

Segmentación de Fetos de Rata Wistar: Primeros Pasos hacia la Automatización de Mediciones en un Modelo Experimental de Diabetes Mellitus

Freire-Gómez Cindy ^{1,2}[0000-0001-9680-6428], Navarro Pablo ^{1,2,3}[0000-0003-2180-449], Gómez Tahiry ⁴[0000-0002-3465-5959], Trujillo-Jiménez Magda Alexandra ^{1,2}[0000-0001-5506-3496], Santana Ivan ⁵[0000-0001-5089-520], Morales Arturo Leonardo ^{1,2,3}[0000-0002-3980-8862], Padron Herrera S⁴, Delrieux Claudio ¹[0000-0002-2727-8374], Bequer Leticia ⁴[0000-0002-5712-6718]

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica y de Computadoras, UNS, Bahía Blanca, Argentina. <http://www.diec.uns.edu.ar>

² Instituto Patagónico de Ciencias Sociales y Humana (IPCSH), CONICET-CENPAT, Puerto Madryn, Argentina. <https://cenpat.conicet.gov.ar/ipcsh/>

³ Departamento de Informática Trelew (DIT), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Trelew, Argentina. <https://www.ing.unp.edu.ar/dpto-informatica>

⁴ Unidad de Investigaciones Biomédicas (UNIB), Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba. <https://instituciones.sld.cu/ucmvc/>

⁵ Facultad de Ingeniería, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Villa Clara, Cuba. <https://www.uclv.edu.cu/>

Abstract. El presente estudio presenta resultados preliminares de la segmentación de fetos de rata como el primer paso hacia la automatización de mediciones en un modelo experimental de diabetes mellitus (DM) mediante análisis digital de imágenes. Utilizando un modelo experimental de DM en ratas Wistar con hiperglucemias moderadas complicadas con gestación, se construyó una base de datos que contiene imágenes de fetos descendientes de madres diabéticas y sanas, junto con información metabólico-morfológica asociada. Se desarrolló un protocolo propio y se utilizó el software *ImageJ* para obtener mediciones fetales a partir de las imágenes de la base de datos. La segmentación de las imágenes fetales se llevó a cabo utilizando el algoritmo de aprendizaje no supervisado *K-Means* y el modelo de aprendizaje supervisado *SAM*. La aplicación de estos métodos representa un avance significativo en la capacidad de analizar la forma fetal y constituyen el primer paso hacia la automatización de mediciones en estudios relacionados con la interacción diabetes-gestación. Este trabajo forma parte del proyecto “Herramientas computacionales validadas en un modelo de DM para la optimización de estudios fetales experimentales”, el cual implica la colaboración de cinco instituciones interdisciplinarias de Cuba y Argentina.

Keywords: Diabetes Mellitus, Procesamiento Digital de Imágenes, Segmentación

1 Introducción

La diabetes mellitus (DM) pre-gestacional o gestacional, representa una de las condiciones médicas que con mayor frecuencia complica el embarazo. Esta enfermedad modifica el ambiente intrauterino, provocando alteraciones en el crecimiento y malformaciones congénitas. Debido a los desafíos éticos de la investigación en humanos, los modelos animales de diabetes y gestación constituyen una herramienta indispensable para evaluar las consecuencias de la DM pre-gestacional y gestacional sobre la descendencia, estudiar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad y desarrollar estrategias terapéuticas [1,2].

En la Unidad de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (UNIB UCM-VC) se ha estado implementando un modelo experimental de DM con hiperglucemias moderadas complicada con gestación. La enfermedad se desencadena mediante la inducción neonatal con estreptozotocina en ratas Wistar y ha permitido estudiar la interacción diabetes-gestación en la rata gestada y la descendencia [2,3]. Sin embargo, durante el desarrollo de estos estudios se han identificado varias limitaciones, entre las que destacan el uso de técnicas poco eficientes, la necesidad de personal especializado y la alta inversión del tiempo en tareas de alta especificidad. Además, hasta la fecha no se han encontrado estudios que empleen técnicas novedosas de procesamiento de imágenes y visión por computadora para optimizar los análisis de morfometría externa fetal en la descendencia de ratas Wistar. Debido a esto y en concordancia con el Principio de las Tres R en la experimentación animal (Refinamiento, Reducción y Reemplazo), se planteó el objetivo de automatizar las mediciones fetales en un modelo experimental de diabetes mellitus mediante el análisis digital de imágenes. En este trabajo, se exponen los resultados preliminares alcanzados hasta la fecha, así como las perspectivas futuras que guiarán esta línea de investigación.

2 Metodología

2.1 Base de datos

La DM se indujo por inyección subcutánea neonatal de estreptozotocina (100 mg/Kg-peso-corporal) en ratas Wistar hembras. En la adultez las ratas diabéticas y controles se aparearon, obteniendo un modelo experimental de DM en ratas Wistar con hiperglucemias moderadas complicada con gestación. Al término de la gestación (día 20) se practicó la cesárea y se extrajeron los fetos.

Posteriormente, se conformó una base de datos con imágenes de 193 fetos de 20 días de gestación, sanos y con alteraciones, en cuatro posiciones (dorsal, ventral, lateral izquierdo y lateral derecho), divididas en dos grupos de estudios: uno con descendientes de ratas Wistar sanas y otro con descendientes de diabéticas (Fig. 1.). Estas imágenes fueron obtenidas mediante técnicas de fotografía profesional y se seleccionaron cuidadosamente para garantizar una calidad óptima y una representación diversa de la población de estudio. Se utilizó un protocolo elaborado por los propios autores para desarrollar la toma de mediciones en imágenes de fetos utilizando el software *ImageJ* (Fig. 1.) [4]. Estas mediciones permitieron incrementar la base de datos existente compuesta por información metabólica y morfológica asociada a la rata madre y la descendencia.

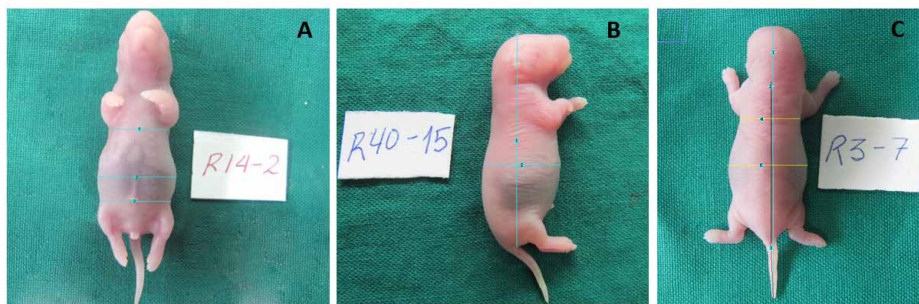


Fig. 1. Posiciones y mediciones fetales utilizando *ImageJ*. A. Vista Ventral: Diámetro transverso del tórax, abdomen y pelvis. B. Vista lateral derecha: Diámetro craneo caudal y abdominal antero-posterior derecho. C. Vista dorsal: Talla total, diámetros del tronco, cola, tórax y abdomen. Imágenes pertenecientes a la base de datos tomadas por los autores con cámara Canon PowerShot G11 (Japón).

2.2 Métodos

Como primer paso hacia la automatización de las mediciones fetales, se evaluaron diversas técnicas de segmentación, proceso necesario para identificar la ubicación del feto y la región que se desea medir. En primer lugar, se aplicó el algoritmo de aprendizaje no supervisado *K-Means* a las fotografías de la base de datos para obtener una silueta aproximada de la forma fetal. En este caso, el algoritmo opera utilizando los valores RGB de cada píxel e intenta agruparlos en función de su color para distinguir entre el fondo y el feto (Fig. 2 A.). Este proceso permite generar una máscara que facilitará las mediciones futuras del feto.

En segundo lugar se utilizó un modelo de aprendizaje supervisado denominado SAM (*Segment Anything Model*) [5], desarrollado por el laboratorio Meta IA y basado en inteligencia artificial. Este modelo ha sido entrenado con más de mil millones de imágenes etiquetadas. El mismo permite a través de “píxeles semilla” (es decir, píxeles ejemplos), obtener una máscara que representa la región de interés, en este caso, la silueta del feto. Posteriormente, separa esta región del fondo de la imagen, obteniendo una representación precisa de la forma fetal (Fig. 2 B.).

3 Resultados y discusión

Se obtuvieron imágenes segmentadas de alta calidad utilizando dos enfoques de segmentación diferentes (Fig. 2). Si bien el método clásico K-Means demostró eficacia para separar adecuadamente el feto del fondo en imágenes recortadas manualmente, mostró dificultades para discriminar entre otros elementos presentes en la imagen original, tales como los carteles de identificación. Considerando estos desafíos y para evitar el recorte manual con su error asociado, se decidió acudir a métodos de segmentación más avanzados.

Se eligió el modelo de aprendizaje supervisado SAM debido a sus ventajas respecto a otros métodos de segmentación [5, 6, 7]. Este modelo se entrenó con 1.100 millones de máscaras de segmentación de aproximadamente 11 millones de imágenes, utilizando un "motor de datos" en bucle inverso. Entre sus principales ventajas se encuentra su capacidad para trabajar con *prompts* de entrada, permitiendo especificar qué segmentar en una imagen sin necesidad de entrenamiento adicional. Además, SAM presenta un diseño eficiente, que incluye un codificador de imagen único y un decodificador de máscara ligero. Esto permite que se ejecute en un navegador web de forma rápida y eficiente. La efectividad de este modelo ha sido comprobada en investigaciones anteriores desarrolladas tanto por nuestro equipo de investigación como en múltiples aplicaciones de segmentación [5, 6, 7, 8]. En el presente trabajo, SAM logró una segmentación precisa en todas las imágenes originales (Fig. 2 B.).

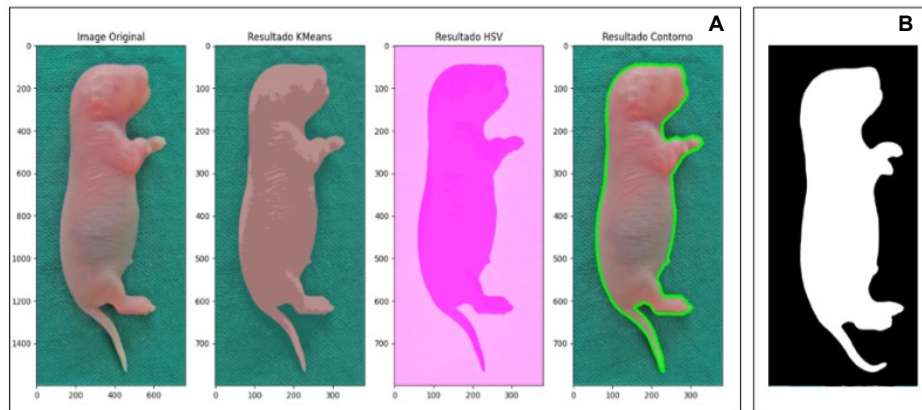


Fig. 2. Técnicas de segmentación aplicadas a las imágenes de fetos (vista lateral derecha). A. Algoritmo de aprendizaje no supervisado K-Means. B. Modelo de aprendizaje supervisado SAM.

Aunque existen trabajos previos donde se utilizan técnicas de segmentación en fetos humanos [8] y de ratas [9], hasta la fecha no se han encontrado estudios que empleen técnicas novedosas de procesamiento de imágenes y visión por computadora para optimizar los estudios de morfometría externa fetal en la descendencia de ratas Wistar. Usualmente, estos estudios se realizan con calibre o pie de rey sobre el feto *in situ*. Por tanto, la metodología que se propone resultaría innovadora en este contexto y permitiría optimizar no solo los estudios en la descendencia de modelos experimentales de diabetes mellitus, sino también en investigaciones de teratogénesis y toxicología reproductiva.

3.1 Trabajo a futuro

Además de los resultados mencionados, se ha iniciado el procedimiento de colocación de *Landmarks* en cada imagen utilizando el software *ImageJ*. Este paso permitirá integrar posteriormente técnicas de procesamiento digital de imágenes, inteligencia artificial, morfometría tradicional y geométrica para automatizar el análisis de la forma corporal, aportando eficiencia y precisión en el proceso. Se podrán comparar las mediciones automatizadas con las mediciones obtenidas a partir del software *ImageJ*. Asimismo, se podrán extraer otras características de la forma corporal fetal y compararlas entre los dos grupos de estudio, así como con los datos metabólicos-morfológicos asociados e identificar posibles diferencias o patrones.

Este estudio interdisciplinario representa un primer paso para optimizar el desarrollo de estudios en la descendencia, sobre todo aquellos relacionados con la interacción diabetes-gestación. Los resultados obtenidos pudieran aumentar el conocimiento sobre las consecuencias del embarazo diabético para la descendencia y sobre los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a esta enfermedad, que representa uno de los problemas de salud más prominentes a nivel mundial, con importantes repercusiones económicas y sociales.

Agradecimientos. Los resultados mostrados forman parte del proyecto “Herramientas computacionales validadas en un modelo de diabetes para la optimización de estudios fetales experimentales”. El mismo contempla los esfuerzos colaborativos de cinco instituciones interdisciplinarias de Cuba (UNIB, UCM-VC, UCLV y ICBP) y Argentina (GIBEH, IPCSH CONICET-CENPAT y LCI).

Declaración de Intereses. Los autores no tienen conflicto de intereses para declarar que sean relevantes para el contenido de este artículo.

Referencias

1. Damasceno DC, Kempinas W, Volpato G, Consoni M, Rudge M, Paumgartten F.: Anomalías congénitas: estudios experimentais. Belo Horizonte: Coopmed (2008)

2. Gómez, T., García, M., Bequer, L., Freire, C., Vila, M. A., & Clapés, S.: Malformaciones esqueléticas y alteraciones del crecimiento en fetos de ratas con diabetes moderada. *Biomédica* **41**(3), 493–503. (2021).
3. Bequer, L., Fuentes, E., Freyre, C., Molina, J. L., Álvarez, A., & Gómez, T.: Embriopatía diabética y trastornos en el desarrollo reproductivo materno en ratas con diabetes pregestacional. *Ginecología y obstetricia de México* **91**(1), 21-31. (2023)
4. Freire-Gómez, C., Gómez, T., García, M., Molina, J. L. & Bequer, L.: Guía para la evaluación de morfometría fetal en modelos experimentales mediante análisis digital de imágenes. *MORFOVIRTUAL 2022*. (2022).
5. Kirillov, A., Mintun, E., Ravi, N., Mao, H., Rolland, C., Gustafson, L., ... & Girshick, R.: Segment anything. In: *Proceedings of the IEEE/CVF International Conference on Computer Vision*, pp. 4015-4026. (2023).
6. Zhang, J., Ma, K., Kapse, S., Saltz, J., Vakalopoulou, M., Prasanna, P., & Samaras, D.: Sam-path: A segment anything model for semantic segmentation in digital pathology. In *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. Cham: Springer Nature Switzerland, 161-170. (2023).
7. Wang, Y., Zhao, Y., & Petzold, L.: An empirical study on the robustness of the segment anything model (SAM). *Pattern Recognition*, 110685. (2024).
8. Alzubaidi, M., Shah, U., Agus, M., & Househ, M. (2024). FetSAM: Advanced Segmentation Techniques for Fetal Head Biometrics in Ultrasound Imagery. *IEEE Open Journal of Engineering in Medicine and Biolog* **5**, 281-295. (2024).
9. Markel, M., Ginzl, M., Peukert, N., Schneider, H., Haak, R., Mayer, S., ... & Gosemann, J. H.: High resolution three-dimensional imaging and measurement of lung, heart, liver, and diaphragmatic development in the fetal rat based on micro-computed tomography (micro-CT). *Journal of Anatomy* **238**(4), 1042-1054. (2021).