

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET ELEKTROTEHNIKE I RAČUNARSTVA

ZAVRŠNI RAD br. 5122

**Pronalaženje mikrotubula u
trodimenzionalnim mikroskopskim
slikama**

Pero Skoko

Zagreb, srpanj 2017.

Zagreb, 10. ožujka 2017.

ZAVRŠNI ZADATAK br. 5122

Pristupnik: **Pero Skoko (0036482836)**
Studij: Računarstvo
Modul: Računarska znanost

Zadatak: **Pronalaženje mikrotubula u trodimenzionalnim mikroskopskim slikama**

Opis zadatka:

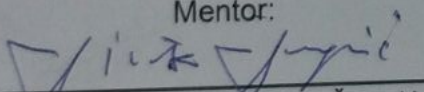
Pronalaženje objekata važan je problem računalnog vida s mnogim zanimljivim primjerama. U posljednje vrijeme najbolji rezultati u tom području postižu se pristupima utemeljenima na nadziranom učenju. Ovaj rad razmatra mogućnost pronalaženja mikrotubula u trodimenzionalnim mikroskopskim slikama citoskeleta stanice.

U okviru rada, potrebno je proučiti biblioteke programskog jezika Python za rukovanje i vizualizaciju matrica i slika. Izraditi alat za vizualizaciju postojećih označenih slika te označavanje novih slika. Oblikovati algoritam za klasificiranje pojedinačnih piksela odnosno njihovih malenih susjedstava. Razviti program za pronalaženje mikrotubula u trodimenzionalnim mikroskopskim slikama stanice. Prikazati i ocijeniti ostvarene rezultate.

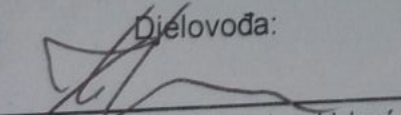
Radu priložiti izvorni i izvršni kod razvijenih postupaka, ispitne slijedove i rezultate, uz potrebna objašnjenja i dokumentaciju. Citirati korištenu literaturu i navesti dobivenu pomoć.

Zadatak uručen pristupniku: 10. ožujka 2017.
Rok za predaju rada: 9. lipnja 2017.

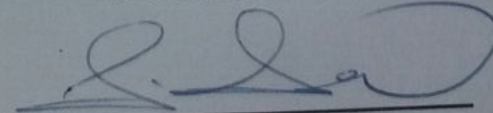
Mentor:


Izv. prof. dr. sc. Siniša Šegvić

Djelovođa:


Doc. dr. sc. Tomislav Hrkać

Predsjednik odbora za
završni rad modula:


Prof. dr. sc. Siniša Srblić

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Metode za pronalaženje objekata u mikroskopskim slikama	2
2.1. Semantička segmentacija mikroskopskih odrezaka	2
2.1.1. Evaluacija rezultata	3
3. Određivanje parametara mikrotubula	4
3.1. Praćenje maksimuma	6
3.2. Određivanje parametara iz rezultata semantičke segmentacije	6
4. Eksperimentalni rezultati	7
4.1. Rezultati na odabranoj stanici	7
4.1.1. Semantička segmentacija pomoću konvolucijske mreže	7
4.2. Primjena semantičke segmentacije pomoću konvolucijske mreže na više stanica	9
5. Zaključak	11
Literatura	12

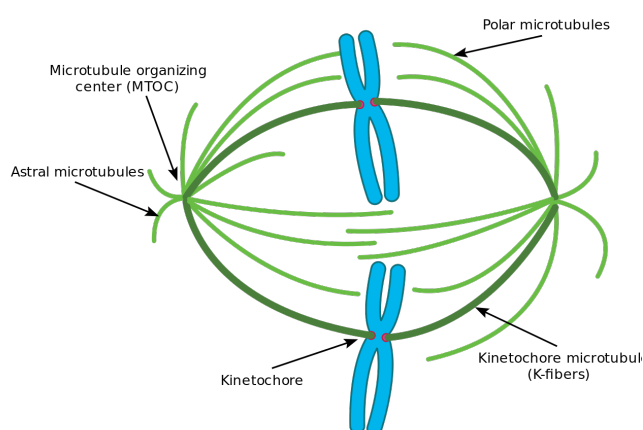
1. Uvod

Biološke stanice u osnovni građevni elementi svih živih bića. Njihovo dijeljenje još uvijek predstavlja jedno od osnovnih područja istraživanja. Pri njihovome dijeljenju javljaju se štapičaste tvorine koje se zovu mikrotubuli. Oni povezuju se protežu između dva pola stanice koje povezuju. Prilikom istraživanja takvih stanica koriste se posebni konfokalni mikroskopi koji koji nam daju trodimenzionlanu sliku stanice.

Oni rade slike stanice po vertikalnim presjecima, krenu od najnižeg sloja stanice i polako se vertikalno miču prema vrhu stanice i tako dobivamo trodimezionalnu sliku stanice. U tom području istraživanja vrlo je bitno odrediti oblik mikrotubula kroz presjeke stanice da bi se mogle uočiti određene promjene. Taj posao se dosada obavljao ljudskim radom što se pokazalo kao vrlo naporno i nepraktično zbog čega se javila potreba za automatizacijom tog procesa.

U ovom radu pokušat će se pokušati primijeniti metode računalnog vida za rješavanje toga problema.

Slika 1.1: Model stanice



Izvor slike: <https://en.wikipedia.org/wiki/Microtubule>

2. Metode za pronalaženje objekata u mikroskopskim slikama

Mikroskopske slike koje analiziramo u radu su trodimenzionalni tenzori koji se sastoji od 30 ili 38 dvodimenzionalnih odrezaka. Svaki taj odrezak je monokromatska slika veličine 512×512 piksela.

One predstavljaju vertikalne presjeke stanice.

2.1. Semantička segmentacija mikroskopskih odrezaka

U računalnom vidu semantička segmentacija je postupak u kojem se slika dijeli više segmenata. Njezin cilj je svaki piksel slike staviti u neki od predefiniranih razreda. Na taj način dobijemo jednostavniju reprezentaciju slike iz koje lakše možemo iščitati određene informacije.

Semantička segmentacije ćemo u ovome radu primijeniti odreske mikroskopske slike. U svakome odresku možemo odrediti dvije vrste segmenata, one koji predstavljaju mikrotubule i one koje predstavljaju pozadinu. Primjenom segmentacije pokušat ćemo klasificirati svaki piksel u jednu od tih grupa.

Za klasificiranje piskela koristit ćemo pristup iz Gatjal (2017) koji koristi duboku konvolucijsku mrežu za klasifikaciju piskela. Takav pristup se temelji na strojnom učenju. Potrebno je prije segmentacije mrežu utrenirati na slikama na kojima su već označeni pikseli pozadine i mikrotubula. Radi jednostavnosti i uštede vremena koristi rijetko označavanje što znači da se ne označavaju apsolutno svi pikseli već samo neki. To daje lošije rezultate u odnosu na potpuno označavanje no takvo rješenje ne bi bilo praktično.

2.1.1. Evaluacija rezultata

Da bismo mogli donijeti odluku o prihvatljivosti upotrebe metode semantičke segmentacije potrebno je na neki način ocijeniti njezinu efikasnost. Pri računanju efikasnosti koristit ćemo već predefinirane ručne oznake kao mjere za uspješnost. Za uspjehnost ćemo morati definirati parametar δ kao maksimalnu prihvatljivu udaljenost između ručne i predefinirane oznake da bi se smatralo da je predefinirana oznaka pogodila ručnu.

Neka je R skup ručnih oznaka, a S skup oznaka dobivenih semantičkom segmentacijom ili nekom drugom metodom koja konkretno pozicije oznaka. Neka su oznake u skupu R i S numerirane prirodnim brojevima.

Neka je P_i indeks najbliže dobivene oznake za predefiniranu oznaku i . Tj.

$$P_i = \min \{ d(i, j) \mid j \in S \}$$

Neka je D_j indeks najbliže predefinirane oznake za dobivenu oznaku j . Tj.

$$D_j = \min \{ d(j, i) \mid i \in R \}$$

Pogodak H_i za predefiniranu oznaku i definiramo kao 1 ako postoji dobivena oznaka j i vrijedi $P_i = j$ i $D_j = i$ i vrijedi $d(i, j) < \delta$. Dakle ako su predefinirana i dobivena oznaka jedna drugoj najbliže i njihova udaljenost je manja od unaprijed definiranog praga, onda kažemo da imamo pogodak. M_i je definirano kao promašaj i on je suprotan od pogotka.

$$R = \sum_{i \in R} \frac{H_i}{H_i + M_i}$$

R je dakle udio pogođenih predefiniranih oznaka.

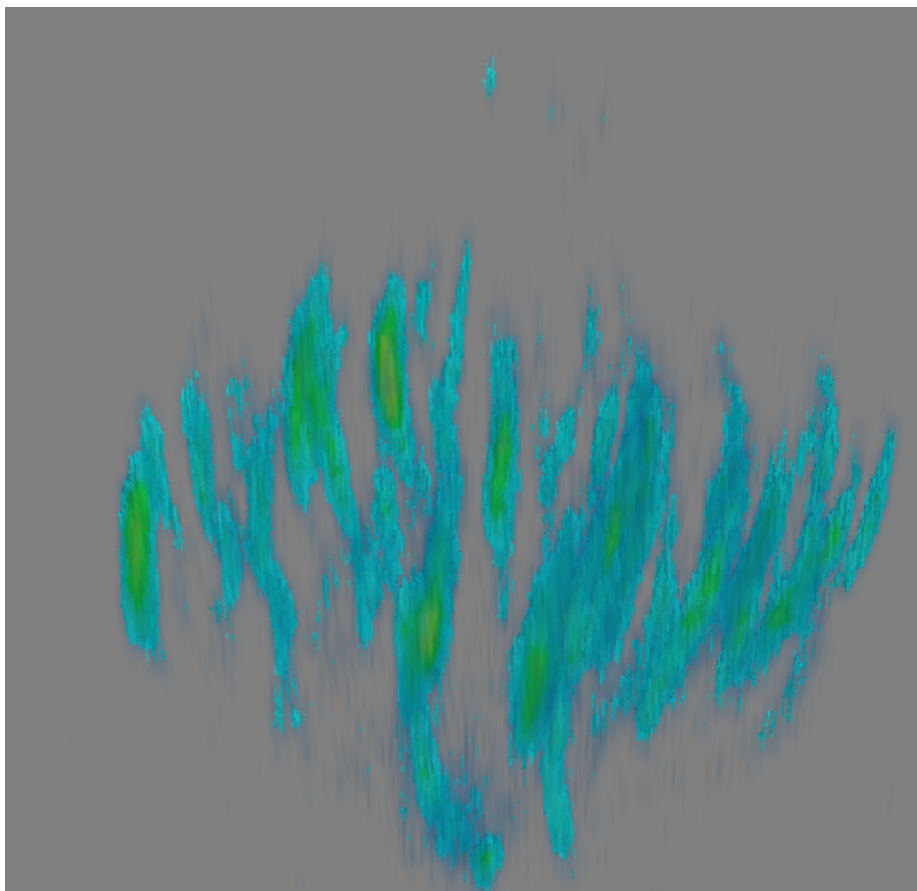
Preciznost P ćemo definirati kao udio detektiranih koji imaju odgovarajuću pogođenu oznaku.

3. Određivanje parametara mikrotubula

Mikrotubuli su strukture koje imaju štapićasti oblik i protežu se s jednog kraja stanice na drugi. S obzirom da njihova izduženost prevladava u odnosu na ostale dimenzije parametrizirat ćemo ih pomoću krivulje.

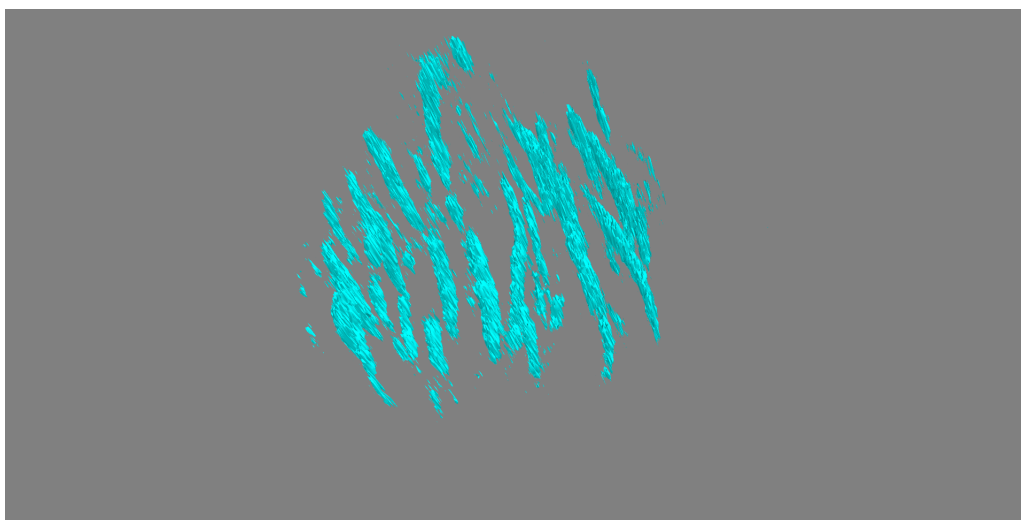
Da bismo dobili bolji u podatke podaci su vizualizirani u trodimenzionalnoj sceni. Na sljedećoj slici su inteziteti iz trodimenzionalnog tenzora prikazani u prozoru, što je intezitet jači to je boja zelenija. Uklonjeni su svi pikseli iz tenzora čiji je intezitet manji od 100 da bi se bolje uočili mikrotubuli.

Slika 3.1: 3D reprezentacija mikrotubula



na sljedećoj slici su područja istog inteziteta povezane

Slika 3.2: 3D reprezentacija mikrotubula



3.1. Praćenje maksimuma

Praćenje maksimuma je najjednostavnija metoda za određivanje krivulje mikrotubula. Za početak potrebno je na jednome odresku već unaprijed imati označene pozicije mikrotubula. To bi bilo najbolje napraviti na odrescima u sredini stanice na kojima se mikrotubuli najbolje vide. To je moguće napraviti ručno ili koristiti semantičku segmentaciju koja najbolje rezultate da je na središnjim odrescima.

Za primjenu ove metode potrebno je zadati još jedan parametar, a to je radijus pretrage. On treba biti odabran tako da predstavlja očekivani radijus dijela mikrotubulak koji se može uočiti na pojedinom odresku. Na temelju odabrane oznake na nekom odresku tražit će se piksel s najvećim intezitetom, a čija je euklidska udaljenost od zadane oznake manja od tog zadanog radijusa. Pozicija tog piksela, njegove x i y koordinate, će se uzeti kao pozicija krivulje mikrotubula na z koordinati te slike.

Zatim ćemo se na prethodnoj i sljedećoj slici primijeniti isti postupak, ali ćemo za predefinirane oznake mikrotubula na toj slici uzeti koordinate piksela kojeg smo odredili u prethodnom koraku. I to ćemo nastaviti iterativno primijenjivati. Iteriranje ćemo zaustaviti kad intezitet određenog mikrotubula bude premali.

3.2. Određivanje parametara iz rezultata semantičke segmentacije

U prethodnom poglavlju smo opisali postupak semantičke segmentacije na odrescima mikrotubula. Kao rezultat semantičke segmentacije dobit ćemo slike na kojima pikseli imaju samo dvije boje, jednu koja predstavlja prepoznati mikrotubul i drugu koja predstavlja pozadinu. Kad slike spojimo možemo ih promatrati kao trodimenzionalni tenzor.

U tom trodimenzionalnom tenzoru ćemo tražiti povezane komponente piksela koji međusobno dodiruju. Svaku tako dobivenu komponentu možemo smatrati jednim mikrotubulom i svaki piksel u pojedinoj komponenti se promatra kao dio odgovarajućeg mikrotubula.

Iz takvih grupa piksela potrebno je zatim dobiti krivulje koje opisuju mikrotubule. To ćemo dobiti na način da ćemo za svaku pojedinu z koordinatu nekog piksela grupirati sve piksele s tom z koordinatom u jednu grupu. I u toj grupi ćemo odrediti aritmetičku sredinu svih pozicija po x i y koordinatama i te koordinate će predstavljati krivulju na toj z koordinati.

4. Eksperimentalni rezultati

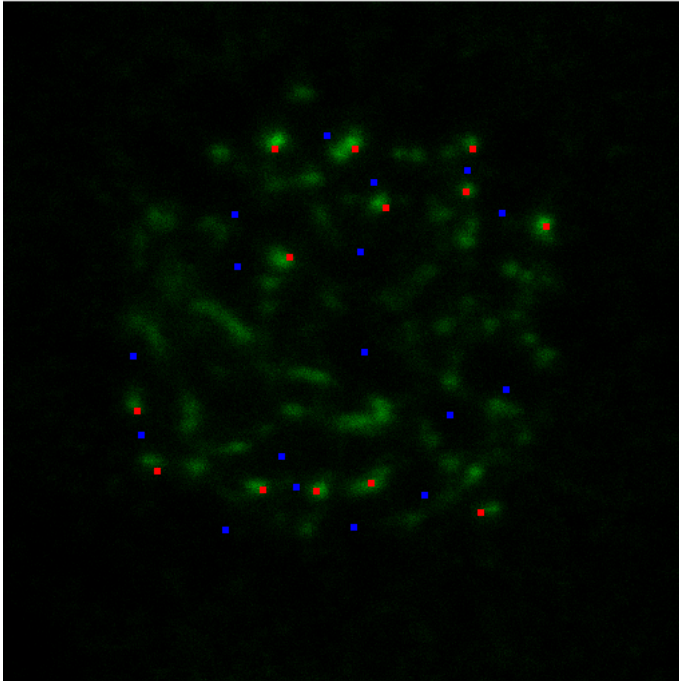
U ovome poglavlju ćemo metode opisane u prethodnim primijeniti na konkretne stanice. Pri tome ćemo ih prvo pokušati primijeniti na posebno odabranu stanicu kako bismo se uvjerali u njihovu uspješnost. Stanica za provedbu analize metoda je odabrana tako da se u njoj mikrotubuli mogu najbolje uočiti i da je u njoj prisutno najmanje šuma. Šum u našim podacima predstavljaju područja inteziteta koja su slična mikrotubulima, a nisu mikrotubuli i područja koja povećavaju razliku između mikrotubula.

4.1. Rezultati na odabranoj stanici

4.1.1. Semantička segmentacija pomoću konvolucijske mreže

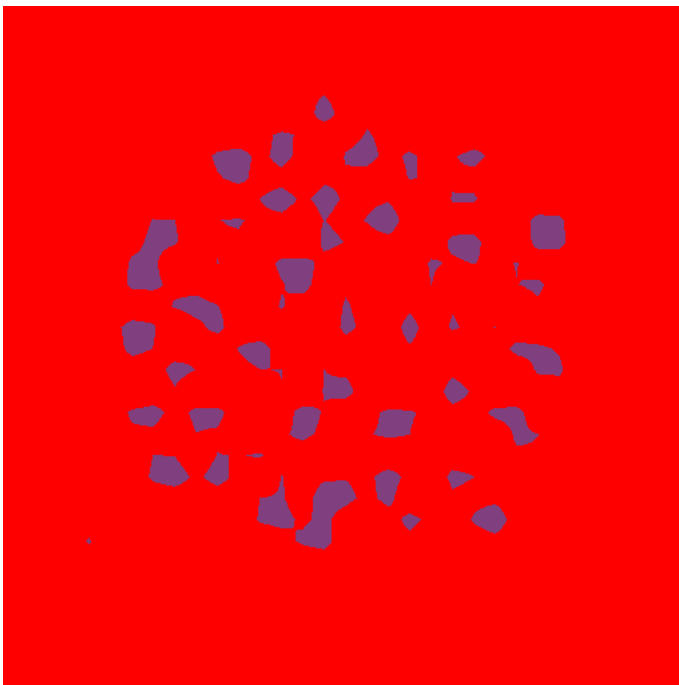
Koristeći vlastite oznake istrenirali smo kroz epohe i mjerili efikasnost dobivenih oznaka. Slike treba pažljivo označiti i paziti da se označe područja između mikrotubula da bi se postigli optimalni rezultati:

Slika 4.1: Primjer označavanja



Koristeći težine dobivene treniranje mreže, segmentiranjem dobivamo sljedeću sliku:

Slika 4.2: Primjer označavanja

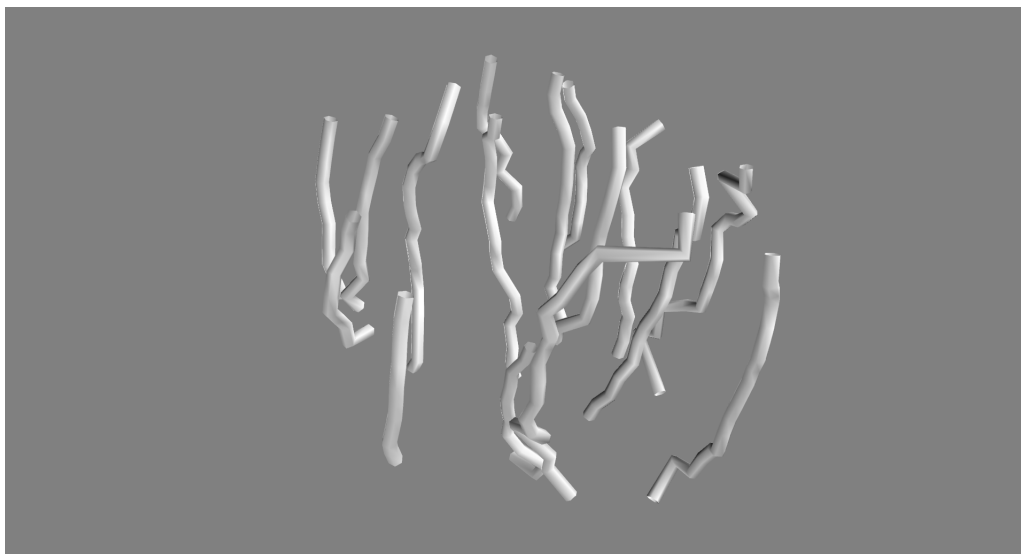


	1. epoha	2. epoha	3. epoha	4. epoha	5. epoha	6. epoha	7. epoha
R	1.01%	15.41%	25.52%	31.74%	53.11%	60.15%	61.5%
P	7.13%	10.11%	15.54%	29.18%	30.54%	30.41%	30.17%

Gornji rezultati pokazuju da je semantička segmentacija dovoljno dobra metoda za automatsko označavanje mikrotubula na odrescima.

Zatim ćemo pokušati pratiti mikrotubule korištenjem metode, opisane u prethodnom poglavlju za segmentirane slike:

Slika 4.3: Praćeni mikrotubuli



Iz slike se vidi da je na njoj uočeno 16 mikrotubula, a u stanici bi ih trebalo biti između 50 i 100, dakle ova metoda može odrediti oblik barem najočitijih mikrotubula.

4.2. Primjena semantičke segmentacije pomoću konvolucijske mreže na više stanica

U podacima koje smo dobili imamo sedam trodimenzionalnih slika stanica s oznakama. U ovome potpoglavlju pokušat ćemo primijeniti metodu semantičke segmentacije na svim stanicama. Pri tome ćemo imati dva skupa stanica. U jednoj stanici će biti šest stanica i na njima će se pikseli označiti na temelju već predefiniranih oznaka na način da će svi pikseli čija je euklidska udaljenost od koordinata oznake manja od 10 biti označeni. Pozadine će na tih šest biti označene ručno.

U drugu skupinu stanica ćemo samo svrstati jednu stanicu, nju nećemo označavati niti je koristiti za učenje mreže. Nju ćemo iskoristiti isključivo za evaluaciju perfo-

mansi nad njom. Težine mreža naučene nad stanicama iz prve grupe ćemo koristiti za segmentiranje odrezaka ove jedne stanice za testiranje.

Sljedeća tablica pokazuje rezultate nad prvim skupom tj. skupom za učenje.

	1. epoha	2. epoha	3. epoha	4. epoha	5. epoha	6. epoha	7. epoha
R	1.51%	10.41%	20.52%	41.74%	43.77%	43.87%	44.71%
P	7.13%	10.11%	15.54%	29.18%	30.54%	30.41%	30.17%

Sljedeća tablica pokazuje rezultate nad stanicom za testiranje:

	1. epoha	2. epoha	3. epoha	4. epoha	5. epoha	6. epoha	7. epoha
R	1.01%	9.62%	19.34%	30.94%	35.56%	38.15%	38.10%
P	5.12%	8.16%	16.54%	25.33%	29.54%	35.71%	36.34%

5. Zaključak

Opisane su metode za određivanje oznaka i oblika mikrotubula. Semantička segmentacija se pokazala kao vrlo dobra za određivanje oznaka. Budući da koristi rijetko označavanje relativno ju je praktično upotrijebiti. Potrebno je između 20 i 30 sekundi za označavanje jedne slike što je između 10 i 15 minuta po stanici. Uvidom u njezine performanse, vidi se da daje rezultate koji nisu zanemarivi i stoga se može upotrijebiti za određivanje oznaka.

Metoda prepoznavanja mikrotubula prepoznaje oko 16 od 50 do 100 najuočljivijih mikrotubula što znači da se može iskoristiti za prepoznavanje barem nekih mikrotubula. Zbog velikog šuma na vrhu i dnu stanicu, mikrotubuli su praćeni uglavnom kroz središnji dio stanice. Prepoznavanje ostalih mikrotubula i oznaka će biti puno teže zbog velikog šuma i nekozinstentnosti pojavljivanja na slikama.

LITERATURA

Josip Gatjal. Interaktivna segmentacija dubokim modelima. 2017.

Pronalaženje mikrotubula u trodimenzionalnim mikroskopskim slikama

Sažetak

Rad razmatra mogućnosti pronalaženja mikrotubula u trodimenzionalnim mikroskopskim slikama stanice. U okviru rada izrađuje se alat za vizualizaciju postojećih označenih slika i označavanje novih. Razvijaju se metode za detekciju mikrotubula u trodimenzionalnim slikama. Razvijene metode se ocjenjuju.

Ključne riječi: računalni vid; segmentacija; mikrotubuli;

Microtubule detection in three-dimensional microscopic images

Abstract

The paper deals with the possibilities of microtubule in three-dimensional microscopic images of the cell. Within the work, a tool for visualization of existing tagged images and marking new ones is created. Methods for detecting microtubules in three-dimensional images are being developed. Developed methods are evaluated.

Keywords: computer vision; segmenta; microtubules;