

RECONOCIMIENTO AUTOMÁTICO DE MARCADORES BIOLÓGICOS A PARTIR DE TÉCNICAS DE VISIÓN E INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Russo Claudia, Palumbo María Laura, Pérez Gabriel, Moroni Alejandro David
Instituto de Investigación y Transferencia en Tecnología (ITT)
Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA)
Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA)
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA)
{claudia.russo, gabriel.perez}@itt.unnoba.edu.ar
{admoroni, mlpalumbo}@comunidad.unnoba.edu.ar

RESUMEN

En los últimos años, el avance respecto a la adquisición de grandes cantidades de imágenes de microscopía, ha hecho posible que el análisis digital de imágenes desarrolle herramientas capaces de obtener información de manera automática. Esta automatización y digitalización de procesos ha contribuido significativamente a reducir tanto los tiempos como los errores asociados con las técnicas manuales. El objetivo de la presente investigación es el diseño de un modelo basado en visión e inteligencia artificial que permita automatizar procesos de laboratorio, con la capacidad de segmentar y caracterizar automáticamente marcadores celulares en imágenes de microscopía. Estos resultados tienen el objetivo de reducir los tiempos dedicados al análisis visual de imágenes, generar información de soporte a la toma de decisiones y aportar herramientas para el especialista genetista.

Palabras clave: Visión Artificial, Inteligencia Artificial, Marcadores biológicos, Microscopía.

CONTEXTO

La línea de investigación de esta presentación se enmarca en el proyecto de investigación "Innovación tecnológica a través de la hiper automatización", con lugar de trabajo en el Instituto de Investigación y Transferencia en Tecnología (ITT), presentado en la convocatoria a Subsidios de Investigación Bianuales (SIB) 2022, aprobado y financiado por la Secretaría de Investigación, Desarrollo y Transferencia (SIDT) de la UNNOBA. El estudio, análisis, diseño y desarrollo de nuevas herramientas tecnológicas es parte activa del Instituto de Investigación y Transferencia en Tecnología de la UNNOBA. En particular este trabajo se realiza junto al Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA) de la UNNOBA, donde se trabaja en investigación básica y aplicada en fisiología, bioquímica, biología molecular, genética, química inorgánica y analítica; allí se encuentra el Laboratorio de Neuroinmunología Cognitiva.

1. INTRODUCCIÓN

La adquisición de grandes conjuntos de imágenes de microscopía en los últimos años ha impulsado la necesidad de llevar a cabo estudios visuales computacionales de los mismos [1]. Esto abre camino a una serie de herramientas capaces de obtener información automática y de apoyo a la toma de decisiones en el área de bioimágenes [2][3].

La automatización de procesos, como parte de la innovación tecnológica, implica el uso de algoritmos para realizar tareas específicas, siendo esta práctica popularmente utilizada en tareas repetitivas [2]. Algunos procedimientos llevados a cabo en laboratorios son largos, exhaustivos y repetitivos donde la automatización de diferentes procesos se ha vuelto fundamental. En este contexto, el análisis de imágenes digitales junto al Machine Learning (ML) y Deep Learning (DL) juegan un papel importante en el estudio de patrones relevantes para el especialista [4].

En la bibliografía podemos encontrar diversos enfoques en la aplicación de la automatización mediante el análisis de imágenes digitales. Por ejemplo, trabajos que brindan una respuesta a la caracterización de marcadores celulares a través de algoritmos basados en color, textura, forma y contraste [5][6]. Asimismo existen trabajos que lo hacen a través de Inteligencia Artificial (AI) con aprendizaje supervisado y semi supervisado. Diversos trabajos muestran diferentes técnicas de Machine learning (ML) en el análisis de imágenes celulares [7]. En particular modelos de Deep learning (DL) construidos con redes neuronales convolucionales para obtener patrones característicos de los elementos a reconocer y luego clasificarlos, abarcando

aplicaciones generales [8], análisis celular [9][10], y tracking celular [11].

De las técnicas mencionadas anteriormente, existen aquellas enfocadas en la segmentación de objetos [11][4] y aquellas que se enfocan en la detección [12][11], ambas tareas conforman un primer paso importante para un posterior análisis acorde a las necesidades del especialista.

Particularmente sobre el reconocimiento y detección de núcleos celulares existen competencias como el Data Science Bowl 2018 [13], gracias a la cual, modelos como Mask-RCNN [14] pudieron ser entrenados para detectar y segmentar simultáneamente núcleos divergentes de diferentes fuentes visuales para el desarrollo y descubrimiento médico.

En base a los trabajos mencionados, entre otros, se considera que el procesamiento digital de imágenes integrado con técnicas de inteligencia artificial pueden ofrecer un conjunto de soluciones relevantes para el análisis automático de imágenes médicas y biomédicas.

2. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

Las principales líneas de investigación del proyecto abordan la exploración de técnicas capaces de realizar el análisis automático de comportamientos y objetos presentes en las imágenes microscópicas.

En este contexto, los especialistas genetistas son importantes a la hora de brindar el conocimiento técnico propio de su área con la finalidad de aportar al análisis automático a través de la generación del groundtruth (verdad de campo) de los datos.

Entre los procedimientos involucrados en la investigación se encuentra el uso de técnicas de procesamiento de imágenes

asociadas a la mejora de visualización y el realce de características propias de objetos microscópicos.

Otro proceso de investigación importante es el estudio de modelos de Inteligencia Artificial, sean supervisados o no supervisados, con la idea de elegir los más apropiados para la extracción de descriptores de marcadores celulares y su caracterización. En esta etapa, la preparación de datos y etiquetado de objetos sobre los cuales se trabaje, es una tarea que requiere tiempo y supervisión del genetista, además de ser fundamental para este tipo de modelos. Se plantea reducir los tiempos a través de técnicas automáticas o semiautomáticas.

El aporte central de esta investigación es el diseño de un modelo basado en visión e inteligencia artificial que permita automatizar procesos de laboratorio. Este modelo, destinado a obtener datos e información relevante sobre marcadores celulares, se aplicará a imágenes de microscopía proporcionadas por expertos. Permitiendo el desarrollo de técnicas automáticas de segmentación y caracterización celular que funcione como soporte a la toma de decisiones.

3. RESULTADOS OBTENIDOS/ESPERADOS

A través de este proyecto proponemos realizar un modelo basado en técnicas de visión e inteligencia artificial, para la obtención de datos e información de marcadores celulares sobre imágenes microscópicas y que permitirá segmentar y caracterizar células de forma automática.

Actualmente el equipo se encuentra trabajando sobre este modelo con un conjunto de imágenes brindadas por el CIBA-UNNOBA, con la finalidad de detectar comportamientos celulares de

forma automática. Específicamente con el objetivo de analizar automáticamente los patrones de proliferación y diferenciación celular de células progenitoras neurales (NPC), células extraídas de ratones adultos, cultivadas in vitro y provenientes del área cerebral vinculada con el aprendizaje y memoria, el hipocampo.

La proliferación celular se trata de un proceso por el cual una célula crece y se divide para producir dos células hijas. Donde se debe detectar y contar el número de núcleos celulares proliferantes sobre el número de núcleos total de la imagen.

La diferenciación celular se trata de un proceso por el cual las células cambian de un tipo celular a otro (neuronas, astrocitos, oligodendrocitos). Donde se debe distinguir entre cada tipo de célula.

Para llevar a cabo el análisis, se utilizaron imágenes de microscopía de fluorescencia, donde principalmente se muestran núcleos celulares marcados a través de un tinte denominado DAPI. Estas imágenes se utilizaron tanto en el análisis de proliferación como de diferenciación de las NPC.

Para reconocer los núcleos DAPI se entrenó una red neuronal convolucional de detección y segmentación de objetos. El etiquetado de núcleos se implementó de forma semiautomática, aplicando una técnica de Superpixel y luego refinando las segmentaciones a partir de un proceso manual, lo cual permitió armar un conjunto de datos de 44 imágenes con 3546 etiquetas en total.

Para analizar la proliferación se utilizaron además imágenes de núcleos marcados con Bromodeoxiuridina (BrdU) la cual nos brindó la información sobre qué células son las que proliferaron. Una vez entrenado el modelo de detección de núcleos DAPI, sobre esas segmentaciones

se analizó la presencia del marcador BrdU con el clusterizador k-means utilizando características de color y contraste.

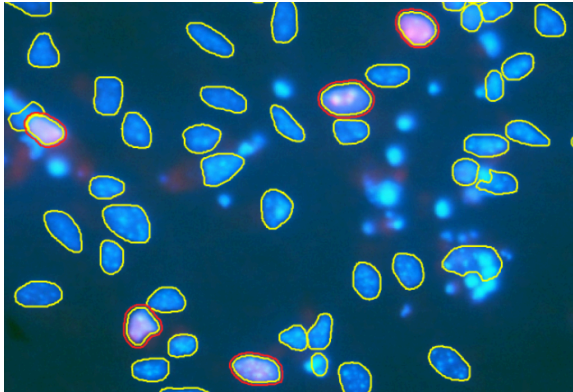


Figura 1. Imagen resultado del análisis automático de proliferación celular de NPC. En amarillo los segmentos de núcleos celulares y en rojo los segmentos de núcleos celulares proliferantes.

Para analizar la diferenciación se debe reconocer además de los núcleos teñidos con DAPI, otros tipos celulares (neuronas, astrocitos, oligodendrocitos). Donde se espera poder entrenar una red neuronal convolucional que permita diferenciarlos.

4. FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS

Se espera formar recursos humanos interdisciplinarios con una visión global de la problemática planteada y la solución propuesta. En particular en el nodo tecnológico se capacitaron investigadores específicamente en el uso de herramientas de visión e inteligencia artificial. También en el entendimiento y reconocimiento celular a través de imágenes por parte de los genetistas.

El equipo de trabajo está compuesto por investigadores formados y en proceso de formación y becarios del CONICET.

Dentro de los temas presentados en esta línea de investigación se ha presentado un trabajo de final de grado de Licenciatura

en Genética y actualmente se encuentran en desarrollo dos tesis doctorales.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Allalou and C. Wählby, "BlobFinder, a tool for fluorescence microscopy image cytometry", *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 94, no. 1, pp. 58-65, 2009. Available: [10.1016/j.cmpb.2008.08.006](https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2008.08.006).
- [2] S. Harrer, P. Shah, B. Antony and J. Hu, "Artificial Intelligence for Clinical Trial Design", *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 40, no. 8, pp. 577-591, 2019. Available: [10.1016/j.tips.2019.05.005](https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.05.005).
- [3] T. Fuchs and J. Buhmann, "Computational pathology: Challenges and promises for tissue analysis", *Computerized Medical Imaging and Graphics*, vol. 35, no. 7-8, pp. 515-530, 2011. Available: [10.1016/j.compmedimag.2011.02.006](https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2011.02.006).
- [4] N. Xie, X. Li, K. Li, Y. Yang and H. Shen, "Statistical Karyotype Analysis Using CNN and Geometric Optimization", *IEEE Access*, vol. 7, pp. 179445-179453, 2019. Available: [10.1109/access.2019.2951723](https://doi.org/10.1109/access.2019.2951723).
- [5] G. Chadha, A. Srivastava, A. Singh, R. Gupta and D. Singla, "An Automated Method for Counting Red Blood Cells using Image Processing", *Procedia Computer Science*, vol. 167, pp. 769-778, 2020. Available: [10.1016/j.procs.2020.03.408](https://doi.org/10.1016/j.procs.2020.03.408).
- [6] A. Haghofar, S. Dorl, A. Oszwald, J. Breuss, J. Jacak and S. Winkler, "Evolutionary optimization of image processing for cell detection in microscopy images", *Soft Computing*, 2020. Available: [10.1007/s00500-020-05033-0](https://doi.org/10.1007/s00500-020-05033-0).
- [7] A. Kan, "Machine learning applications in cell image analysis",

Immunology & Cell Biology, vol. 95, no. 6, pp. 525-530, 2017. Available: 10.1038/icb.2017.16.

[8] F. Xing, Y. Xie, H. Su, F. Liu and L. Yang, "Deep Learning in Microscopy Image Analysis: A Survey", IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems, vol. 29, no. 10, pp. 4550-4568, 2018. Available: 10.1109/tnnls.2017.2766168.

[9] E. Moen, D. Bannon, T. Kudo, W. Graf, M. Covert and D. Van Valen, "Deep learning for cellular image analysis", Nature Methods, vol. 16, no. 12, pp. 1233-1246, 2019. Available: 10.1038/s41592-019-0403-1.

[10] A. Gupta et al., "Deep Learning in Image Cytometry: A Review", Cytometry Part A, vol. 95, no. 4, pp. 366-380, 2018. Available: 10.1002/cyto.a.23701.

[11] H. Tsai, J. Gajda, T. Sloan, A. Rares and A. Shen, "Usiigaci: Instance-aware cell tracking in stain-free phase contrast microscopy enabled by machine learning", SoftwareX, vol. 9, pp. 230-237, 2019. Available: 10.1016/j.softx.2019.02.007.

[12] G. Mata et al., "Automated Neuron Detection in High-Content Fluorescence Microscopy Images Using Machine Learning", Neuroinformatics, vol. 17, no. 2, pp. 253-269, 2018. Available: 10.1007/s12021-018-9399-4.

[13] Kaggle.com. 2022. 2018 Data Science Bowl | Kaggle. [online] Available at: <<https://www.kaggle.com/c/data-science-bowl-2018>> [Accessed 22 March 2022].

[14] Jeremiah W. Johnson, "Adapting Mask-RCNN for Automatic Nucleus Segmentation", Advances in Intelligent Systems and Computing, 2020. Available: 10.1007/978-3-030-17798-0