

Машинное обучение по текстурным признакам в задаче детектирования нейронов на срезах мозга, окрашенных по Нисслию

С.А. Носова, В.Е. Турлапов

svetlana.nosova@itmm.unn.ru | vadim.turlapov@itmm.unn.ru

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*Рассматривается задача детектирования и классификации нейронов на срезах мозга мыши окрашенных по Нисслию в оптической микроскопии. Исследуется применение в этой задаче алгоритмов машинного обучения в сочетании с использованием текстурных признаков объекта. Предложенный метод включает в себя два основных шага: классификацию пикселей и детектирование центров нейронов. На этапе классификации при помощи алгоритма k ближайших соседей (kNN) определяется принадлежность каждого пикселя телу нейрона. В работе исследованы 3 типа текстурных признаков, построенных на основе: нормализованной гистограммы; структурного тензора; их комбинации. Для нахождения центров нейронов все пиксели, принадлежащие нейронам, кластеризуются при помощи алгоритма сдвига среднего (*mean shift*). Эксперименты показали, что наилучшее качество детектирования достигнуто при использовании комбинированных текстурных признаков (по гистограмме+структурный тензор) с радиусом окрестности $R=7$ со следующими показателями качества: $recall = 0,77$; $precision = 0,79$; $F1\ score = 0,78$. На рассматриваемом наборе данных выбор параметра $k > 15$ не дает существенного повышения качества детектирования. Показано, что kNN является наилучшим классификатором для предложенного алгоритма детектирования по сравнению с байесовским классификатором (NBC) и машиной опорных векторов (SVM).*

Ключевые слова: обработка изображений, срез мозга, оптическая микроскопия, окрашивание по Нисслию, нейроны мозга, детектирование, классификация, кластеризация, машинное обучение, kNN , текстурный анализ, гистограмма, структурный тензор

Machine learning by textural features in the task of detecting neurons on brain slices stained by Nissl

S.A. Nosova, V.E. Turlapov

svetlana.nosova@itmm.unn.ru | vadim.turlapov@itmm.unn.ru

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russian Federation

The problem of detecting and classifying neurons on mouse brain sections stained by Nissl in optical microscopy is considered. The application in this problem of machine learning algorithms in combination with the use of textural features of the object is investigated. The proposed method includes two main steps: the classification of pixels and the detection of neuron centers. At the stage of classification using the k nearest neighbors (kNN) algorithm determines the belonging of each pixel to the neuron's body. In the paper, 3 types of textural features were constructed, based on: a normalized histogram; structural tensor; their combination. To find the centers of neurons, all the pixels belonging to the neurons are clustered using the mean shift algorithm. The experiments showed that the best detection quality was achieved using combined textural features (histogram + structural tensor) with a radius of neighborhood $R = 7$ with the following quality indicators: $recall = 0.77$; $precision = 0.79$; $F1\ score = 0.78$. On the data set under consideration, the choice of the parameter $k > 15$ does not significantly improve the detection quality. It is shown that kNN is the best classifier for the proposed detection algorithm in comparison with the Bayesian classifier (NBC) and the support vector machine (SVM).

Keywords: image processing, brain slice, optical microscopy, Nissl staining, brain neurons, detection, classification, clustering, machine learning, kNN , textural analysis, histogram, structural tensor.

1. Введение и обзор литературы

Первыми задачами обработки изображений срезов коры мозга, окрашенных по Нисслию, являются: определение границ слоев коры мозга; детектирование и классификация нейронов, сбор статистики о расположении нейронов. Стоит отметить высокую техническую сложность процедуры окрашивания по Нисслию и, как следствие, отсутствие для него формализованной процедуры классификации нейронов и астроцитов.

В данной работе рассматривается задача автоматизации детектирования нейронов. Выбор методов решения задачи зависит от рассмотрения двух вопросов: особенности нейронов как объектов на изображении и качества тренировочных данных (знаний), полученных от специалиста.

Задача детектирования нейронов осложняется следующими особенностями:

1. Нейроны различны по форме.
2. Размеры нейронов на одном изображении могут различаться более, чем в 2 раза.
3. Изображения тел нейронов часто перекрываются
4. Изображения тел нейронов могут иметь низкую контрастность с фоном.
5. Изображения нейронов одного типа могут иметь значительные различия в гистограмме.
6. Изображения нейронов могут иметь “пустоты” внутри своих тел.

С точки зрения качества решения задач детектирования и классификации, наилучшим вариантом является большой размер тренировочной базы, когда потрачены значительные ресурсы на качественную разметку объектов (десятки-сотни сложных объектов, тысячи простых). В этом случае для решения задач детектирования сегодня часто используются различные варианты глубокого обучения [1] или комплексные методы машинного обучения [5].

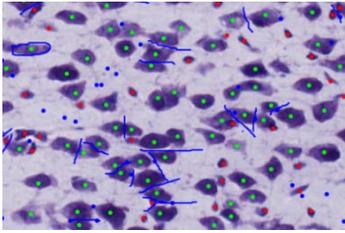


Рис. 1. Пример разметки специалистом. Зеленый цвет – центр нейрона, красный цвет – другие объекты, синий цвет – фон и точки, не являющиеся центрами нейронов

В случае меньших ресурсов на разметку и соответственно при меньшем объеме тренировочной базы и задача традиционно решается методами машинного обучения, в том числе, к ближайших соседей (kNN) [10], машина опорных векторов (SVM) [7].

Когда образцы разметки единичны или отсутствуют, приходится производить довольно обширное исследование признаков, обеспечивающих приемлемую надежность детектирования и классификации объектов. В этом случае для исследования применяются классические методы обработки изображений, например, методы водораздела [9], математической морфологии, поиск по шаблону и др. [8].

Исследование в данной работе относится ко второму (среднему) случаю. Пример разметки приведен на Рис. 1.

Предложенный метод состоит из двух этапов: классификация пикселей, принадлежащих телам нейронов и нахождение центров кластеров пикселей. На этапе классификации пикселей используется метод к ближайших соседей (kNN) [3]. Каждый пиксель описывается вместе с его окрестностью радиуса R набором текстурных характеристик, которые вычисляются: по гистограмме [13], на основе структурного тензора [11] и комбинации этих двух характеристик.

Для нахождения центров кластеров пикселей используется алгоритм сдвига среднего (mean shift) [4]. Для оценки качества детектирования использованы оценки, описанные в [6].

Для тестирования алгоритма использован набор данных “Mus Musculus” портала BrainMaps [2]. В работе использованы реализации классификаторов библиотеки OpenCV [12].

2. Текстурные признаки

Мы используем текстурные признаки окрестности каждого пикселя для его классификации как пикселя фона или пикселя нейрона. Удобно задавать окрестность пикселя радиусом, но можно также описывать ее как прямоугольную область I изображения размером $N \times N$. Здесь и далее $N=2 \cdot R+1$. Вычисляются следующие текстурные характеристики:

1. На основе *гистограммы*. Строится гистограмма $p(I)$ – распределение интенсивности изображения размером $N \times N$ с центром в текущем пикселе. Вычисляются следующие характеристики гистограммы:

$$\begin{aligned} \text{mean} &= \sum_{i=0}^{255} i * p_i(I); & m2 &= \sum_{i=0}^{255} (i - \text{mean})^2 p_i(I); \\ m3 &= \sum_{i=0}^{255} (i - \text{mean})^3 p_i(I); & m4 &= \sum_{i=0}^{255} (i - \text{mean})^4 p_i(I); \\ \text{stddev} &= \sqrt{m2}; & \text{skewness} &= \frac{m3}{\text{stddev}^3}; & \text{kurtosis} &= \frac{m4}{m2^2} \end{aligned}$$

Вектор $\langle \text{stddev}, \text{skewness}, \text{kurtosis} \rangle$ образует текстурную классификационную характеристику пикселя.

2. На основе *структурного тензора*. Для вычисления текстурной характеристики необходимо:

a. вычислить значения производных I_x и I_y для исходного изображения:

$$\begin{aligned} I_x(i, j) &= I(i, j+1) - I(i, j-1), \quad 0 \leq i \leq N, \quad 0 \leq j \leq N \\ I_y(i, j) &= I(i+1, j) - I(i-1, j), \quad 0 \leq i \leq N, \quad 0 \leq j \leq N \end{aligned}$$

b. найти средние значения

$$\overline{I_x I_x} = \frac{1}{N \cdot N} \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} I_x(i, j) * I_x(i, j)$$

$$\overline{I_y I_y} = \frac{1}{N \cdot N} \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} I_y(i, j) * I_y(i, j)$$

$$\overline{I_x I_y} = \frac{1}{N \cdot N} \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{N-1} I_x(i, j) * I_y(i, j)$$

Вектор $\langle \overline{I_x I_x}, \overline{I_x I_y}, \overline{I_y I_y} \rangle$ образует текстурную

характеристику.

3. *Составная* текстурная характеристика (вектор признаков) строится из двух предшествующих:

$$\langle \text{stddev}, \text{skewness}, \text{kurtosis}, \overline{I_x I_x}, \overline{I_x I_y}, \overline{I_y I_y} \rangle$$

Для все текстурных характеристик выполняется нормировка на основе значений, полученных для объектов из тренировочной базы.

3. Шаг 1. Метод к ближайших соседей

Для предварительной классификации изображения, отделения пикселей, относящихся к нейронам, от всех остальных пикселей, использован метод машинного обучения k ближайших соседей (kNN , k Nearest Neighbor). Этот метод является одним из самых интуитивно понятных алгоритмов классификации. Так как мы используем вектор признаков, то в процедуре kNN применяется следующее правило: для каждого используемого набора признаков в качестве класса выбирается тот класс, за который «проголосовало» наибольшее количество тестовых признаков из k ближайших соседей. В качестве метрики расстояния использована Евклидова метрика.

Пример предварительной разметки приведен на Рис.1. Для каждого пикселя (x, y) разметки вычисляется набор текстурных признаков для области изображения с центром в (x, y) и радиусом R . Результат заносится в тренировочную базу.

4. Шаг 2. Метод сдвига среднего

На данном этапе происходит непосредственное вычисление центров кластеров как центра тяжести пикселей, отнесенных к классу «нейрон» в окрестности радиуса R пикселя x . Процедура поиска центра кластера, к которому относится пиксель x , заключена в следующем:

1. Положить, что x – центр кластера.
2. Вычислить положение $m(x)$ средней плотности пикселей, детектированных как нейрон, из окрестности R текущего пикселя по формуле ниже.

$$K(x) = \begin{cases} 1, & \text{if } \|x\| \leq R \\ 0, & \text{if } \|x\| > R \end{cases}; \quad m(x) = \frac{\sum_{s \in S} K(s-x)s}{\sum_{s \in S} K(s-x)}$$

где s – пиксель из окрестности x , принадлежащий нейрону; S – множество пикселей, детектированных как нейроны, из окрестности радиуса R пикселя x .

3. Вычислить сдвиг среднего $m(x) - x$. Если $|m(x) - x| > \epsilon$, переместить x в точку $m(x)$ и повторить процедуру, начиная с п.2. В противном случае перейти к следующему пикселю.

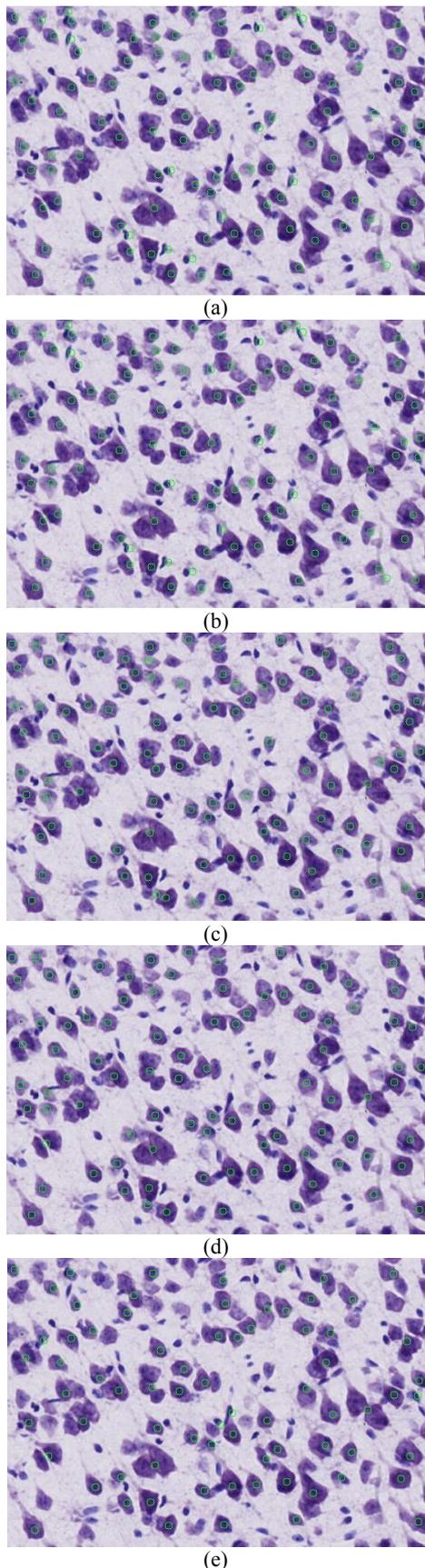


Рис. 3. Результаты детектирования центров нейронов алгоритмом kNN при использовании текстурных характеристик: (a) - по гистограмме, (b) - структурный тензор, (c) – комбинированная; результаты детектирования при использовании комбинированной текстурной характеристики и алгоритма классификации пикселей: (d)–NBC, (e) - SVM

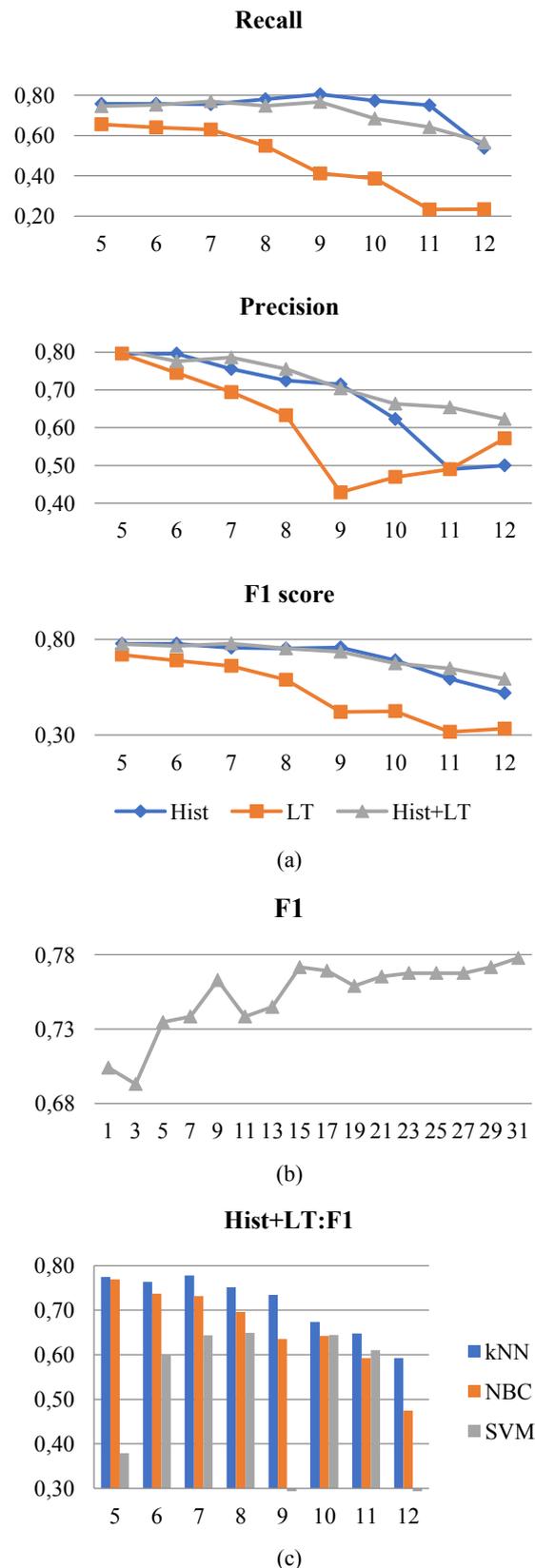


Рис. 2. (a) - показатели качества алгоритма детектирования нейронов; (b) – зависимость качества детектирования от выбора параметра k в алгоритме kNN; (c) - характеристика F1 score результатов детектирования методом kNN, NBC, SVM (с радиальным ядром и максимальным количеством итераций 20)

5. Оценка качества детектирования

Для оценки качества детектирования необходимо вычислить следующие характеристики: количество верных детектированных центров нейронов (TP , true positive), количество ложных детектированных центров нейронов (FP , false positive) и количество недетектированных центров нейронов (FN , false negative) из тестовой базы. Далее вычисляются следующие оценки качества детектирования:

$$Recall = \frac{TP}{TP + FP}$$

$$Precision = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$F1 = \frac{2 * Recall * Precision}{Recall + Precision}$$

Для того, чтобы определить, к какому классу (TP, FP, FN) относится центр, применяется следующая процедура для всех детектированных центров нейронов c_i и размеченных специалистом центров нейронов m_j :

1. Положить $TP = 0, FP = 0, FN = 0$.
2. Для каждого детектированного центра c_i :
 - a. Найти ближайший m_j
 - b. Если $|c_i - m_j| < R_{acc}$, где R_{acc} – средний радиус нейрона; то увеличить TP на 1 и удалить m_j и c_i из рассмотрения. В противном случае, увеличить FP на 1.
3. Для каждого центра m_j , для которого не был найден c_i :
 - a. Увеличить FN на 1.

6. Результаты

Результаты работы алгоритма для разных наборов текстурных признаков представлены на Рис. 3. Зависимости качества детектирования от выбранного радиуса R оценки текстурных характеристик представлены на Рис. 2(a).

Зависимость качества детектирования от выбора параметра k представлена на Рис. 2(b). Результаты измерения качества детектирования для $R=7$ при использовании классификатора kNN при $k=31$, байесовского классификатора для величин, распределенных по нормальному закону (NBC, [14]) и машиной опорных векторов (SVM, [14]) с радиальным ядром и остановкой по максимальному количеству итераций 20 представлены на Рис. 2(c).

7. Заключение

Предложен алгоритм для детектирования центров нейронов на основании принадлежности пиксела к изображению нейрона по текстурным признакам. Алгоритм состоит из двух основных шагов: классификации пикселей при помощи алгоритма kNN (препроцессинг) и применение алгоритма mean shift для кластеризации полученных пикселей (непосредственно фаза детектирования нейрона).

Эксперименты показали, что наилучшее качество детектирования достигается при использовании комбинированной текстурной характеристики (по гистограмме+структурный тензор) с использованием радиуса рассматриваемой окрестности $R=7$ со следующими показателями качества: recall = 0,77; precision = 0,79; F1 score = 0,78. Сравнение результатов использования алгоритмов kNN , NBC, SVM для классификации пикселей показало, что наилучшее качество детектирования нейронов достигается при использовании kNN . На рассматриваемом наборе данных выбор параметра $k > 15$ не дает существенного повышения качества детектирования.

Качество детектирования является приемлемым для задач подсчета количества нейронов в различных участках мозга, для особей различного возраста. Тем не менее, вопрос оптимальности выбора текстурных признаков, по критерию качества детектирования, остается открытым. Планируется исследование текстурных признаков Лавса и текстурных признаков, построенных на матрице взаимной встречаемости.

8. Литература

- [1] Akram S.U., Kannala J., Eklund L., Heikkilä J., 2016. Cell Segmentation Proposal Network for Microscopy Image Analysis. In: Carneiro G. et al. (eds) Deep Learning and Data Labeling for Medical Applications. LABELS 2016, DLMIA 2016. Lecture Notes in Computer Science, vol 10008. Springer, Cham. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-46976-8_3
- [2] BrainMaps: An Interactive Multiresolution Brain Atlas; <http://brainmaps.org> [retrieved on 15.05.2018]
- [3] Bo Yang Yu, Caglar Elbuenen, Carolyn L. Ren, Jan Paul Huissoon, "Image processing and classification algorithm for yeast cell morphology in a microfluidic chip," Journal of Biomedical Optics 16(6), 066008 (1 June 2011). <https://doi.org/10.1117/1.3589100>
- [4] Cheng Y. Mean Shift, Mode Seeking, and Clustering, IEEE Trans. Pattern Anal. Machine Intel l., vol. 17, 790-799, 1995.
- [5] Inglis A., et al., 2008. Automated identification of neurons and their locations. Journal of Microscopy. Jun;230(Pt 3):339-52. doi: 10.1111/j.1365-2818.2008.01992.x.
- [6] Jiao, Y. & Du, P. Quant Biol (2016) 4: 320. <https://doi.org/10.1007/s40484-016-0081-2>
- [7] Han, J.W., Breckon, T.P., Randell, D.A. et al. Machine Vision and Applications (2012) 23: 15. <https://doi.org/10.1007/s00138-010-0275-y>
- [8] He, Y. et al., 2015. iCut: an Integrative Cut Algorithm Enables Accurate Segmentation of Touching Cells. Sci. Rep. 5, 12089; doi: 10.1038/srep12089.
- [9] Li S., Wu L., Sun Y. Cell Image Segmentation Based on an Improved Watershed Transformation. 2010 International Conference on Computational Aspects of Social Networks. doi : 10.1109/CASoN.2010.28
- [10] Li J, Tseng K-K, Hsieh ZY, Yang CW, Huang H-N (2014) Staining Pattern Classification of Antinuclear Autoantibodies Based on Block Segmentation in Indirect Immunofluorescence Images. PLoS ONE 9(12): e113132. doi:10.1371/journal.pone.0113132
- [11] Luo F, Sun J, Hou S. Medical Images Fusion with Patch Based Structure Tensor. The Open Biomedical Engineering Journal. 2015;9:199-203. doi:10.2174/1874120701509010199.
- [12] OpenCV(Open Source Computer Vision Library), 2018. <https://opencv.org/>
- [13] Park BE, Jang WS, Yoo SK. Texture Analysis of Supraspinatus Ultrasound Image for Computer Aided Diagnostic System. Healthcare Informatics Research. 2016;22(4):299-304. doi:10.4258/hir.2016.22.4.299.
- [14] Джеймс Г., Уиттон Д., Хасти Т., Тибишрани Р. Введение в статистическое обучение с примерами на языке R. Изд. второе, испр. - М.: ДМК Пресс, 2017.- 456с.

Об авторах

Турлапов Вадим Евгеньевич, д.т.н., профессор кафедры математического обеспечения и суперкомпьютерных технологий ННГУ им.Н.И.Лобачевского, email: vadim.turlapov@itmm.unn.ru

Носова Светлана Александровна, аспирант 2 года, ИИТММ ННГУ им.Н.И.Лобачевского, email: svetlana.nosova@itmm.unn.ru