener diferentes naturalezas: oclusiones (parte del objeto no sería visible), transformaciones lineales (convolución de la señal ideal adquirida con una determinada respuesta al impulso), transformaciones no lineales (por ejemplo devolver el logaritmo de la señal de entrada, esto es muy habitual en dispositivos ópticos que devuelven la densidad óptica en lugar de la intensidad transmitida), distorsiones geométricas (por ejemplo el efecto de barril/pincushion producidos en sistemas con varias lentes), diferencias de iluminación entre diferentes zonas, aberraciones cromá-

ticas (diferentes longitudes de onda de la radiación incidente son tratadas de forma diferente), diferencias de foco, diferencias en el ángulo del haz de luz (astigmatismo), etc. En las figuras que ilustran este artículo se muestran algunas distorsiones debidas al astigmatismo



mo, a la aberración cromática, y a la aberración esférica. Como se puede observar, las aberraciones debido al astigmatismo, aberración cromática y aberración esférica resultan en un emborronamiento de la imagen, aunque este emborronamiento se puede hacer de forma localizada (aberración esférica), de forma generalizada en una dirección preferente (astigmatismo) o por longitudes de onda (diferentes longitudes de onda se emborronan de forma diferente, aberración cromática).

Los principios ópticos detrás de estos emborronamientos están fuera del alcance de este artículo. Bástenos saber que en una aproximación de primer orden podemos suponer que la imagen ideal se convoluciona con una respuesta al

impulso del microscopio (llamada Point Spread Function, PSF) que puede ser la misma a lo largo de toda la imagen (astigmatismo y aberración cromática) o puede ir variando en diferentes zonas de la imagen (aberración esférica) aunque ya no se puede hablar de convolución pero sí de respuesta lineal. Si tomamos un modelo óptico más complejo, el sistema ya no es lineal sino que tiene una dependencia más compleja.

Los algoritmos de restauración de imágenes intentan recuperar la imagen original a partir de:

1. Una única imagen microscópica y el conocimiento de la PSF por medio de una calibración anterior. Esta técnica es lo que se conoce como deconvolución.
2. Una única imagen microscópica y la estimación sobre la misma de la PSF utilizando información a priori bien sobre la PSF (esta técnica realiza un primer paso de identificación del sistema y paso posterior de deconvolución) o de la imagen ideal (ésta es una técnica muy en boga actualmente denominada restauración ciega).
3. Varias imágenes del mismo objeto adquiridas con diferentes PSFs desconocidas todas ellas. Es lo que se conoce como fusión de imágenes y es actualmente un campo muy activo.

Sin embargo, durante la adquisición de las imágenes no sólo emborronan las imágenes, sino que además se les añade ruido. La restauración de las imágenes en presencia de ruido impone serias restricciones al algoritmo de restauración puesto que en caso de no hacerse con cuidado puede amplificar el nivel de ruido existente. La forma de no amplificar el

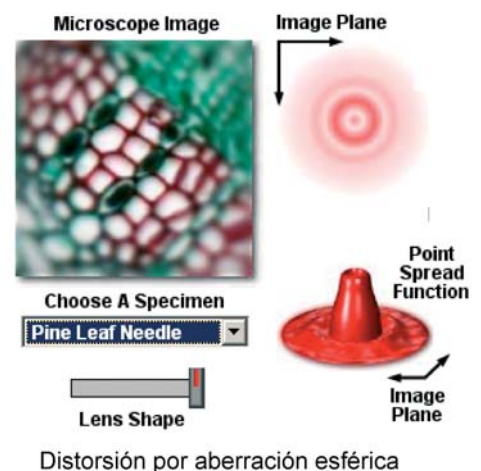
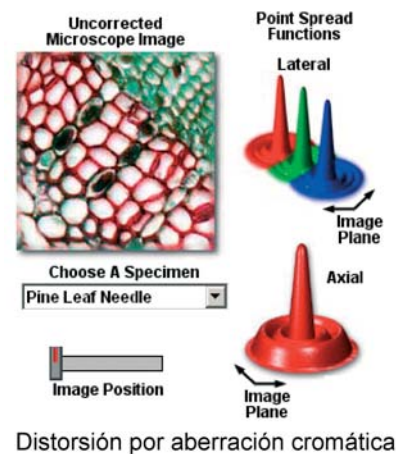
ruido suele ser por medio de una regularización del funcional a minimizar. Esta regularización busca minimizar, por ejemplo, la varianza de la imagen restaurada, o alguna función no necesariamente lineal relacionada con sus derivadas.

La restauración de imágenes ha sido aplicada a prácticamente todos los tipos de microscopías. Sin embargo, en los últimos años ha tenido mucha importancia la restauración de imágenes en microscopía confocal y microscopía de fluorescencia, ya que estos dos tipos de microscopías han sido de los últimos en incorporarse al abanico de posibilidades.

La restauración de imágenes puede basarse en diferentes principios algorítmicos:

- Deconvolución por filtrado inverso.
- Solución de mínimos cuadrados a la deconvolución.
- Restauración de máxima entropía.
- Métodos bayesianos.
- Métodos basados en variación total.
- Restauración ciega por proyección en conjuntos convexos y conjuntos difusos.
- Deconvolución ciega.
- Fusión de imágenes.

Cada uno de estos métodos puede ser aplicado en una gran multitud de espacios: el espacio de los píxeles, el espacio de los coeficientes de la transformada de Fourier, el espacio de los coeficientes de la transformada wavelet, y un sin fin más de transformadas dando lugar a una amplia variedad de métodos. Además la forma concreta del funcional minimizado y el término de regu-



larización empleado aumentan aún más las posibilidades algorítmicas.

Actualmente la tendencia es a seguir explorando nuevos espacios donde realizar la restauración de imágenes, a prestar especial atención a los bordes (por lo tanto a usar métodos bayesianos y de variación total), a extender los métodos para poder corregir degradaciones no lineales, y a admitir nuestro desconocimiento sobre la función exacta de degradación (métodos ciegos o semiciegos). El resultado de todas estas técnicas es la superación por métodos de procesamiento de señal de algunas de las limitaciones físicas de los diferentes tipos de microscopios. ♦