



**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: eliminación de ruido

Continuamos en este artículo revisando los diferentes aspectos de procesamiento de imagen en microscopía considerando, esta vez aquellos algoritmos diseñados para la reducción del ruido. El ruido es un concepto bien ubicuo en la ingeniería de telecomunicación, y es de hecho nuestra profesión la que lidera el diseño de este tipo de procesos orientados a combatir estas interferencias aleatorias.

**E**l ruido ha sido un “enemigo” tradicional de las comunicaciones puesto que degrada la calidad de las transmisiones y es uno de los factores limitantes de la máxima distancia a la que se puede transmitir una señal. Por este motivo, los ingenieros de telecomunicación se han esforzado desde los comienzos de las comunicaciones radioeléctricas por combatir este indeseado compañero, en primer lugar de forma analógica, y con la revolución digital, mediante complejos algoritmos de filtrado. Como nota histórica, es importante destacar que el origen del “ruido” no pudo explicarse hasta que en 1905 Einstein predijera la existencia de átomos a través del ruido y Perrin confirmara sus predicciones, e incluso es curioso saber que se utilizara el ruido para calcular el número de Avogadro. El artículo de Cohen en 2005 es una magnífica revisión de la historia del ruido a través de la física atómica.

### Fuentes de ruido

Aunque el ruido, en su concepción más purista, proviene del movimiento aleatorio de los átomos, en términos prácticos podemos designar como ruido toda aquella señal que interfiere con la

leza aleatoria de la llegada de partículas (fotones en el caso de microscopía óptica o de rayos X; electrones en el caso de microscopía electrónica; y partículas radiactivas en el caso de autorradiografías) al receptor (es decir, si ponemos una muestra en el

.....

**“Es importante destacar que el origen del “ruido” no pudo explicarse hasta que en 1905 Einstein predijera la existencia de átomos a través del ruido y Perrin confirmara sus predicciones, e incluso es curioso saber que se utilizara el ruido para calcular el número de Avogadro”**

.....

señal de interés. En microscopía existen varias fuentes de ruido.

En primer lugar, considerando que las imágenes se forman por la recolección de partículas, una fuente obvia de ruido es la natura-

microscopio y la observamos dos veces es muy probable que en un mismo punto y para una misma duración de la observación recolectemos un número diferente de partículas, esto es lo que se conoce como *shot noise*). Se suele asu-

mir que dicha llegada de partículas sigue una distribución de Poisson. Sin embargo, dado que normalmente el número de partículas que llega es muy elevado, se puede aproximar bien esta distribución por una gaussiana. Hay aplicaciones en las que esto no es así como son las autorradiografías (se inyecta una sustancia radiactiva a un tejido, con tendencia a acumularse en determinadas estructuras y se observan las partículas beta o gamma emitidas), en este caso, el número de partículas no es lo suficientemente elevado como para considerar el ruido como una gaussiana.

La segunda fuente de ruido obvia la constituye el receptor utilizado para detectar los fotones o electrones. En el caso de utilizar una cámara CCD tendremos, como en todos los dispositivos electrónicos, ruido térmico y el ruido introducido por los amplificadores detrás del detector CCD. Si en su lugar lo que se utiliza es una película, entonces tendremos el ruido asociado a la microestructura de cristales presente en la película (*film grain noise*, cuando uno de estos pequeños cristales cambia sus propiedades físicas por efecto de la luz; cambia todo el cristal al mismo tiempo, con lo cual tendremos "cambios en bloque" de forma local), el ruido debido a los cambios de textura del papel o medio en el que se revele la película, el ruido del scanner si posteriormente se digitaliza la imagen, etc. (ver Figuras 1 y 2).

Al igual que en comunicaciones, también se considera ruido en imágenes a cualquier señal interferente con respecto a la señal de interés. Éste es el caso de la microscopía electrónica de partículas individuales. Las macromo-

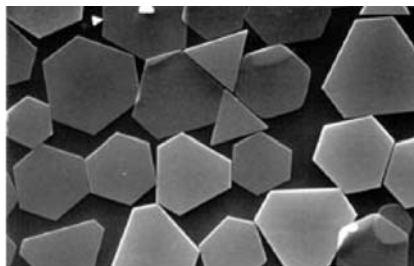


Fig.1. Micrografía electrónica de los cristales de haluro de plata utilizados en una emulsión fotográfica.

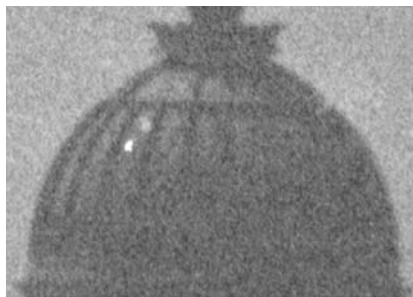


Fig.2. La presencia de cristales es lo que da el aspecto ruidoso a la fotografía analógica.

léculas observadas en el microscopio se encuentran inmersas en hielo amorfo durante su visualización en el microscopio. El resulta-

ruido que señal) además de presentar muy bajo contraste de la proteína con respecto al hielo, por lo que este tipo de imágenes requieren de robustos algoritmos de procesamiento de imagen.

Las propiedades estadísticas del ruido son muy importantes, no sólo cuál es su distribución en un determinado punto sino también si tenemos la misma distribución en todas las zonas de la micrografía (pudiera ser que determinadas zonas tengan más ruido que otras, es decir si el ruido es estacionario o no) o si el ruido en un punto está correlacionado con el ruido en otro punto cercano (es decir, si es ruido blanco o está coloreado). La caracterización estadística del ruido es fundamental para su posterior eliminación. También es fundamental saber si el ruido es independiente de la señal observada (ruido aditivo) o si es dependiente de la misma (ruido multiplicativo). En la mayoría de los casos de microscopía se suele tomar ruido aditivo, salvo en autorradiografía

.....

**“Al igual que en comunicaciones, también se considera ruido en imágenes a cualquier señal interferente con respecto a la señal de interés. Éste es el caso de la microscopía electrónica de partículas individuales”**

.....

do es que en una misma micrografía se ve la estructura de la proteína en la que estamos interesados así como la estructura del hielo que lo rodea (ver Figura 3). De este modo, el hielo actúa de ruido frente a la señal de interés (la proteína). Las imágenes de microscopía electrónica pueden tener una relación de señal a ruido por debajo de 1/3 (es decir, tener 3 veces más

donde el nivel de ruido es obvio que depende de la cantidad de materia radiactiva acumulada. A partir de este momento nos centraremos en el ruido aditivo.

## Eliminación del ruido

Las dos técnicas más clásicas y más conocidas por los ingenieros

de telecomunicación para la eliminación de ruido son el promediado y el filtrado en el espacio de Fourier. El promediado consiste en observar el mismo objeto varias veces, en cada una de las observaciones tendremos una componente constante (nuestra señal) y una componente aleatoria (el ruido). Si calculamos la media de las observaciones, y asumiendo que el ruido tiene media nula, cuanto más promediamos, más nos acercaremos a la señal y menos ruido tendremos puesto que los valores de ruido se irán cancelando unos con otros hasta alcanzar su media (este resultado intuitivo no es para nada obvio matemáticamente y es debido a la ley de los grandes números demostrada por Jacob Bernouilli en 1713 y Siméon Poisson en 1835; la demostración de este teorema le llevó unos 20 años a Bernouilli).

El filtrado en el espacio de Fourier sigue una aproximación diferente: si descomponemos nuestra señal como suma de senos y cosenos, es posible que sepamos que la señal de interés utiliza preferentemente unas frecuencias frente a otras. El ruido blanco, por el contrario, las utiliza todas. Los filtros en el espacio de Fourier eliminan todos aquellos sumandos de la expansión en serie de la señal que utilizan frecuencias que sabemos que no provienen de nuestra señal y que, por tanto, deben provenir del ruido. Como bien saben los ingenieros, hay todo un arte en cómo diseñar los filtros para que sean computacionalmente eficientes y no modifiquen sustancialmente las fases de los coeficientes que pasan por el filtro (recordemos que en imágenes la mayor parte de la información se encuentra en las fases). Es importante destacar un concepto importante de la elimi-

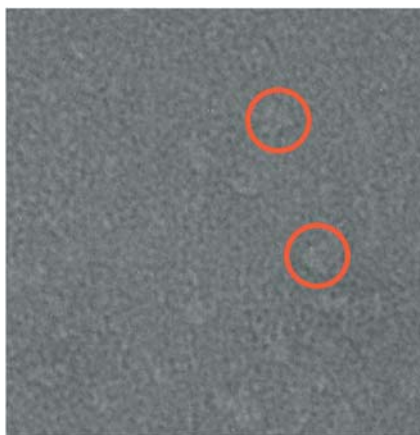


Fig.3. Ejemplo de micrografía electrónica en la que se han marcado dos proteínas. Obsérvese el bajo contraste y el alto nivel de ruido.

nación del ruido por filtrado en el espacio de Fourier: la respuesta que buscamos es una señal que se parece mucho a la señal que hemos observado (matemática-

suponer que se trata de ruido blanco gaussiano (ésta es la base por ejemplo, de la eliminación de ruido mediante promediado). Sin embargo, podemos saber más sobre el ruido y podemos informar a nuestro algoritmo sobre la no gaussianidad del mismo (teniendo entonces algoritmos de máxima verosimilitud, *maximum likelihood*), que es gaussiano pero está correlado y sabemos su estructura de correlación (filtro de Wiener, 1949), que sabemos que es gaussiano y está correlado pero no sabemos su estructura de correlación (filtro de Kalman, 1960), o en el caso más general, que sabemos la familia de distribuciones a la que pertenece (el caso más habitual hoy día es suponer una mixtura de gaussianas) pero que no sabemos cuáles son los parámetros

### “Las técnicas modernas de eliminación de ruido hacen uso de herramientas matemáticas mucho más potentes”

mente se parece en el sentido de minimizar la norma de la diferencia) y que es compatible con información *a priori* (en particular, que sólo utiliza unas frecuencias del espacio de Fourier). Esto es lo que se conoce como eliminación de ruido por medio de *priors*.

Sin embargo, no son estas dos técnicas las que mejores resultados están dando ahora mismo para la eliminación de ruido. Las técnicas modernas de eliminación de ruido hacen uso de herramientas matemáticas mucho más potentes.

**Priors estadísticos sobre la distribución del ruido:** La asunción más sencilla sobre el ruido es

de esta mixtura ni su estructura de correlación (filtros de partículas, 2000). Hay otros trabajos que maximizan la verosimilitud de la imagen de salida utilizando la distribución estadística de los coeficientes en un espacio transformado (el más habitual es el espacio de ondículas (*wavelets*) y la distribución conjunta de los coeficientes a diferentes escalas).

**Priors de suavidad:** Una observación importante es que nuestra señal varía lentamente a lo largo del espacio (como es el caso habitual de muchas imágenes en las que el valor de un píxel se parece mucho al valor de los píxeles adyacentes). A lo largo del tiempo



se han propuesto una serie de técnicas que tratan de formalizar matemáticamente este concepto de suavidad. Por ejemplo, una forma de expresarlo es pedir que la energía de nuestra señal filtrada sea mínima (este prior lo que dice es que si hay dos señales filtradas que son igualmente compatibles, en el sentido , con nuestra observación, la que tiene menos energía es la más plausible, puesto que la

sar también de forma matricial, normalmente imponiendo que la norma del laplaciano discreto de nuestra señal filtrada sea pequeño (cómo se elige esta norma es también un campo muy activo de investigación y una de las técnicas más modernas utiliza los estimadores  $M$  de estadística robusta, 1990), o de forma continua, pidiendo que la norma del gradiente de nuestra señal filtrada sea

imágenes características de la aplicación. En este caso se necesitarán aún menos coeficientes para expresar la imagen, aumentando la capacidad de filtrar el ruido. Esto es lo que se conoce como técnicas dispersas (*sparse*).

**Priors de repetición:** Una observación importante en imágenes es que hay zonas de la imagen que se encuentran repetidas en otras regiones lejanas de la imagen (por ejemplo, en la Figura 2, tenemos cielo a la derecha y a la izquierda de la cúpula, la señal subyacente en estas dos regiones de la imagen es similar aunque geoméricamente se encuentran muy distantes una de otra). Estos algoritmos tratan de identificar qué regiones están "repetidas" o son suficientemente similares, y a partir de ellas producen una "región" promedio. Son las técnicas de promediado no local. ♦

.....

**“En microscopía se utilizan las técnicas generales de eliminación de ruido que se emplean en procesamiento de imágenes teniendo cuidado en cada caso de introducir los priors correctamente y de utilizar la técnica que explote más eficientemente la información disponible en cada momento”**

.....

que tiene más energía es posiblemente porque todavía contiene algo de ruido). En este sentido se han diseñado también filtros de gaussiana que convolucionan la imagen con una gaussiana (o, en general, con cualquier otro kernel cuya transformada de Fourier sea la de un filtro paso bajo) de forma que un píxel a la salida sea una media ponderada de los píxeles cercanos; los filtros bilaterales adaptan el tamaño local de la gaussiana en cada dirección intentando no sobrepasar los bordes de los objetos en la imagen. Los filtros basados en estadísticos de orden (la mediana es el más conocido) son también muy utilizados y en ellos subyace la idea de que la imagen es suave en un entorno local (el filtro de mediana sustituye el píxel central de una pequeña ventana por la mediana de los valores en la propia ventana). El prior de suavidad se puede expresar

pequeña, es lo que se conoce como variación total y difusión anisotrópica. Como vemos, la versión continua de este prior es mucho más moderna que la versión discreta y se ha derivado de trabajos recientes sobre la aplicación de técnicas de geometría diferencial al procesado de imágenes.

**Priors de dispersión:** Otros priors relativamente modernos son el hecho de que si expresamos nuestra señal en el espacio adecuado, ésta utilizará menos coeficientes que el ruido (ésta es la base del filtrado de Fourier). Uno de los primeros espacios explorados en este sentido fue el de las wavelets con diferentes algoritmos de umbralización. Aún más moderno es el hecho de utilizar espacios (y bases) no ya genéricos, como podría ser la base de senos y cosenos, sino espacios "adaptados" (en un cierto sentido) al conjunto de

## Resumen

En general, en microscopía se utilizan las técnicas generales de eliminación de ruido que se emplean en procesamiento de imágenes teniendo cuidado en cada caso de introducir los priors correctamente y de utilizar la técnica que explote más eficientemente la información disponible en cada momento. Aquellos lectores interesados en las técnicas de eliminación de ruido pueden ampliar esta información en la revisión de Buades en al año 2005.

### Bibliografía

- Buades, A.; Coll, B. & Morel, J. M. *A review of image denoising algorithms, with a new one*. SIAM Multiscale Modelling and Simulation, 2005, 4, 490-530
- Cohen, L. *The history of noise*. IEEE Signal Processing Magazine, 2005, 22, 20-45