



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA INFORMÁTICA

Proyecto fin de Carrera Grado

GITI

Segmentación de células en imágenes 3D con técnicas de machine learning

**Realizado por
(ponente): Adrián López Carrillo**

**Dirigido por
María José Jiménez Rodríguez**

**Departamento
Matemática Aplicada I**

Sevilla, 12 de Agosto de 2020 (v.0.1.0)

Resumen

En la actualidad existen microscopios que emplean técnicas ópticas para reconstruir imágenes 3D con una alta precisión. Gracias a esto los investigadores tienen a su alcance imágenes microscópicas de alta calidad y pueden sacar conclusiones de ellas. Estas imágenes suelen requerir un procesamiento digital con el objetivo de discernir los elementos importantes del resto.

En este proyecto se abordará el problema de la segmentación de células en imágenes 3D. Para ello se usarán imágenes cedidas por el Departamento de Biología Celular de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla. En cada imagen hay decenas de células, todas en contacto con otras células sin espacio entre ellas.

El procesamiento digital de estas imágenes actualmente se hace de forma manual teniendo una duración de una a dos semanas, por lo que la automatización de este proceso conllevará un gran ahorro de tiempo.

Respecto a las técnicas usadas, este proyecto se centrará en el uso de redes neuronales para la segmentación de células. Se validará la efectividad del uso de redes neuronales y se estudiará qué tipo de red neuronal y arquitectura será mejor para esta tarea, teniendo en cuenta la exactitud de la segmentación y el coste computacional.

En el análisis de antecedentes se comprobará que la CNN (Convolutional Neural Network o Red Neuronal Convolucional) será con la que se obtienen mejores resultados en el reconocimiento de patrones en imágenes. También se verá que al diseñar una CNN con la arquitectura U-Net se obtienen buenos resultados.

Se probarán varios modelos de CNNs para la segmentación de células, esperándose el mejor resultado de la arquitectura U-Net.

Adicionalmente, se estudiará el uso de un preprocesado y postprocesado para aumentar la eficacia de la segmentación, así como un posterior mapeado a color de las células para ayudar a su visualización.

Esta herramienta estará disponible para el usuario final por medio de una imagen docker, para facilitar su distribución y que perdure el paso del tiempo.

Índice general

Índice general	2
Índice de cuadros	3
Índice de figuras	4
1 Definición de objetivos	1
2 Análisis de antecedentes y aportación realizada	2
2.1 Red Neuronal Artificial	2
2.1.1 Introducción a Redes Neuronales Artificiales	2
2.1.2 Neurona artificial	3
2.2 Red Neuronal Convolucional	4
2.3 Arquitecturas usadas en segmentación	4
2.4 Software desarrollado	4
2.5 Aportación Realizada	4
3 Análisis de requisitos, diseño e implementación	5
3.1 Datos iniciales	5
4 Diseño	7
4.1 Esquema general	7
4.2 Preprocesado local	9
5 Implementación	10
Referencias	11

Índice de cuadros

3.1	Valores mínimo y máximo de los píxeles de las imágenes de entrada.	5
-----	--	---

Índice de figuras

2.1	Neurona artificial genérica	3
2.2	Representación de una Neurona Artificial con $\sum x_i w_i$ como función de integración	4
3.1	Histograma de todos los valores	6
3.2	Histograma de todos los valores con el eje y limitado a 4000	6
4.1	Diseño general	8
4.2	Preprocesado llevado a cabo en la máquina local. Los valores redimensionados son	9

Definición de objetivos

Este proyecto tiene como objetivo segmentar correctamente las células mostradas en imágenes 3D mediante la aplicación de técnicas de machine learning. Posteriormente se colorearán las células de distintos colores para facilitar su visualización.

Este proceso podrá ser reproducido por un usuario ejecutando los archivos .ipynb con Jupyter Notebook, con la cual el usuario podrá entrenar el modelo con un nuevo conjunto de imágenes o inferir la segmentación de una o más imágenes.

Se intentará que esta herramienta sea accesible al mayor nº de usuarios posibles, para ello se optimizará todo lo posible el proceso de entrenamiento e inferencia y se estudiarán varios modelos con distinto grado de complejidad. Con esto se reducirá el hardware necesario.

Análisis de antecedentes y aportación realizada

En este capítulo se hará una breve introducción a las redes neuronales, se justificará el uso del tipo de red neuronal CNN para tratamiento de imágenes así como el de la arquitectura CNN U-Net para la segmentación de células.

2.1– Red Neuronal Artificial

En esta sección se hará una breve introducción a las redes neuronales artificiales, compuesta por neuronas artificiales. Después se describirá qué es una neurona artificial y se definirán 3 tipos: perceptrón, sigmoide y unidad lineal rectificada (ReLU). Por último se hablará sobre el entrenamiento.

2.1.1. Introducción a Redes Neuronales Artificiales

Desde la antigüedad la humanidad ha sentido interés en la posibilidad de emular la inteligencia de forma artificial. Con los avances en neurociencia hemos sido capaces de entender cómo funcionan las neuronas, la unidad básica en el funcionamiento de los cerebros. Siendo el cerebro un ejemplo funcional de un sistema inteligente, es natural que haya interés en replicar su funcionamiento.

Un hito importante se produjo gracias al desarrollo de la teoría del aprendizaje biológico, introducida por Warren McCulloch y Walter Pitts en 1943 (McCulloch y Pitts, 1943), popularizando lo que fue llamado como *cibernética* (Goodfellow, Bengio, y Courville, 2016, p13). Gracias a esto surgió el ADALINE (elemento lineal adaptativo) (Widrow y Hoff, 2015), que es un caso concreto del algoritmo descenso por gradiente estocástico (SGD), algoritmo que con pequeñas modificaciones es usado en la actualidad en el proceso de aprendizaje (Goodfellow y cols., 2016, p14). Fue también gracias al estudio de McCulloch y Pitts que en 1958 Frank Rosenblatt introdujo por primera vez el **perceptrón**, un modelo general de neurona artificial (Rosenblatt, 1958), que fue perfeccionado por Minsky Y Papert en 1969 (Minsky y Papert, 1969).

El perceptrón es un modelo lineal que, dado un conjunto de elementos con dos categorías distintas como entrada, puede clasificar cada elemento en una de esas dos categorías. Un ejemplo sencillo son las puertas lógicas, siendo la entrada un conjunto de dos elementos con las categorías 0 o 1 y la salida sería un 0 o un 1.

Minsky y Papert encontraron un problema en los modelos lineales y lo demostraron con la función XOR, siendo imposible para un modelo lineal compuesto de una neurona artificial aprender esta función. Esto causó un declive en el interés sobre este campo.

En la década de 1980 resurgió el interés gracias en parte al conexionismo, cuya idea central es que un gran número de unidades de computación simples pueden tener un comportamiento inteligente al estar conectadas entre sí (Goodfellow y cols., 2016, p16). Durante esta etapa se hicieron importantes contribuciones como la representación distribuida (G. E. Hinton, 1986), donde se habla sobre representar las entradas de un sistema en base a sus características, reconocidas por patrones de actividad en redes neuronales. Otra gran contribución fue la popularización del algoritmo de propagación hacia atrás, **backpropagation** (Rumelhart, Hinton, y Williams, 1986) para entrenar redes neuronales artificiales y actualizar sus pesos, siendo este algoritmo el más usado en la actualidad.

En este punto de la historia los algoritmos más importantes involucrados en las redes neuronales artificiales usadas en la actualidad habían sido descubiertos, pero no se estaban obteniendo resultados tan buenos como los esperados. Desde un principio lo que se había estado buscando era replicar de forma artificial el funcionamiento del cerebro, siendo el cerebro un sistema de computación genérico, capaz de aprender todo tipo de conocimiento distinto sin la necesidad de cambiar su arquitectura o su método para aprender. Era imposible conocer el algoritmo de aprendizaje usado en el cerebro ya que para ello haría falta monitorizar una gran cantidad de neuronas con gran precisión, lo cual es imposible incluso en la actualidad.

En 2006 se produjo un hito importante que comenzó la etapa del **aprendizaje profundo**, cuando Geoffrey Hinton demostró que era posible entrenar de forma eficiente una red neuronal profunda con un gran número de capas ocultas (G. Hinton, Osindero, y Teh, 2006).

2.1.2. Neurona artificial

En la figura 2.1 se puede ver una neurona artificial genérica con la que pueden ser descritos los distintos tipos que se verán en esta sección.

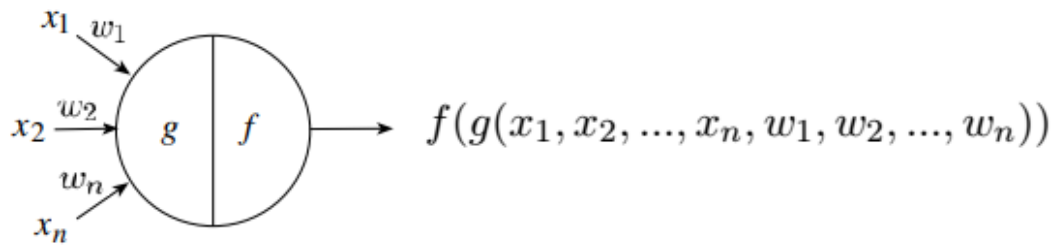


Figura 2.1: Neurona artificial genérica

Siendo:

- (x_1, x_2, \dots, x_n) el vector de entrada.
- (w_1, w_2, \dots, w_n) el vector de pesos.
- g la función de integración, encargada de reducir el vector de entrada a un único valor.
- f la función de activación, encargada de producir la salida de este elemento.

Se puede simplificar la representación al asumir que siempre se usará $\sum x_i w_i$ como función de integración. Además toda neurona artificial tendrá una entrada y un peso por defecto, independientemente del vector de entrada, esto hará referencia al *bias*. Será común ver una representación como 2.2 en la que f indicará la función de activación.

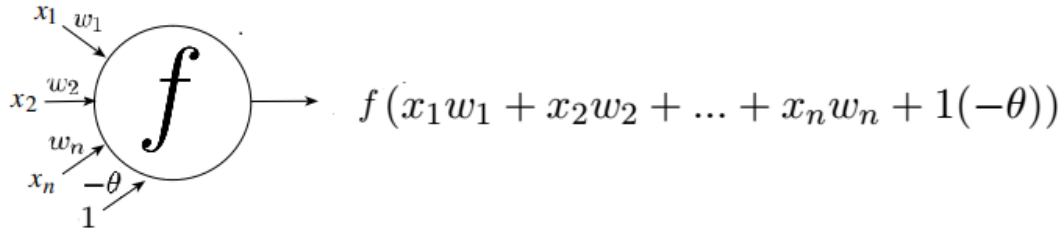


Figura 2.2: Representación de una Neurona Artificial con $\sum x_i w_i$ como función de integración

- Al vector de entradas se le añade un elemento de valor constante 1, siendo ahora de tamaño $n + 1$.
- Al vector de pesos se le añade un elemento de valor inicial $-\theta$, siendo ahora de tamaño $n + 1$. A este valor se le llamará *bias*.
- f indicará la función de activación de la neurona artificial.

Sigmoide

La función sigmoide como función de activación es una función no lineal usada principalmente en redes neuronales prealimentadas (feedforward neural networks), que son las que usaremos en este proyecto. Es una función real, acotada y diferenciable (a diferencia de la usada en el perceptrón). Su definición es la siguiente relación (Nwankpa, Ijomah, Gachagan, y Marshall, 2018):

$$f(x) = \sigma(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (2.1)$$

Unidad Lineal Rectificada (ReLU)

La unidad lineal rectificada (ReLU) fue propuesta como función de activación en 2010 por Nair y Hinton (Nair y Hinton, 2010) y desde entonces ha sido la más usada en aplicaciones de aprendizaje profundo (deep learning, DL). Si se compara con la función de activación Sigmoide, ofrece un mejor rendimiento y es más generalista (Nwankpa y cols., 2018).

$$f(x) = \max(0, x) = \begin{cases} x_i & \text{si } x_i \geq 0 \\ 0 & \text{si } x_i < 0 \end{cases} \quad (2.2)$$

2.2– Red Neuronal Convolutacional

2.3– Arquitecturas usadas en segmentación

2.4– Software desarrollado

2.5– Aportación Realizada

Análisis de requisitos, diseño e implementación

3.1– Datos iniciales

Los datos iniciales son 20 ficheros con formato hdf5, cada uno contiene la siguiente:

- **imageSequence**: Imagen inicial con la forma $(Z1, 1024, 1024)$
- **imageSequenceInterpolated**: Imagen inicial interpolada, ahora con la forma $(Z2, 1024, 1024)$. Siendo $Z2 > Z1$.
- **labelledImage3D**: Resultado de etiquetar correctamente la imagen inicial interpolada $(Z2, 1024, 1024)$.
- **centroidOfRoIs**: Coordenadas del centroide de cada célula.
- **usedZScale**: Valor usado en la interpolación.

A continuación se analizarán las imágenes **imageSequenceInterpolated** y **labelledImage3D**.

imageSequenceInterpolated

El tipo usado para almacenar el valor de cada vóxel es $f8$ que, según la documentación de numpy es el equivalente a un número de 64-bit float.

Se han comprobado los valores máximo y mínimo de las 20 imágenes y estos son los resultados:

35.0	32.0	33.0	0.0	31.0	24.0	19.0	0.0	0.0	24.0
4095.0	4095.0	4095.0	65535.0	4069.0	4095.0	4095.0	65535.0	65535.0	4095.0
22.0	22.0	23.0	30.0	31.0	30.0	25.0	30.0	23.0	19.0
4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0	4095.0

Cuadro 3.1: Valores mínimo y máximo de los píxeles de las imágenes de entrada.

Se ha analizado el histograma de una imagen para entender mejor la distribución de valores. Podría ser que se pudiera simplificar el nº de valores distintos que tiene la imagen para aumentar el rendimiento. La imagen analizada tiene 32 de valor mínimo y 4095 de valor máximo.

En la figura 3.1 se puede ver un histograma en el que en el eje x representa el valor de un píxel y el eje y representa el nº de píxeles con ese valor. En esta figura se puede comprobar que los valores están concentrados en el rango $[0, 500]$, pero da la impresión de que no hay ningún elemento en el resto de valores. Para obtener una mejor visualización del resto en la figura 3.2 se puede ver otro histograma con el eje y limitado a 4000, donde se aprecia los distintos valores que un píxel puede tomar.

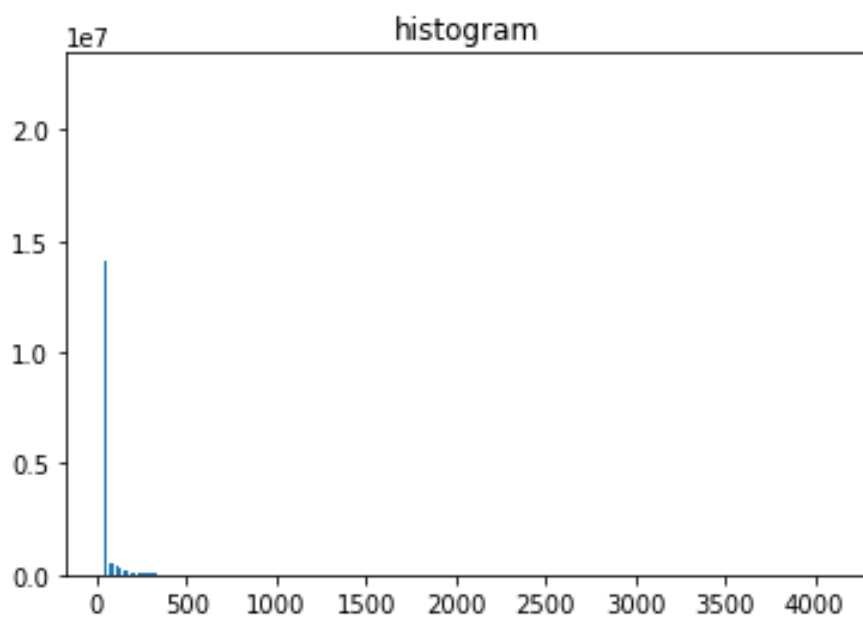


Figura 3.1: Histograma de todos los valores

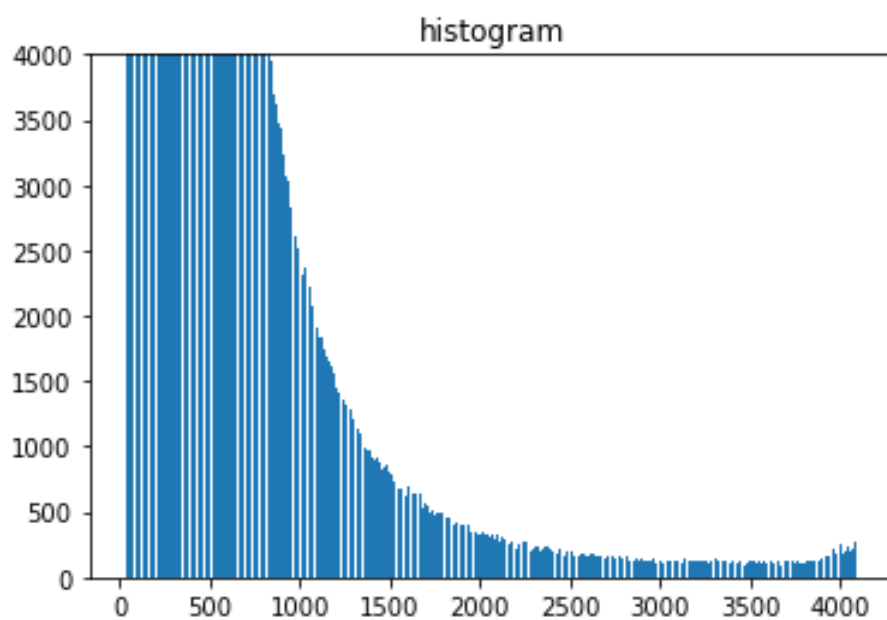


Figura 3.2: Histograma de todos los valores con el eje y limitado a 4000

Diseño

En este capítulo se describirá el flujo por el que pasan los datos suministrados hasta dar lugar a la segmentación objetivo, sin entrar en detalles sobre las herramientas usadas en la implementación.

4.1– Esquema general

El principal cuello de botella al usar técnicas de deep learning es el hardware requerido para ello.

Sería ideal ser capaz de entrenar una CNN usando las imágenes provistas directamente, pero a causa de su gran resolución no es viable. Una imagen de resolución $(200, 1024, 1024) \times 3$ con una precisión de 8 bytes ocupa en memoria (siempre hablaremos de memoria de GPU) $size(imagen) = \frac{1024 \times 1024 \times 200 \times 8}{1024 \times 1024} = 1600MB$. Si bien podríamos almacenar esta imagen en memoria, las CNN se caracterizan por aplicar un gran número de filtros distintos en paralelo a una imagen de entrada, utilizando los resultados de la aplicación de estos filtros en el siguiente paso de la CNN. Tal y cómo se verá en más detalle en la sección sobre las arquitecturas seleccionadas, es completamente inviable para nosotros usar la resolución original. Es por ello que como parte del preprocesado se han simplificado los datos de entrada.

Por otro lado, también sería ideal contar con la última tecnología en GPU o TPU. En un artículo sobre segmentación de tejido celular 3D usando U-Net se explica cómo han usado 8 NVIDIA GeForce RTX 2080 Ti GPUs para realizar 100K iteraciones ???. El acceso a un hardware superior permite el uso de arquitecturas más complejas, datos más precisos o mayor nº de iteraciones, lo que va a influir en el resultado obtenido.

Para tener acceso a mejor hardware se usarán tecnologías cloud, donde puedes alquilar el uso de GPUs por hora siendo común pruebas gratuitas especialmente para estudiantes.

Para la parte del entrenamiento y la inferencia se usará Jupyter Notebook, esto hará que sea fácil trasladar el código entre distintas máquinas, locales o en internet.

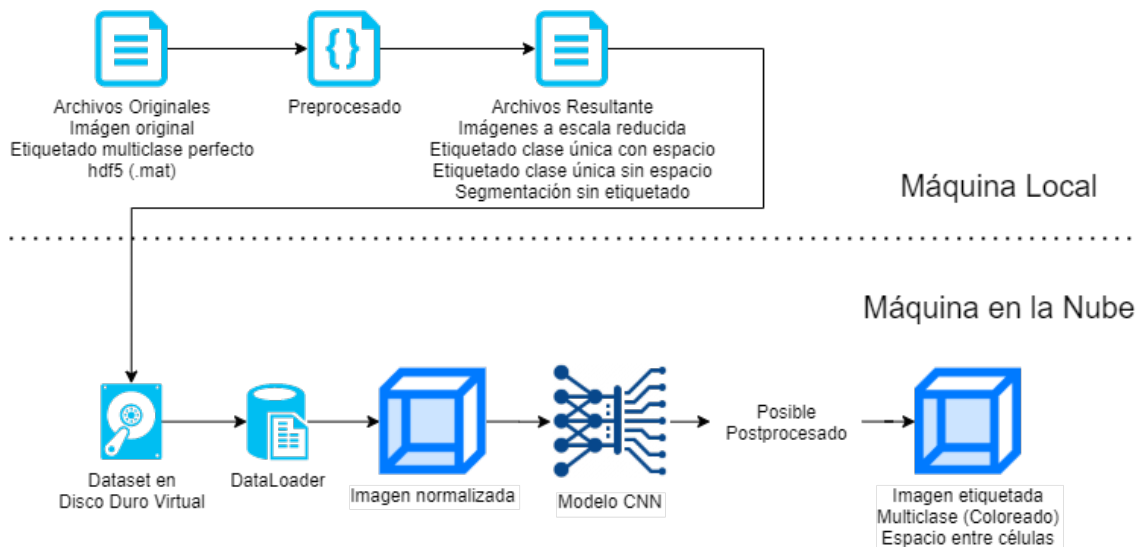


Figura 4.1: Diseño general

En la figura 4.1 se muestra el diseño general sobre el proceso en el que los datos pasan de los archivos hdf5 inicialmente provistos hasta completar la segmentación requerida.

La etapa de preprocesado no requerirá un uso intensivo de GPU, por lo que podrá realizarse en cualquier máquina. En este caso se usará la máquina local ya que la máquina en la nube es más costosa de utilizar.

En esta etapa se prepararán los datos con 4 objetivos:

1. Reducir la resolución de la imagen de entrada, reduciendo así la memoria necesaria para almacenarla en GPU.
2. Generar las imágenes etiquetadas correctamente para tenerlas como objetivo.
3. Reducir el tamaño de los archivos resultantes, ya que estos serán usados en servicios cloud y tendrán que ser subidos y descargados con frecuencia.
4. Modificar el orden de las dimensiones y añadir una *singleton dimension* para el canal. Este formato es necesario para su uso en la CNN.

Tras esto, se generarán nuevos archivos hdf5 y se subirán a un disco duro virtual, al cual se accederá por un Notebook. El dataset será leído por un DataLoader, el cual realizará todo el preprocesado que faltase a las imágenes de entrada, como puede ser la normalización. Las imágenes de entrada podrán entonces ser usadas como entrada en el modelo seleccionado, cuya salida, dependiendo del modelo, podrá requerir un postprocesado o no. El resultado final será un etiquetado multiclase, que visualmente se traducirá a un coloreado de células.

4.2– Preprocesado local

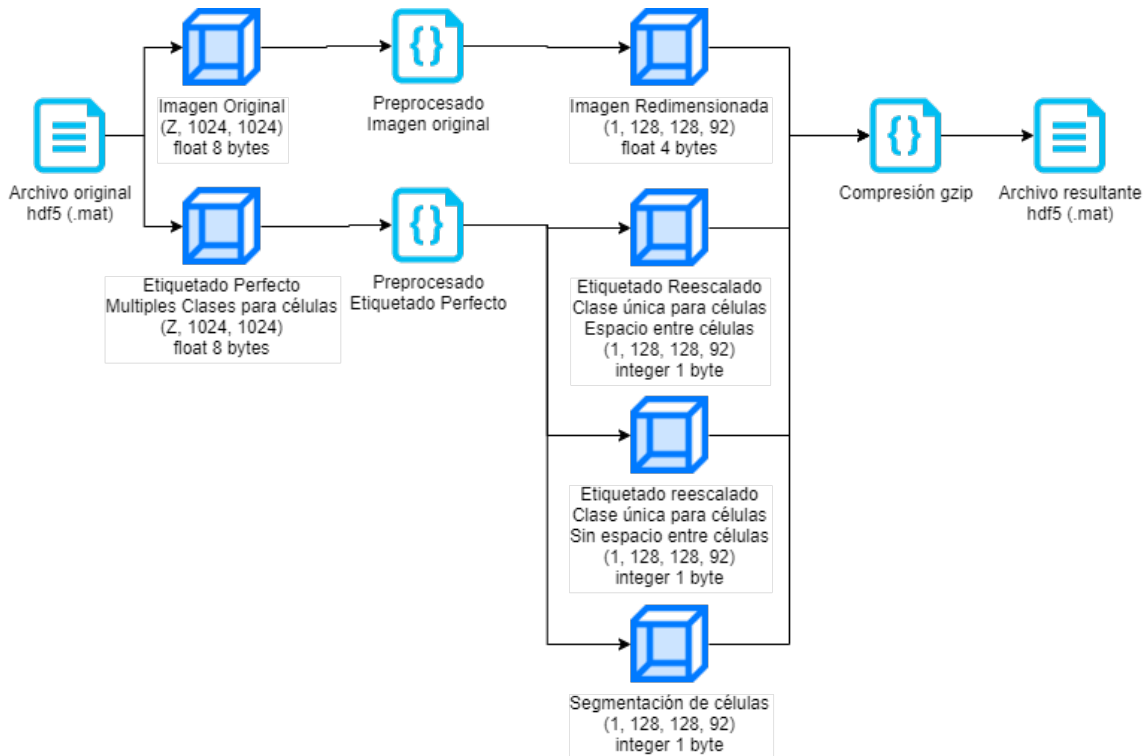


Figura 4.2: Preprocesado llevado a cabo en la máquina local. Los valores redimensionados son

En la figura 4.2 se puede ver con más detalle el resultado que se obtendría en esta etapa.

Reducir la resolución de la imagen de entrada

El formato de las imágenes inicialmente es (Z, X, Y) , siendo para todas las imágenes $X = Y = 1024$ y $Z \in [216, 368]$. Además de reducir la resolución de las imágenes, es importante que todas tengan la misma, de lo contrario no podrán ser usadas en operaciones batch. También es esencial que la imagen de entrada y la imagen etiquetada no se deformen demasiado.

Generar las imágenes etiquetadas correctamente

El problema principal que nos encontramos en las imágenes con el etiquetado perfecto es que las células, siendo instancias de una misma clase (la clase “célula”), tienen etiquetas distintas. En una segmentación semántica cada vóxel es etiquetado con la clase a la que se cree que pertenece. Si usáramos el etiquetado actual necesitaríamos una clase por cada célula, pero eso no tiene mucho sentido ya que el n° de células en una imagen puede variar, además todas las células tienen características similares. Probaremos dos soluciones a este problema:

1. Añadir espacio entre células para que ninguna esté en contacto y hacer que todas tengan 1 como etiqueta.
2. Cambiar las etiquetas a 1 sin añadir espaciado y entrenar un modelo A para su predicción. Encontrar los bordes exteriores de las células y entrenar un modelo B para su predicción. La predicción final será la predicción del modelo A menos la predicción del modelo B.

Los 3 etiquetados distintos son preprocesados en este paso.

Reducir el tamaño de los archivos resultantes

Al estar trabajando con herramientas en la nube, será recomendable reducir el tamaño de los archivos lo mayor posible.

Todas las imágenes tienen una precisión de 8 bytes, cuando en un estudio previo se concluyó que no era necesaria tanta precisión para los valores de esas imágenes, especialmente para el etiquetado que usa valores enteros entre 0 y 100. Es importante tener en cuenta que al almacenar tensores en la memoria de la GPU, la imagen no tendrá ningún tipo de compresión, cada elemento ocupará espacio en memoria. Si hacemos que la imagen de entrada pase de 8 bytes a 4 bytes, estaremos reduciendo su tamaño a la mitad. De forma similar si hacemos que la imagen del etiquetado pase de 8 bytes a 1 byte, estaremos reduciendo su tamaño a una octava parte. Con 1 byte de precisión podremos almacenar hasta 256 valores distintos, suficiente ya que sólo tendremos 2 valores distintos: 0 para el fondo y 1 para la célula o los bordes.

Además se comprimirán las imágenes, aunque esto sólo reducirá el tamaño del archivo, el tamaño de los tensores almacenados en memoria será el mismo. Esta compresión será muy efectiva en las imágenes etiquetadas, ya que los elementos sólo tendrán 2 valores distintos.

Modificar el orden de las dimensiones

El cambio de las dimensiones se debe principalmente a las herramientas usadas en etapas posteriores, que requieren los ejes ordenados como (x, y, z) .

Añadir una *singleton dimension* es necesario para tener en cuenta el canal de la imagen, ya que esto es usado en los componentes de la CNN con arquitectura U-Net.

CAPÍTULO 5

Implementación

Referencias

- Goodfellow, I., Bengio, Y., y Courville, A. (2016). *Deep learning*. MIT Press. Descargado de <https://www.deeplearningbook.org/> (<http://www.deeplearningbook.org>)
- Hinton, G., Osindero, S., y Teh, Y.-W. (2006, 08). A fast learning algorithm for deep belief nets. *Neural computation*, 18, 1527-54. doi: 10.1162/neco.2006.18.7.1527
- Hinton, G. E. (1986). Learning distributed representations of concepts. En *Proceedings of the eighth annual conference of the cognitive science society*.
- McCulloch, W. S., y Pitts, W. (1943, 01 de Dec). A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*, 5(4), 115-133. Descargado de <https://doi.org/10.1007/BF02478259> doi: 10.1007/BF02478259
- Minsky, M., y Papert, S. (1969). *Perceptrons: An introduction to computational geometry*. Cambridge, MA, USA: MIT Press.
- Nair, V., y Hinton, G. E. (2010). Rectified linear units improve restricted boltzmann machines. En *Proceedings of the 27th international conference on international conference on machine learning* (p. 807–814). Madison, WI, USA: Omnipress.
- Nwankpa, C., Ijomah, W., Gachagan, A., y Marshall, S. (2018). *Activation functions: Comparison of trends in practice and research for deep learning*.
- Rosenblatt, F. (1958). The perceptron: A probabilistic model for information storage and organization in the brain. *Psychological Review*, 65–386.
- Rumelhart, D. E., Hinton, G. E., y Williams, R. J. (1986, 01 de Oct). Learning representations by back-propagating errors. *Nature*, 323(6088), 533-536. Descargado de <https://doi.org/10.1038/323533a0> doi: 10.1038/323533a0
- Widrow, B., y Hoff, T. (2015). Adaptive linear neuron..