

Revolucionando las imágenes de microscopía con inteligencia artificial

Aportes recientes en el uso de los algoritmos de inteligencia artificial para mejorar la calidad en imágenes de microscopía



Autores: BRUNETTO, Gisela M; WILKE, Natalia y RULLONI, Valeria S.

Filiación Institucional: Departamento de Matemáticas de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; Dpto. de Química Biológica Ranwel Caputto, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. CIQUIBIC-CONICET. Córdoba, Argentina.

Contacto: gbrunetto@exa.unrc.edu.ar; natalia.wilke@unc.edu.ar; vrulloni@unc.edu.ar

El campo de la *inteligencia artificial* (IA) busca recrear las poderosas capacidades del cerebro en las máquinas, y actualmente los términos aprendizaje automático e IA a menudo se usan indistintamente (1). A medida que la tecnología basada en IA gana más atención en la comunidad académica, trabajos pioneros que combinan esta poderosa herramienta con métodos de microscopía han logrado resultados notables. En este mundo de posibilidades, muchas propuestas utilizan en conjunto herramientas matemáticas, estadísticas y computacionales para mejorar la calidad de imágenes de microscopía.

Desde principios del siglo XXI, el uso de la microscopía en imágenes digitales se ha extendido ampliamente en el campo de las biociencias y el análisis de datos de imágenes se ha vuelto cada vez más importante. Mucho antes de que estas tecnologías estuvieran disponibles, a partir del siglo XVII, se ha intentado dilucidar la organización estructural de los organismos vivos para lograr comprender su funcionamiento. La microscopía óptica se ha convertido en una herramienta popular generando imágenes de muestras biológicas y de organismos vivos que en un momento se habían limitado al análisis cualitativo. Tal como se define en el texto de Kota Miura (2), en el campo del procesamiento de imágenes, el análisis de imágenes es una técnica para identificar objetos y patrones en imágenes mediante el uso de una computadora. A la luz de esta definición, el análisis de imágenes tiene como objetivo imitar la forma en que vemos el mundo y cómo identificamos sus estructuras visibles. Debido a su complejidad, este objetivo no puede ser abordado por una sola disciplina; se necesita un enfoque interdisciplinario con aportes de informáticos, biólogos, químicos, físicos, matemáticos, médicos y biotecnólogos.

La integración de los equipos de microscopía con computadoras ha permitido realizar análisis cuantitativos de imágenes mediante herramientas incluidas en softwares especializados, que incorporan algoritmos muy potentes actualmente disponibles. La precisión y objetividad logradas al extraer datos numéricos de esta manera se lo llama análisis de imágenes basado en computadora, y permiten determinar formas, distribuciones y dinámicas a partir de imágenes multidimensionales capturadas a través de los microscopios. La microscopía óptica, en particular la confocal, es una de las herramientas más populares e importantes dentro del campo de las bioimágenes,



permitiendo capturar con gran detalle las células, tejidos y organismos tanto *in vitro* como *in vivo* en tiempo real. Sin embargo, la resolución de este tipo de microscopía está limitada a $0,2\ \mu\text{m}$ debido a la longitud de onda de la fuente de iluminación (límite de difracción). En el caso de imágenes 3D, la resolución en el eje de penetración de la muestra es aún menor. Además, lograr una imagen con buena resolución implica escanear la imagen en forma lenta, lo cual hace inviable el seguimiento de procesos dinámicos. Estas limitaciones de resolución espacial y temporal acotan las utilidades de la microscopía óptica.

En los últimos años se han desarrollado técnicas que permiten obtener imágenes con mayor resolución que la dada por el límite de difracción, llamadas de superresolución o nanoscopias. Otra forma de aumentar la resolución de una imagen es mediante su restauración, es decir, el aumento de la resolución mediante un conjunto de herramientas matemáticas, estadísticas y computacionales. Se entiende por restauración a la búsqueda de una imagen que represente fielmente al sistema real a partir de la imagen obtenida (3). Es una técnica de procesamiento de imágenes que considera a la imagen observada como una modificación o un porcentaje de la que verdaderamente se quiere obtener. Los factores que pueden hacer que una imagen no represente adecuadamente al sistema real están asociados a las limitaciones de la técnica empleada (del sistema de captación o al mecanismo de construcción de la imagen), y a factores del entorno, los cuales pueden provocar distorsiones, interferencias, errores o pérdida de información.

Una tarea de restauración de imágenes que ha atraído una atención creciente en la comunidad de investigación e industria es la denominada *superresolución de una imagen*. Este tipo de tarea busca mejorar la resolución de imágenes y puede dividirse típicamente en tres categorías (4): métodos basados en interpolación (crean nuevos píxeles entre los píxeles existentes usando promedios), métodos basados en reconstrucción (intentan reconstruir la imagen original a partir de una versión de baja resolución, basándose en ciertas suposiciones o modelos) y métodos basados en aprendizaje, en el cual pondremos el foco.

¿Qué son los métodos basados en aprendizaje?

Para responder esta pregunta es necesario indicar a qué nos referimos con inteligencia artificial. La IA se trata de programas informáticos diseñados para imitar la inteligencia humana y realizar tareas de manera autónoma, lo que actualmente se reconoce como IA son algoritmos de aprendizaje automático usados para resolver problemas similares a los que sabemos resolver los seres humanos. Lo que conocemos como algoritmo, no es otra cosa que una receta que puede replicar una computadora en situaciones similares (5). Muchos de los sistemas de IA actuales emplean técnicas de aprendizaje automático orientadas a resolver problemas específicos, entre las cuales se incluye el aprendizaje profundo (deep learning, en inglés), el cual se basa en modelos computacionales llamados *redes neuronales* que originalmente se inspiraron en los mecanismos de aprendizaje y procesamiento de información en el cerebro humano (1). Esta idea proviene del conexionismo (6), que sostiene que el procesamiento y almacenamiento de información dependen de las conexiones entre neuronas. En las redes neuronales artificiales, la unidad básica es un modelo simplificado de una neurona biológica que, aunque es mucho más sencilla, captura los elementos esenciales para realizar tareas lógicas.

Actualmente existe una amplia diversidad de redes neuronales adaptadas al procesamiento de imágenes. En la **Figura 1**, a modo de ejemplo, se muestra un esquema básico de una red neuronal para clasificar imágenes inspirado en James y otros (7). Primero, la red detecta detalles simples en la imagen, como bordes o colores. Luego, combina estos detalles para reconocer partes más grandes, como orejas, trompa u ojos. Finalmente, usa esta información para decidir si la imagen muestra un “elefante” o no. En los últimos años, se ha puesto el foco en la utilización de estas técnicas no sólo en el ámbito de clasificación de imágenes sino también para mejorar su calidad, donde la salida ya no es una etiqueta (“elefante” o “no elefante”) sino una imagen de mejor calidad respecto de la que se ingresó a la red.

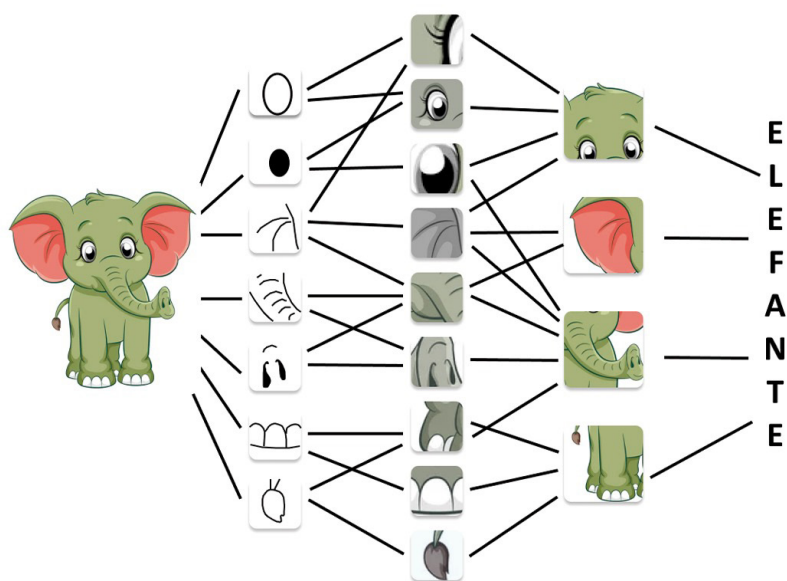


Figura 1.

Red neuronal de clasificación

Esquema simplificado que muestra cómo una red neuronal clasifica la imagen de un elefante.

En el campo de la superresolución de imágenes de microscopía, en particular la confocal, los algoritmos de aprendizaje automático pueden ayudar a incrementar la calidad de las imágenes permitiendo distinguir señales provenientes de diferentes organelas, así como determinar el movimiento de especies dentro de la célula. En este sentido, muchas investigaciones se han enfocado en utilizar y reformular estructuras de redes neuronales que se adapten a estos objetivos, por ejemplo en el artículo de Dong (8) propusieron un modelo de red para superresolución de imágenes digitales genéricas mientras que, Li y colaboradores (4) diseñaron una arquitectura de red específica para superresolución de imágenes confocales inspirándose principalmente en el trabajo de Dong.

¿En qué coinciden estos dos enfoques?

en que ambos intentan construir una imagen de alta resolución aprendiendo a partir de imágenes de menor resolución. Tanto en un enfoque como en el otro, una de las tareas más arduas para cualquier investigador que utilice algoritmos de aprendizaje automático es definir qué estructuras o combinaciones de ellas utilizará para afrontar el problema en cuestión. Los resultados que se obtienen con las técnicas de aprendizaje automático son asombrosos en comparación con los métodos tradicionales. Además, muchas de las arquitecturas de red pueden adaptarse y funcionar eficazmente también para tipos de imágenes distintas a las utilizadas para su construcción. Un tipo de red utilizada con mucho éxito en las investigaciones donde los esfuerzos se centran en mejorar la calidad de las imágenes se muestra en la Figura 2, este tipo de arquitectura ha sido propuesta recientemente y se basa en la implementación de dos redes antagónicas las cuales compiten entre sí para mejorar su tarea y superarse mutuamente. La función de una de las redes, llamada generadora, es registrar y modificar los datos dando lugar a muestras realistas (imágenes, en nuestro caso), mientras que la segunda red, nombrada discriminadora, trata de identificar si las muestras son originales o generadas por la primera red (9). En este tipo de arquitecturas, la red generativa puede pensarse como análoga a un equipo de falsificadores, tratando de producir una moneda falsa y utilizarla sin ser detectada, mientras que la red discriminativa es análoga a la policía, tratando de detectar la moneda falsa. La competencia en este juego impulsa a ambos equipos a mejorar sus métodos hasta que las falsificaciones sean indistinguibles de las monedas genuinas. En la Figura 2, el primer cuadro a la izquierda representa la entrada de ruido aleatorio, que es una distribu-

ción de datos sin estructura específica y sirve como punto de partida para que la red generadora cree imágenes nuevas (imagen generada). El generador toma el ruido aleatorio y lo transforma a través de varios nodos de procesamiento (círculos verdes) para crear una imagen nueva (nodo amarillo de salida). Por otro lado, el discriminador recibe tanto la imagen generada como imágenes reales y las procesa a través de varios nodos (verdes y rojos) para clasificar si una imagen es real o generada (falsa), esta etapa está representada por el nodo morado. Las conexiones negras indican el flujo de información entre los distintos nodos.

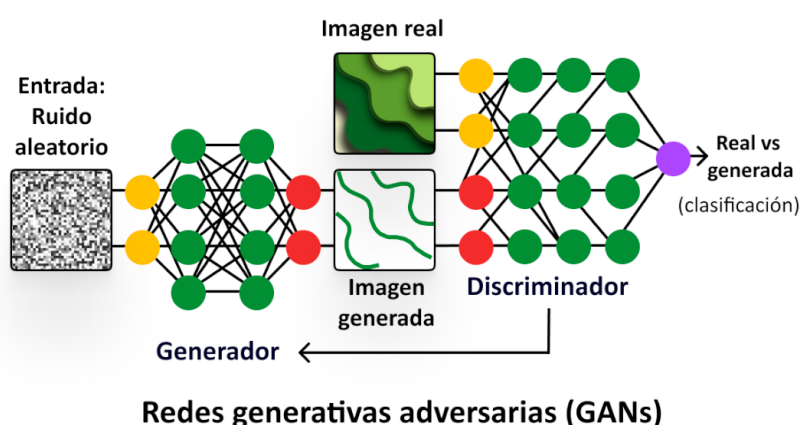


Figura 1.

Red neuronal aplicada a tareas con imágenes

Esquema simplificado de una arquitectura basada en dos redes antagónicas. Los círculos representan los nodos que procesan la información de la imagen de entrada y de la imagen real tomada de un conjunto de imágenes de entrenamiento (reales); las líneas indican el flujo de información.

Las arquitecturas de vanguardia muestran que los mejores resultados surgen a partir de la fusión de técnicas. El trabajo de Li y sus colaboradores (4) es un buen ejemplo de esto. En su estudio, utilizan una red principal que en esencia es similar a la que mostramos en la Figura 2, pero añaden tres módulos o subredes adicionales. Estos módulos se encargan de tareas específicas para extraer características y asegurar que una imagen de baja resolución reconstruida por la red sea lo más parecida a su análoga con mejor resolución. Las comparaciones de tipos de arquitecturas de red que se realizan en este tipo de investigaciones para mostrar los resultados de los trabajos no excluyen a los métodos tradicionales utilizados para mejorar la calidad de las imágenes, por ejemplo las técnicas de interpolación, ya que además de usarse para aumentar la resolución, también son muy útiles para el preprocesamiento de la imagen de baja resolución debido a que disminuyen distorsiones que se generan cuando los nuevos píxeles añadidos para aumentar la resolución de la imagen crean bordes irregulares y escalonados en lugar de líneas suaves (10).

Hasta aquí hemos mostrado sólo una parte del universo que implica fusionar los algoritmos de IA con microscopía óptica, sin embargo, al ser un área interdisciplinaria las propuestas para mejorar la calidad de las imágenes están en continuo crecimiento. Actualmente hay un creciente interés en trabajar con arquitecturas de redes neuronales basadas en *grafos*, los cuales son estructuras matemáticas que representan la relación que existe entre una colección de puntos (nodos) unidos de a pares por medio de una línea (arista). Los grafos combinados con algoritmos de

aprendizaje automático forman una herramienta muy poderosa en el campo del deep learning, incluso se destaca su notable potencia al reducir los costos computacionales y de tiempo necesarios para procesar la información. La idea principal detrás del funcionamiento de este tipo de redes es simple: se representa una imagen como un grafo, cada nodo es un píxel y las aristas representan la cercanía entre los píxeles. Y luego en cada paso del algoritmo, cada nodo (píxel) del grafo recoge información de los píxeles cercanos (conectados por aristas). A medida que se dan más pasos, cada nodo o píxel acumula información de píxeles más lejanos en la imagen (11). En este contexto, el grafo capta la estructura de relación de los píxeles de una imagen y puede ayudarnos a predecir mejor la información contenida en un píxel o de un grupo de píxeles a partir de la información que brindan los del entorno y así, aumentar la calidad de la imagen. En la Figura 3 mostramos, a modo de ejemplo, un esquema muy sencillo del trabajo que se espera de una red cuya tarea sea mejorar la resolución de una imagen de microscopía fusionando grafos con modelos de red como los mencionados. Aquí, la entrada a la red recibe una imagen de baja resolución y luego del proceso devuelve la salida con mejor resolución. En la imagen utilizada se visualiza una muestra de cultivo de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* marcadas en la membrana con la sonda FM4-64, tomada con el microscopio FV1000 (Olympus) instalado en el Centro de Micro y Nanoscopia de Córdoba (CEMINCO). Esta imagen de tamaño real $5,49 \mu\text{m} \times 5,58 \mu\text{m}$ es transformada a otra representación por medio de un grafo. Notar que los píxeles (nodos) con mayor tamaño en el grafo indican que recogen mayor información de los píxeles de su entorno, por lo que se consideran estratégicos para lograr el objetivo principal: aumentar la calidad de la imagen de entrada. Con esta información, la arquitectura de red de abajo (izquierda) deberá ser capaz de generar una imagen de salida que supere la calidad de la imagen de entrada, lo que permitiría estudiar con mejor detalle los diferentes procesos que ocurren en bacterias sometidas a un estrés, y por tanto, mejorar los tratamientos hacia bacterias resistentes a los antibióticos, ofreciendo nuevas herramientas y estrategias para abordar este desafío en la salud pública.

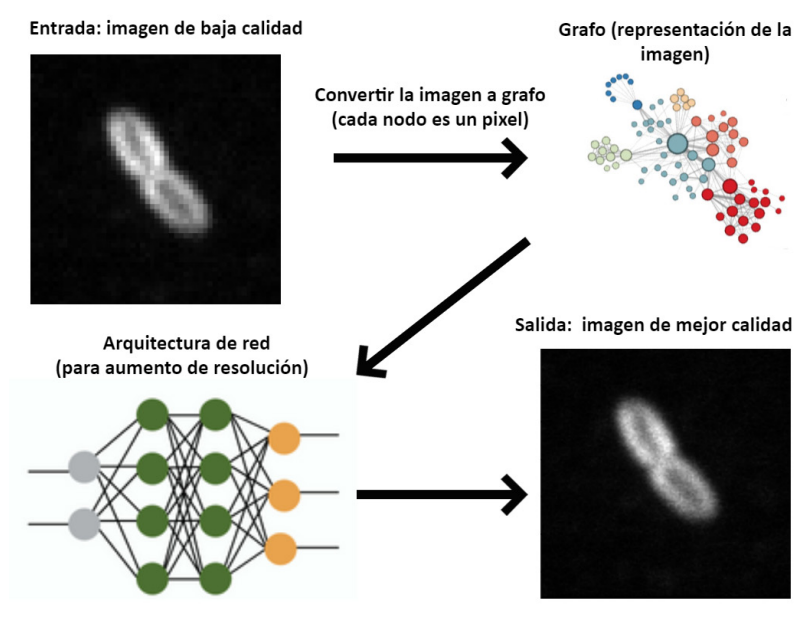


Figura 3.

Esquema de una arquitectura de red con grafos

*La imagen inicial de una muestra de *Pseudomonas aeruginosa* (tamaño real $5,49 \mu\text{m} \times 5,58 \mu\text{m}$) es convertida a un grafo, la información contenida en él (relación entre los nodos y aristas) alimenta a una red especializada en aumento de resolución de imágenes (salida).*

Como intentamos mostrar en este artículo, todavía hay mucho por descubrir en este campo, y las investigaciones actuales enfrentan numerosos desafíos y limitaciones. Estos avances potenciales no solo mejorarán nuestra capacidad para observar y estudiar estructuras biológicas complejas, sino que también abrirán nuevas posibilidades para la investigación en las ciencias médicas, la biotecnología y otras áreas afines. En pos de este desafío se está desarrollando, en conjunto entre el CONICET, el Departamento de Matemáticas de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales y el Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba, una tesis de doctorado que se titula “*Superresolución de imágenes de microscopía confocal combinando Deep Learning y Modelos gráficos de probabilidad*”. Este trabajo de tesis es un desafío interdisciplinario que tiene por objetivo potenciar e integrar conocimientos del área de investigaciones de la biofísicoquímica experimental con herramientas de matemáticas, estadísticas y computacionales avanzadas.

Referencias Bibliográficas

1. Bishop, C. M., and H. Bishop. Deep Learning Foundations and Concepts. Springer, 2024.
2. Miura, Kota. Bioimage Data Analysis. 1st ed., Wiley-VCH, 2016.
3. Rulloni, V. (2014). Texturas de imágenes binarias: síntesis, restauración, inpainting e imputation (Tesis de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería).
4. Li, X., et al. “Fast Confocal Microscopy Imaging Based on Deep Learning.” IEEE Xplore, 2020.
5. Acción, L., Vera, M., & Goldin, A. (2023). Pensar la inteligencia artificial. CONICET. <https://www.conicet.gov.ar/pensar-la-inteligencia-artificial/>
6. Novo, M. L., Alsina, A., Marbán, J. M., & Berciano, B. (2017). Cerebro social e inteligencia conectiva. Comunicar; Revista Científica de Educomunicación, 52(8), 29-39. <https://www.revistacomunicar.com>
7. James, Gareth, et al. An Introduction to Statistical Learning with Applications in Python. Springer, 2024.
8. Dong, C., et al. “Learning a Deep Convolutional Network for Image Super-Resolution.” European Conference on Computer Vision, Springer, 2014, pp. 184–199.
9. Andreu Vilarroig, C. (2019). Diseño y desarrollo de un método de superresolución en imágenes de RM usando deep learning (Trabajo de fin de grado). Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Biomédica.
10. Pérez, P., & Valente, M. (2018). Curso de introducción al procesamiento de imágenes radiológicas en ámbito clínico. <https://www.famafunc.edu.ar>
11. Hamilton, William. Graph Representation Learning. Synthesis Lectures on Artificial Intelligence and Machine Learning, Morgan & Claypool, 2020.

Para citación de este artículo: BRUNETTO, Gisela M; WILKE, Natalia y RULLONI, Valeria S. (2024) "Revolucionando las imágenes de microscopía con inteligencia artificial ", en Revista Bitácora Digital Volumen 11. N° 15. Pp. 80- 85 (FCQ-UNC) Córdoba, Argentina.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento- NoComercial - 4.0 Internacional.