

Universidad de Morelos
Facultad de Ingeniería y Tecnología

DESARROLLO DE UN SOFTWARE DE RECONOCIMIENTO Y CONTEO DE MICRONUCLEOS
BASADO EN PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

Proyecto de investigación presentado en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de Licenciatura en
Ingeniería en Sistemas Computacionales

Por
Héctor Témich Escobedo
Abril de 2015

CONSTANCIA DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS DE REPRODUCCIÓN

El abajo firmante, AUTOR del informe de investigación titulado Desarrollo de un software de reconocimiento y conteo de micronúcleos basado en procesamiento de imágenes por intermedio de la presente, DA FE de la autoría y originalidad de la obra mencionada que se presenta ante la Facultad de Ingeniería y Tecnología para ser evaluada con el fin de obtener el Grado Académico de Licenciada/o en Ingeniería de Sistemas Computacionales.

Asimismo, dejo expresada mi conformidad de ceder los derechos de reproducción y circulación de esta obra, en forma NO EXCLUSIVA, a la Facultad de Ingeniería y Tecnología de la Universidad de Morelos. Dicha reproducción y circulación se podrá realizar, en una o varias veces, en cualquier soporte, para todo el mundo, con fines sociales, educativos y científicos.

Entiendo que dicha cesión no entraña obligación alguna para la Facultad de Ingeniería y Tecnología, que podrá o no ejercitar los derechos cedidos.

Se firma la presente en la ciudad de Morelos Nuevo León, a los 17 días del mes de Abril del 2015.

Firma: Héctor Temich Escobedo

CURP: TEEH930204HNLMSC05

DESARROLLO DE UN SOFTWARE DE RECONOCIMIENTO Y CONTEO DE
MICRONÚCLEOS BASADO EN PROCESAMIENTO DE IMÁGENES


Informe de investigación

Presentada en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de licenciatura en
Ingeniería en Sistemas Computacionales

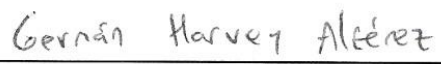
Por

Héctor Témich Escobedo

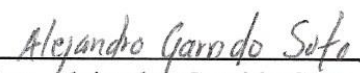
APROBADA POR LA COMISIÓN




M.C. Gerardo Salvador Romo Cárdenas
Asesor principal



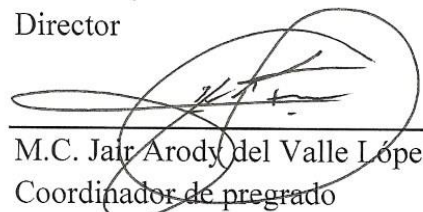
Dr. Germán Harvey Alférez Salinas
Evaluador



Ing. Alejandro Garrido Soto
Evaluador



M.C. Alejandro Walterio García Mendoza
Director



M.C. Jair Arody del Valle López
Coordinador de pregrado

Fecha de aprobación

Dedicatoria

A Dios, padres y maestros.

DECLARACIÓN DE INTEGRACIÓN DE LA FE

Ser una profesional de éxito, capaz de aportar a mi familia, a mis amigos y al país de una manera innovadora, poniendo en práctica mis valores y mis creencias. Crecer y aprender de la vida día a día, para ser ejemplo de generaciones futuras. Ser una persona responsable socialmente, contribuyendo al desarrollo de las personas que lo necesiten continuamente, siempre guiado de la mano de Dios.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
DECLARACION DE INTEGRACION DE LA FE	iv

Tabla de contenido

I. Introduccion	7
A. Técnica de micronúcleos	7
B. Análisis computacional de micronúcleos	8
C. Técnicas de procesamiento de imágenes.	8
II. Declaracion del problema.....	9
III. Justificación.....	9
IV. Objetivos.....	9
V. Preguntas	9
VI. Hipotesis	9
VII. Metodologia.....	9
A. Teorema de la Convulación (frecuencia):	9
VIII. Resultados.....	10
IX. conclusión	11
X. Trabajo futuro	11
XI. Referencias	12
XII.Codigo.....	13
XIII. resultados en imagenes	15

Desarrollo de un software de reconocimiento y conteo de micronúcleos basado en procesamiento de imágenes

Héctor Témich Escobedo

Facultad de ingeniería Universidad de Morelos
Morelos, Nuevo León, México
hctortemichescobedo@gmail.com

Gerardo Romo Cárdenas

Facultad de ingeniería Universidad de Morelos
Morelos, Nuevo León, México
gromo@um.edu.mx

Abstract— Se sabe que durante la división celular el material genético (ADN) contenido en el núcleo de la célula se replica y se divide uniformemente dando lugar a dos células hijas idénticas, proceso llamado mitosis; Este proceso se puede reproducir incorrectamente debido a errores durante la replicación y a su posterior división del ADN. El cromosoma sufre ruptura ya sea por el efecto de las radiaciones o sustancias genotóxicas, produciendo la pérdida del mismo y como resultado una distribución de material genético no equitativa.

Un micronúcleo (MN) se considera una aberración genética ya que se produce cuando hay pérdida total o parcial de la cromátida (brazos) que conforma el cromosoma, originando un nuevo núcleo de tamaño más pequeño que el primario, visible bajo el microscopio óptico [1].

Esto ocurre durante la anafase dando como resultado fragmentos cromosómicos acéntricos.

La medición de micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica y epitelio bucal es usada frecuentemente en el campo de epidemiología molecular como uno de los métodos preferidos para evaluar el daño genético resultado de exposiciones mutagénicas al ambiente; dando como resultado enfermedades degenerativas, malformaciones, respiratorias, etc.

El conteo de micronúcleos no es la única forma pero si la más aceptada para realizar este diagnóstico, sin embargo, una de las desventajas de éste test es la complejidad técnica del proceso, que puede llegar a ser muy laborioso pudiendo tener probables errores, ya que se necesitan tener una muestra de calidad para lectura de 200 células binucleadas por paciente, esta muestra es sometida a conteo visual por parte del técnico abarcando gran cantidad de tiempo[1]. Esto siendo muestra por paciente; suponiendo que se tenga un muestreo de más de 50 muestras de pacientes, el periodo de recolección así como el de análisis puede crecer de manera exponencial de días a meses.

Se tiene la intención de aplicar técnicas de procesamiento de imágenes como una herramienta alternativa de evaluación en el conteo de micronúcleos (MN), esta generara resultados de una manera más rápida, innovadora, sencilla, eficiente y confiable, para las personas encargadas en realizar el conteo.

Se espera desarrollar un software que realizara el análisis de imágenes con los criterios de inclusión, exclusión y eliminación determinados por el personal del área.

Esto para facilitar el análisis del mismo.

I. INTRODUCCION

La medición de micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica [2] y epitelio bucal [3] es usada frecuentemente en el campo de epidemiología molecular como uno de los métodos preferidos para evaluar el daño genético resultado de exposiciones mutagénicas al ambiente.

Una de las desventajas de éste test es la complejidad técnica del proceso, ya que se necesitan leer 200 células binucleadas por paciente, algunas veces abarcando lecturas de hasta 5 o 6 muestras, invirtiendo 6 a 8 horas del técnico por muestra para su evaluación. [1].

Desde el final de la década de los 90's se han propuesto técnicas de procesamiento de imágenes como una alternativa a la evaluación de MN que genera resultados de una manera más rápida [4-6], no obstante existen diferentes opiniones, entre los expertos, sobre la sensibilidad y especificidad de la aproximación por procesamiento de imágenes.

En éste proyecto se busca explorar la generación de un software que utilice el procesamiento de imágenes para la evaluación de micronúcleos ya sea en sangre periférica o epitelio bucal y compararlo con la sensibilidad y especificidad de un técnico certificado en éstas lecturas.

A. Técnica de micronúcleos

Durante la división celular, el material genético contenido en el núcleo celular, se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas; este proceso puede producirse de manera errónea debido a alteraciones durante la replicación y posterior división del ADN, a roturas cromosómicas y al efecto de radiación y de sustancias genotóxicas, produciéndose

perdida cromosómica y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo. [7]

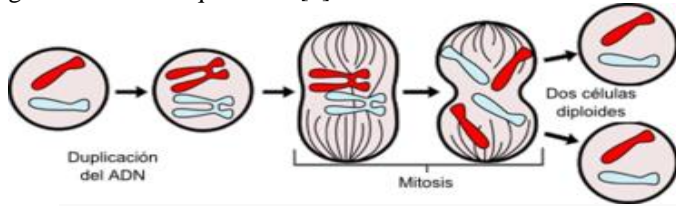


Fig.1. Esquema que muestra de manera resumida lo que ocurre durante la mitosis[8].

Al ocurrir esto, el material genético que se desprende y, por tanto, queda excluido y no se incorpora correctamente al núcleo de la célula hija, originando un nuevo núcleo de menor tamaño que el primero denominado micronúcleo (MN), visible fácilmente al microscopio óptico, el cual se originan de fragmentos cromosómicos acéntricos o cromosomas enteros que han quedado rezagados en la anafase durante la división nuclear. [7]

Entre las definiciones planteadas, los micronúcleos son masas de cromatina que tienen un aspecto similar al del núcleo principal y se ven como pequeños núcleos en el citoplasma de las células interfásicas que es la etapa previa a la mitosis donde la célula se prepara para dividirse. Se describe como un núcleo más pequeño, comparado con el presente normalmente la célula, fácilmente identificable por microscopía de luz luego de la obtención de la muestra respectiva, previa preparación y tinción del frotis, haciendo posible evidenciar el número de micronúcleos presentes en los eritrocitos y policromáticos. [7] A nivel molecular es generada una perturbación expresada a través de los micronúcleos, que se forman por condensación de fragmentos cromosomales o cromosomas enteros que no fueron incorporados en el núcleo hijo durante la mitosis (anafase), debido tanto a rupturas como a mala segregación cromosómica. De tal forma que pueden observarse en el citoplasma separados del núcleo principal. [9]

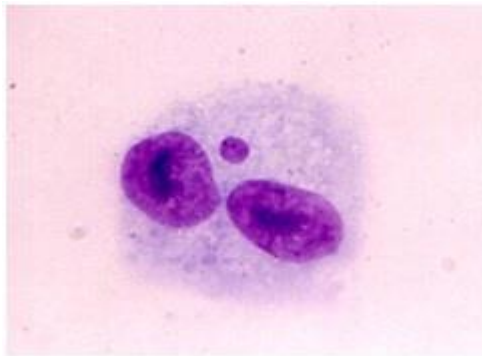


Fig.2. Célula con presencia de micronúcleo[10].

Varios factores podrían ocasionar esta perturbación, así por ejemplo, la exposición a residuos contaminantes, como, pesticidas, con conocidas propiedades genotóxicas y clastogénicas lo cual genera respuestas a distintos niveles en los organismos vivos. [11]

1) En la anafase, una cromátida céntrica y fragmentos cromosomales rezagados con retraso cuando los elementos

céntricos van hacia los polos del huso. Los micronúcleos se presentan de fragmentos cromosomales o cromosomas acéntricos que no son incorporados en el núcleo hijo en la mitosis porque carecen de centrómero.

2) Los elementos rezagados pueden ser incluidos en el núcleo de las células hijas, pero una proporción de una o varios núcleos secundarios los cuales son mucho más pequeños que los núcleos principales (1/5 o 1/20), y son por lo tanto llamados micronúcleos. Los cuales no pueden ser observados hasta después del primer ciclo celular.

Por otra parte los MN pueden formarse de fragmentos acéntricos y por cromosomas enteros que derivan de fragmentos acéntricos se forman por ruptura directa del ADN, replicación del ADN dañado e inhibición de la síntesis de ADN, en tanto que, los que se originan de cromosomas enteros se forman por alteraciones del huso mitótico, del cinetocoro, daño en las subestructuras del cromosoma u otras partes del huso mitótico y alteraciones en la fisiología celular. [12]

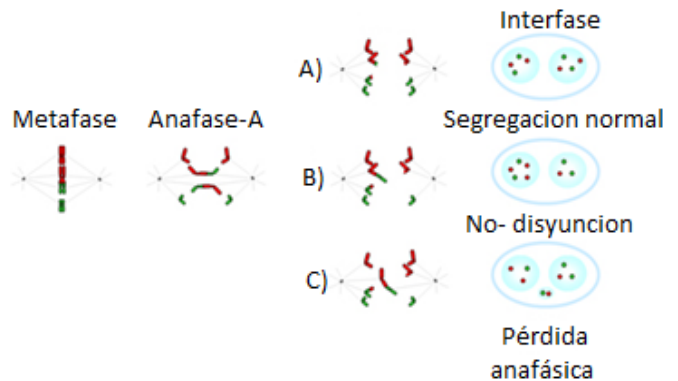


Fig.3. Posibles errores de segregación de los cromosomas dicéntricos durante la mitosis provocando pérdida anafásica a la cual se le conoce como micronúcleos [13].

B. Análisis computacional de micronúcleos

Los micronúcleos (fig.2) pueden apreciarse como imágenes con formas y dimensiones específicas, por lo que puede ser factible identificarlos y cuantificarlos por métodos computacionales.

Algunos trabajos previos han utilizado algoritmos de segmentación que se basan en la biología matemática mezclándolo con métodos de reconocimiento de patrones que se basan en los principios de *desenfoque* de la lógica difusa. Tomando en cuenta que la otra técnica utilizada es identificar el contorno celular con el que pueden obtener las coordenadas de los contornos de una célula y así buscar la información que necesitan por medio de un procesamiento de imágenes para la obtención de un análisis más rápido en la búsqueda de micronúcleos.

C. Técnicas de procesamiento de imágenes.

El Procesamiento de imágenes tiene como objetivo mejorar el aspecto de las imágenes y hacer más evidentes en ellas ciertos detalles que se desean hacer notar. La imagen puede haber sido

generada de muchas maneras, por ejemplo, fotográficamente, o electrónicamente, por medio de monitores de televisión. El procesamiento de las imágenes se puede en general hacer por medio de métodos ópticos, o bien por medio de métodos digitales, en una computadora[14]. De los cuales nos podemos ayudar para la obtención de información de una imagen.

II. DECLARACION DEL PROBLEMA

Una de las desventajas de éste test es la complejidad técnica del proceso, ya que se necesitan leer 200 células binucleadas por paciente, algunas veces abarcando lecturas de hasta 5 o 6 muestras, invirtiendo 6 a 8 horas del técnico por muestra para su evaluación. Esto dando 48 horas en las que el técnico debe hacer el conteo. También debemos de tomar en cuenta que la vista de una persona promedio pierde su eficacia de conteo con precisión al cabo de 15 a 20 minutos asiendo que el resultado sea poco preciso y más largo.

III. JUSTIFICACIÓN

El proceso que se realiza en el conteo de micronúcleos (MN) llega a ser un proceso largo dada la complejidad del mismo.

IV. OBJETIVOS

Crear un proceso de adquisición de datos para la evaluación de daño genético para el conteo de micronúcleos de manera operativa estandarizada que sea funcional.

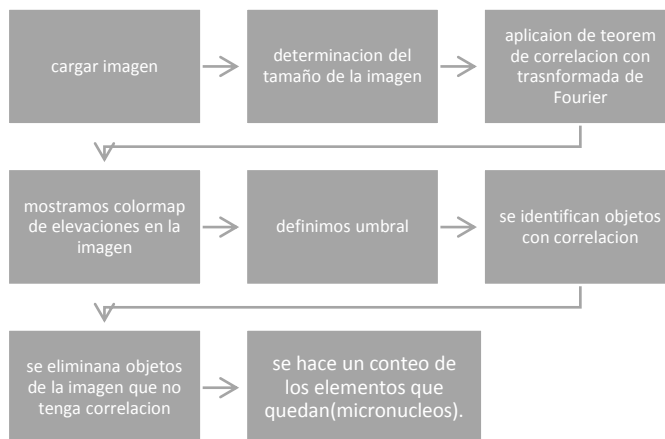
V. PREGUNTAS

- ¿Cómo desarrollar un software eficaz que atienda la necesidad de un conteo de micronúcleos de forma rápida?
- ¿Es posible realizar el conteo de micronúcleos en base a programas parecidos que reconozcas patrones?
- ¿El procesamiento de imágenes es lo más óptimo para realizar un conteo de micronúcleos?

VI. HIPOTESIS

Un conteo de micronúcleos por medio de adquisición y procesamiento de imágenes de manera estandarizada.

VII. METODOLOGIA



Se plantea que los micronúcleos son formas circulares, por lo que se puede proponer procesamiento de imágenes para analizarlo, para esto utilizamos el procesamiento digital de imágenes con el objetivo de mejorar la calidad o facilitar la búsqueda de información[15] que es necesaria para la identificación de los micronúcleos.

Para llegar al resultado esperado fue necesario hacer una correlación de los datos de un micronúcleos para buscarlo en la imagen utilizando ciertos filtros de frecuencia que procesan una imagen trabajando sobre el dominio de la frecuencia en la Transformada de Fourier de la imagen. Para ello, ésta se modifica siguiendo el Teorema de la Convulación correspondiente:

1. se aplica la Transformada de Fourier,
2. se multiplica posteriormente por la función del filtro que ha sido escogido,

Para concluir re-transformándola al dominio espacial empleando la Transformada Inversa de Fourier.

A. *Teorema de la Convulación (frecuencia):*

$F(u, v)$: transformada de Fourier de la imagen original.

$H(u, v)$: filtro atenuador de frecuencias.

Como la multiplicación en el espacio de Fourier es idéntica a la convolución en el dominio espacial, todos los filtros podrían, en teoría, ser implementados como un filtro espacial[16].

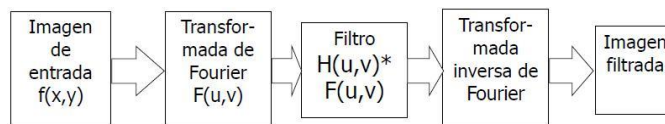


Fig.4. Etapas del filtrado de imágenes en el dominio de la frecuencia[17].

VIII. RESULTADOS

En el transcurso del desarrollo de este proyecto, se analizaron técnicas de procesamiento de imágenes para la identificación y conteo de micronúcleos (MN) utilizando Matlab como herramienta principal para su desarrollo. Además se estudiaron distintos tipos de reconocimiento de patrones y procesamientos de imágenes. El análisis de estas técnicas permitió establecer caminos sólidos en los cuales se realizaron un modelado correcto del software y la implementación correcta de los algoritmos necesarios para la obtención de los resultados más óptimos a nuestras necesidades.

En la forma que se construyó el proyecto hizo posible que obtuviera las siguientes características:

- Simplicidad del código debido a que el lenguaje de programación elegido (Matlab), puede resolver problemas muy complejos en pocas líneas de código y fáciles de entender, además de contar con una guía de ayuda muy completa.
- La arquitectura en que se construyó el software hace que sea fácil de comprender ya que no son muchas líneas de código y las cuales cuentan con comentarios precisos de su funcionalidad.
- Matlab es una herramienta robusta para el procesamiento de imágenes y cumple con todos los requerimientos para la realización del proyecto.
- Conteo e identificación aceptable de micronúcleos presentes en una imagen.

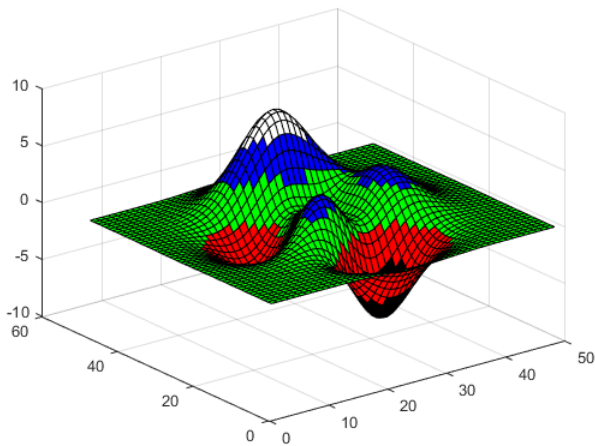


Fig.5. Mapa de colores para identificar superficies[18].

Se utilizó un mapa de colores para poder identificar las células y sus micronúcleos pudiendo observar la superficie de la imagen con mayor claridad.

Un mapa de colores es la matriz de valores entre 0 y 1 que definen los colores para gráficos de objetos como objetos de superficie, de imagen y de parche. Matlab dibuja los objetos mediante la asignación de valores de datos de colores en el mapa de colores.

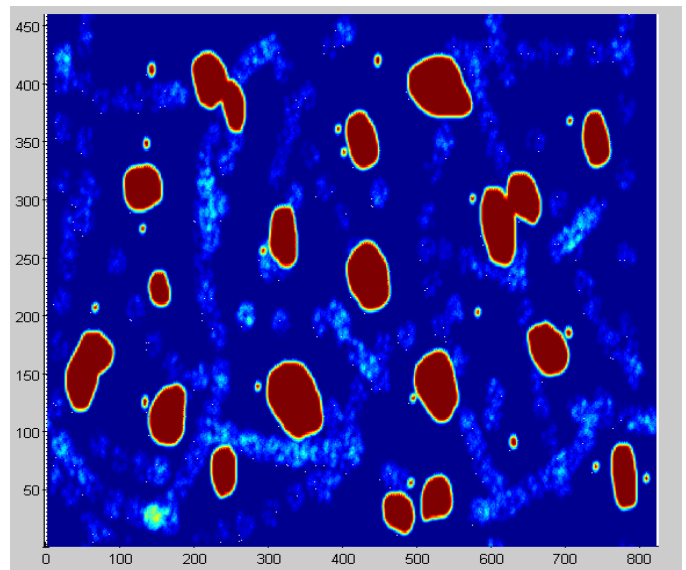


Fig.6. Mapa de colores de células con presencia de micronúcleos.

En la (fig.6) se puede observar un mapa de colores donde fácilmente se pueden observar algunas células y sus micronúcleos en los cuales al realizar una correlación aplicando a la transformada de Fourier, una herramienta de procesamiento de imagen importante que se utiliza para descomponer una imagen en sus componentes seno y coseno[19]. Y así buscar el máximo de correlación con una imagen logrando identificar y cuantificar los micronúcleos, obteniendo los datos de una forma muy rápida.

```
ans =  
  
    460    819  
  
ans =  
  
    39.0000  
  
CC =  
  
    Connectivity: 8  
    ImageSize: [460 819]  
    NumObjects: 18  
    PixelIdxList: {1x18 cell}
```

Fig.7. Consola de resultados de Matlab.

Se puede observar en la (fig.7) el número de objetos encontrados que son la cantidad de micronúcleos presentes en la (fig.6) encontrando de forma precisa el número de micronúcleos presentes en la imagen, a pesar del ruido que contiene.

IX. CONCLUSIÓN

A lo largo del transcurso de este proyecto se ha estudiado herramientas y técnicas de procesamiento de imágenes, desarrollo de interfaces, conocimiento de programación en Matlab, con ese propósito se realizó un programa para la identificación y conteo de micronúcleos (MN). Gracias a los grandes avances de la tecnología en las técnicas de procesamientos de imágenes, liberación de códigos open source y el aumento de investigación es este tipo de áreas permiten el desarrollo de proyectos como este.

La ayuda que Matlab ofrece en el procesamiento de imágenes son muchas. Con conocimiento medio de programación y apoyándose en la ayuda de Matlab que se encuentra en internet se pueden crear aplicaciones realmente poderosas con pocas líneas de programación esto gracias al lenguaje de Matlab que cuenta con librerías muy poderosas para la creación de software, dando como resultado la creación de una herramienta capaz de identificar y cuantificar micronúcleos con base a imágenes creadas tomando las características de muestras de imágenes de laminillas con presencia de micronúcleos dando un gran primer paso para la creación de un software más robusto para aplicarse en la técnica de micronúcleos.

Este proyecto ha sido para el autor un gran reto y una de las mejores experiencias en cuanto a desarrollo de software por el hecho de obtener como resultado un software de conteo de micronúcleos cumpliendo con los requerimientos establecidos.

Solo queda por esperar que este proyecto sea útil para aquellos que deseen utilizarlo como punto de partida para mejorar el software o considerarla como punto de partida para nuevos proyectos o para el uso de experimentación personal.

X. TRABAJO FUTURO

Este proyecto puede verse como primera fase de un proyecto más ambicioso que será complementado con varios trabajos futuros e investigaciones que complementen la presente. La finalidad de este proyecto es la creación del software que no solo detecte micronúcleos si no que al mismo tiempo identifique las células apoptóticas y binucleadas que también son parte de aberraciones genéticas. Evidentemente, a un falta mucho trabajo por realizar para poder llegar a un resultado óptimo, se puede empezar avanzando en algunos aspectos como los que se encuentran en la siguiente lista:

- Creación de GUI de Matlab
- Trabajar con muestras de micronúcleos en tiempo real
- Considerar más técnicas de procesamiento de imágenes
- Emplear algoritmos más complejos para obtener mejores resultados en futuras pruebas

XI. REFERENCIAS

- 1 Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., and Zeiger, E.: 'HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures', Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2003, 534, (1), pp. 65-75
- 2 Pavanello, S., Pesatori, A.-C., Dioni, L., Hoxha, M., Bollati, V., Siwinska, E., Mielzyńska, D., Bolognesi, C., Bertazzi, P.-A., and Baccarelli, A.: 'Shorter telomere length in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons', Carcinogenesis, 2010, 31, (2), pp. 216-221
- 3 Tolbert, P.E., Shy, C.M., and Allen, J.W.: 'Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development', Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 1992, 271, (1), pp. 69-77
- 4 Böcker, W., Müller, W.U., and Streffer, C.: 'Image processing algorithms for the automated micronucleus assay in binucleated human lymphocytes', Cytometry, 1995, 19, (4), pp. 283-294
- 5 Szirmai, S., Berces, J., and Köteles, G.: 'Computerized image analysis for determining micronucleus frequency', Environmental health perspectives, 1993, 101, (Suppl 3), pp. 57
- 6 Varga, D., Johannes, T., Jainta, S., Schuster, S., Schwarz-Boeger, U., Kiechle, M., Garcia, B.P., and Vogel, W.: 'An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis', Mutagenesis, 2004, 19, (5), pp. 391-397
- 7 López, L.P.C.: 'CUANTIFICACIÓN DE MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS DE SANGRE', Universidad Nacional de Colombia, 2011
- 8 Ortisa: 'Événements majeurs_de_la_Mitose_fr', in Editor (Ed.)^(Eds.): 'Book Événements_majeurs_de_la_Mitose_fr' (2010, edn.), pp.
- 9 Hallberg LM, B.W., Grady J, Legator MS, Au WW: 'Abnormal DNA repair activities in lymphocytes of workers exposed to 1,3-butadiene', Mutation research, 1997
- 10 Anonimo, in Editor (Ed.)^(Eds.): 'Book (edn.), pp.
- 11 Martínez-Valenzuela C, G.-A., S.: 'Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas.', Revista internacional de Contaminación ambiental 2007, pp. 185-200.
- 12 Albertini RJ, A.D., Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan: 'guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. ', International Programme on Chemical Safety. , 2000
- 13 Pampalona, J., in Editor (Ed.)^(Eds.): 'Book (2012, edn.), pp.
- 14 Moreno, M.R.Á.: 'Procesamiento y gestión digital de la información', Biblioteca Universitaria, 2006, 9, (2), pp. 8
- 15 González, R.C., Wintz, P.: ' Procesamiento digital de imágenes. Addison-Wesley.', 1996
- 16 Rafael C. González, R.E.W., Steven L. Eddins: 'Digital image processing using Matlab. González, Woods, & Eddins.', 2009
- 17 Alaens: ' Etapas del filtrado de imágenes en el dominio de la frecuencia', in Editor (Ed.)^(Eds.): 'Book Etapas del filtrado de imágenes en el dominio de la frecuencia' (2010, edn.), pp.
- 18 Matlab: 'Color map', in Editor (Ed.)^(Eds.): 'Book Color map' (2010, edn.), pp.
- 19 <http://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/fourier.htm>

XII. CODIGO

```
%Codigo para aplicacion de correlacion
% Hecho por Hector Temich y Gerardo Romo
% FIT UM, Nov 2014

clc
close all
clear all
clc

bw = not(im2bw (imread('MN6.png')));

size (bw)

a = bw(263:290,158:187);
a = bw(190:203,567:580);

x1x2 y1y1

imshow(bw);
figure, imshow(a);

C=real(iff2(fft2(bw).*fft2(rot90(a,2), 460,819)));
C=real(iff2(fft2(bw).*fft2(rot90(a,2), 460,819)));

%visualizar
figure, mesh(C)
colormap(jet)

max(C(:))
M = [460, 819]

thresh=38;
figure, imshow(C>thresh)

D=(C>thresh);
figure, imshow(D)
```

```
LB = 8;

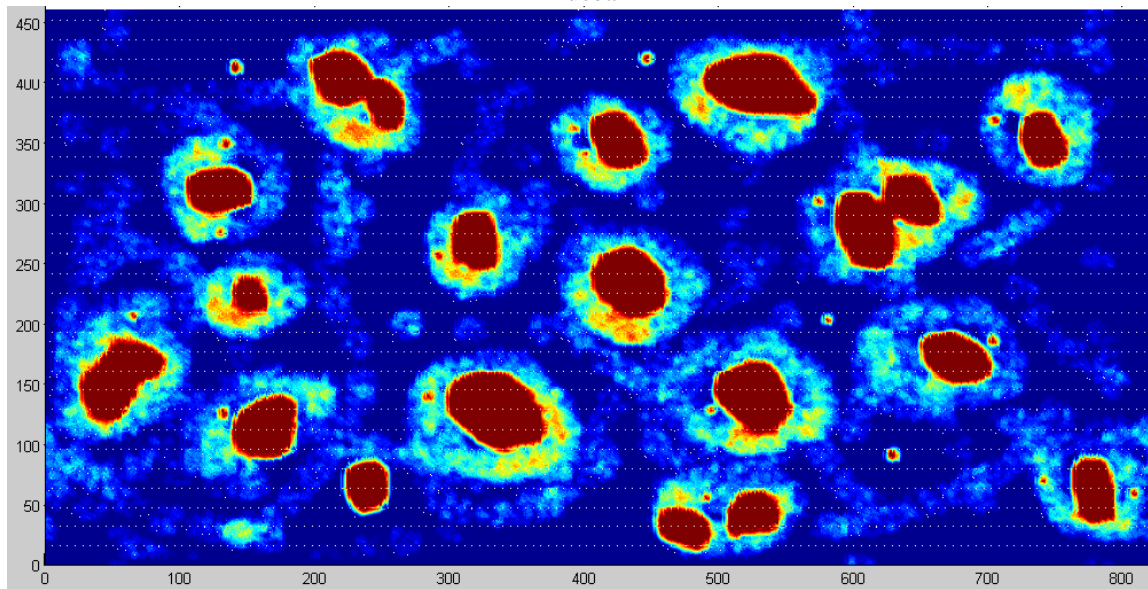
IL = bwlabel(D);
R = regionprops(D, 'Area');
ind = find([R.Area] <= LB);

Iout = ismember(IL, ind);
figure, imshow(Iout);

CC = bwconncomp(Iout)
```

XIII. RESULTADOS EN IMAGENES

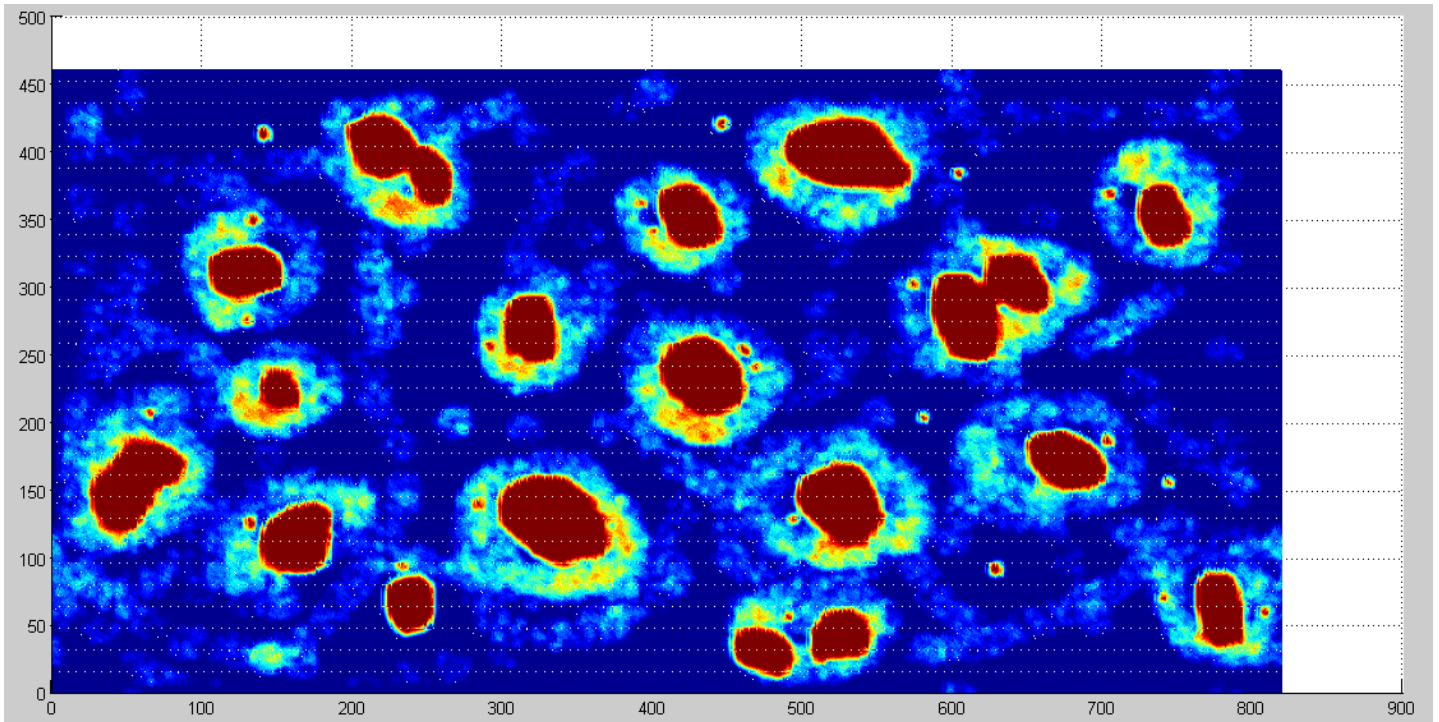
Prueba



Resultados

```
ans =  
  
    460    819  
  
ans =  
  
    39.0000  
  
CC =  
  
    Connectivity: 8  
    ImageSize: [460 819]  
    NumObjects: 19  
    PixelIdxList: {1x19 cell}
```

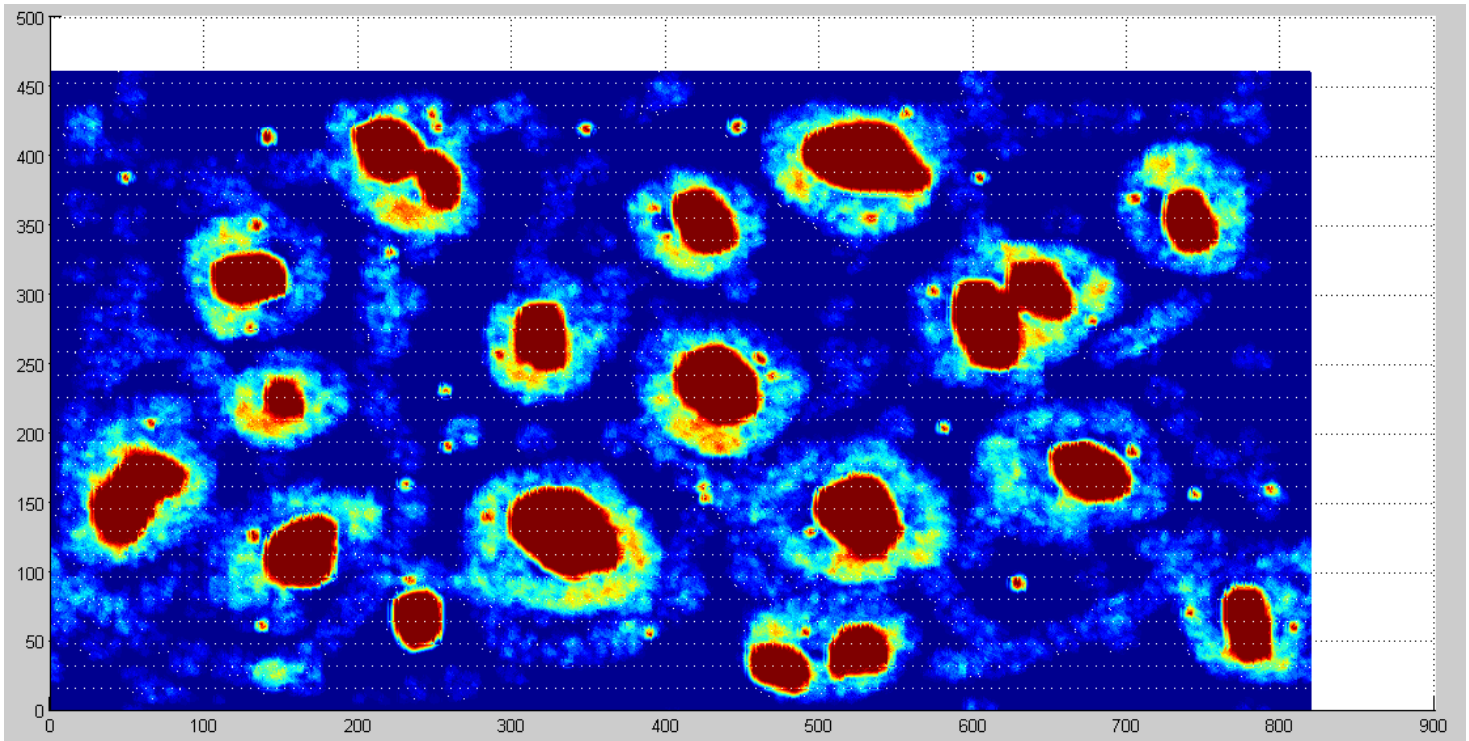
Prueba



Resultados

```
ans =  
  
    460    819  
  
ans =  
  
    39.0000  
  
CC =  
  
Connectivity: 8  
    ImageSize: [460 819]  
    NumObjects: 24  
    PixelIdxList: {1x24 cell}
```


Prueba



Resultados

```
ans =  
  
    460    819  
  
ans =  
  
    39.0000  
  
CC =  
  
    Connectivity: 8  
    ImageSize: [460 819]  
    NumObjects: 39  
    PixelIdxList: {1x39 cell}
```