

Contaje de mitosis en imágenes histológicas mediante redes neuronales convolucionales

J.P. Salado García¹, A. Picón Ruiz², A. Bereciartua Pérez², U. Irusta Zarandona¹

¹ Departamento de Ingeniería de Comunicaciones, UPV-EHU, Bilbao, SPAIN, unai.irusta@ehu.eus

² Tecnalia Research & Innovation, Computer Vision Area, Parque Tecnológico de Bizkaia, Derio, 48160 SPAIN
{[artzai.picon](mailto:artzai.picon@tecnalia.com), [aranzazu.bereciartua](mailto:aranzazu.bereciartua@tecnalia.com)}@tecnalia.com

Resumen

El diagnóstico último del cáncer se realiza por los patólogos mediante el análisis de imágenes histológicas. Uno de los marcadores más importantes en el pronóstico y detección temprana del mismo es el denominado grado de proliferación, que se estima mediante el contaje de figuras mitóticas en imágenes histológicas tintadas con hematoxilina y eosina. Los patólogos realizan este contaje de mitosis de manera manual. Este proceso es costoso y subjetivo, existiendo discrepancias entre los expertos. En los últimos años, el aumento de microscopios escáneres ha permitido la digitalización de las muestras histológicas y su posterior procesamiento. En este trabajo se presenta un método para el contaje automático de mitosis en imágenes histológicas. Este método comprende dos fases: 1) selección de regiones candidatas a mitosis basada en técnicas convencionales de procesamiento de imagen; 2) clasificación mediante Redes Neuronales Convolucionales y técnicas de Deep Learning. El método ha sido validado sobre una base de datos con 656 casos, y se ha obtenido una sensibilidad de 0.617 y un valor de F1 de 0.541 en consonancia con el estado del arte.

1. Introducción

El cáncer representa una de las causas más elevadas de mortalidad. El diagnóstico del mismo se realiza mediante el análisis de imágenes histológicas por los patólogos. El grado de proliferación es un marcador relevante para el pronóstico y detección temprana del mismo. Este valor se estima mediante el contaje de figuras mitóticas en imágenes histológicas tintadas con hematoxilina y eosina (H&E). Este proceso, que los patólogos realizan manualmente, es laborioso y subjetivo. El auge de la patología digital, con sus potentes microscopios escáneres, ha posibilitado la digitalización de las muestras histológicas, su posterior procesamiento automático y la aparición de herramientas de soporte al diagnóstico que ayuden a los clínicos en las tareas de su práctica diaria, como el contaje de mitosis.

Existen en el estado del arte algunas aproximaciones al problema [1-3], basadas principalmente en la aplicación del proceso clásico de análisis de imagen: pre-procesamiento, extracción de características de color, textura o forma, y clasificación por diversas técnicas. Los resultados obtenidos tienen baja precisión y se han obtenido sobre un número de imágenes pequeño. La caracterización inequívoca de mitosis es compleja por varias causas. Por una parte, no presentan una forma única

al poder presentarse en 4 fases diferentes (profase, metafase, anafase y telofase). Además, existen en el tejido otros elementos de apariencia similar, tales como los linfocitos. La categorización de cada figura como mitosis o no es compleja, tal y como se muestra en la figura 1. De hecho, existen discrepancias entre los patólogos expertos.

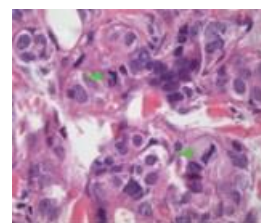


Figura 1. Ejemplo de mitosis (con flecha verde) en imagen histológica junto con otros elementos visualmente similares

En los últimos años se han popularizado técnicas basadas en redes neuronales convolucionales (CNN) integradas dentro de arquitecturas profundas, es lo que se denomina Deep Learning. Estas arquitecturas permiten una extracción de características en las primeras capas y una adaptación de las mismas por parte del clasificador final de forma simultánea imitando en cierta forma al sistema visual humano. Así, se han resuelto problemas de clasificación, detección y segmentación de imágenes hasta ahora irresolubles, obteniendo arquitecturas con una capacidad de generalización mayor de la existente hasta ahora. Se han identificado algunas aplicaciones de esta tecnología a la detección de mitosis [4-5], que mejoran los resultados obtenidos por métodos clásicos. En esta línea, se presenta un nuevo método para la detección automática de figuras mitóticas en imágenes histológicas, que pretende añadir rapidez y precisión.

2. Materiales y métodos

El método propuesto realiza el contaje automático de mitosis en imágenes histológicas tintadas con H&E. El método parte de la imagen digital de la muestra histológica y devuelve la posición de cada mitosis detectada en la imagen. Se describen en este apartado la base de datos de imágenes disponible y el detalle del algoritmo desarrollado.

2.1. Base de datos de imágenes

Para el desarrollo de los algoritmos supervisados de detección de mitosis es imprescindible disponer de bases

de datos de imágenes histológicas con anotaciones de mitosis realizadas por clínicos expertos. Para este trabajo se partió de las imágenes del Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016 (TUPAC16) [6], que en 2016 puso a disposición de la comunidad científica un conjunto de imágenes histológicas de H&E de mama con las mitosis identificadas. Cada una de las figuras mitóticas fue consensuada por, al menos, dos expertos patólogos. Esta base de datos cuenta con 656 muestras histológicas digitalizadas por microscopios Leica SCN400 a una escala de 40x. Dichas muestras provienen de 73 pacientes y 3 instituciones sanitarias diferentes. Se dispone de 1552 mitosis anotadas. Las imágenes están representadas por píxeles de 256 niveles, 8 bits por canal y pueden llegar a tener 5657x5657 píxeles.

Uno de los problemas para procesar las imágenes histológicas es su gran tamaño. Es por tanto necesario establecer estrategias en el procesamiento para trabajar sobre imágenes de menor tamaño y proporcionar una respuesta rápida.

2.2. Descripción del algoritmo

Se ha desarrollado un algoritmo con dos etapas. Por una parte, cuenta con una etapa de procesado de imagen basado en técnicas convencionales de visión artificial. En esta etapa inicial se reduce la dimensionalidad del problema, para ello de la imagen histológica inicial se obtiene un conjunto de sub-imágenes candidato con potenciales mitosis. Estas imágenes candidatas son regiones de 80x80 píxeles que comparten ciertas semejanzas con figuras mitóticas reales. En la segunda etapa, un clasificador basado en CNN determina cuáles de ellas se tratan realmente de figuras mitóticas. Reducir la dimensionalidad del problema reduce el tiempo de procesamiento de las imágenes. La figura 2 recoge el esquema del método desarrollado.

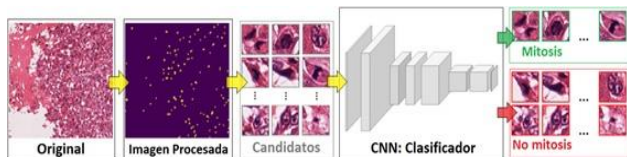


Figura 2. Esquema general del método de conteo de mitosis

2.2.1. Procesamiento inicial. Selección de candidatos

El proceso de extracción de candidatos se muestra en las primeras 3 etapas de la figura 2, y se detalla a continuación.

La selección de candidatos se ha basado en la discriminación de aquellos elementos en la imagen que presentan un color similar a los elementos mitosis. Dada la variabilidad de forma de las mitosis, debido, entre otras, a la posibilidad de estar en 4 fases diferentes, la caracterización de las mismas por descriptores de forma no parece discriminante con respecto a los otros elementos que pueden aparecer en la imagen. Sin embargo, aún en distinta fase, las mitosis siempre presentan el mismo tono. Se ha trabajado con una transformación de espacios de color. En esta etapa inicial, se parte de la imagen histológica digitalizada original en la que el tinte de H&E permite resaltar las características morfológicas. A partir

de la imagen RGB se obtiene una imagen en el espacio HED (Hemoglobina, Eosina, Diaminobencidina) mediante técnicas de deconvolución de [7]. En los canales H y E las diferencias morfológicas entre los elementos celulares se maximizan. Se trabaja con dichos canales a partir de este momento. En el canal H se identifican las zonas que comparten el mismo tono que las mitosis. En el canal E se visualiza el resto de tejidos musculares que no son mitosis. El proceso para ambos canales se detalla a continuación, y se muestra visualmente en la figura 3.

Se aplica un umbralizado sobre el canal E para destacar todas las estructuras no mitóticas (columna R.aum). Al canal H, se le resta el resultado de esta imagen umbralizada para obtener una imagen con las posibles mitosis más contrastadas (columna H-(R.aum)). A continuación, se realiza una operación de umbralizado (umbral de 0.7), seguida de operaciones morfológicas de erosión y de dilatación de kernel 3x3 para eliminar falsos candidatos. Como salida de esta secuencia de acciones se obtiene un número reducido de candidatos. El método detecta 1503 de las 1.552 mitosis anotadas (97%), pero se obtienen 174 candidatos por mitosis real. En la figura 3, se muestra el proceso detallado sobre los canales H&E.

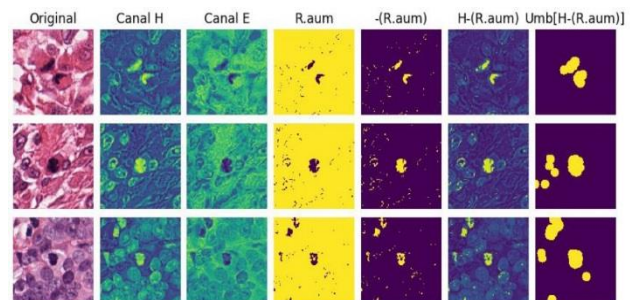


Figura 3. Proceso detallado de selección de candidatos.

2.2.2. Clasificación mediante CNN

Tras la detección de potenciales candidatos se dispone de una base de datos de 1503 verdaderos candidatos y 260.964 falsos candidatos, en imágenes de 80x80 píxeles como las mostradas en la figura 4. La detección de mitosis se plantea como un problema de detección supervisada para el que se ha diseñado un algoritmo basado en CNN.

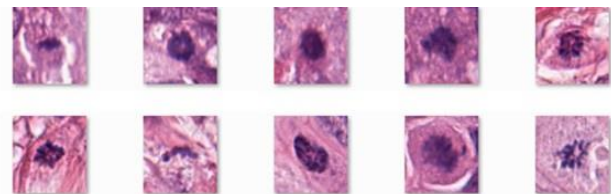


Figura 4. Imágenes de la base de datos de entrenamiento (todas son mitosis)

En los datos existe un gran desequilibrio entre las clases positiva y negativa. Para aminorar el efecto del mismo en el entrenamiento del clasificador se aumentó el número de verdaderos positivos aplicando transformaciones geométricas (rotaciones, cambios de escala, ...). Se detalla este proceso en el apartado 2.2.3 donde se describe el subconjunto de entrenamiento.

El modelo de red escogido para el clasificador tiene una estructura basada en el modelo Lenet [8] con tres bloques convolucionales compuestos cada uno de ellos por una capa convolucional inicial, una capa de activación basada en ReLU y una capa de *pooling* o muestreo actuando como un bloque de extracción de características. Se han escogido tamaño de filtros convolucionales de 3x3, siendo el número de filtros calculados de 32, 64 y 64 en cada uno de los tres bloques convolucionales. La salida de esta red alimenta una etapa de clasificación densa basada en una red perceptrón. La figura 5 muestra la arquitectura de red elegida.

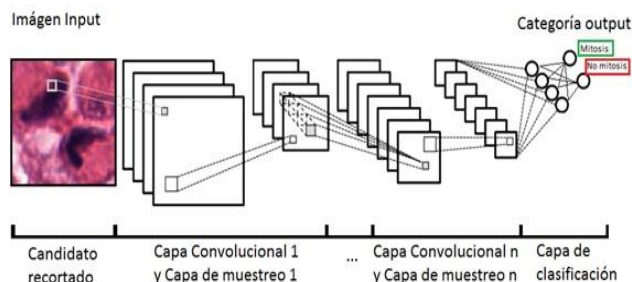


Figura 5. Arquitectura de red basada en modelo Lenet

Finalmente, cada canal de las imágenes se estandariza a la entrada de la red CNN, obteniendo en cada canal un conjunto de valores de píxeles de media 0 y desviación estándar 1.

2.2.3. Subconjuntos de entrenamiento/validación

Para el desarrollo del clasificador se partitionaron los candidatos en tres subconjuntos: entrenamiento (80%), validación (10%) y test (10%), reservando el subconjunto de test únicamente para reportar los resultados. La partición se hizo por pacientes, 73 pacientes divididos en 54/8/9, pero procurando respetar las proporciones (80/10/10) también en lo referido al número de candidatos y al número de mitosis en cada subconjunto. Así el número de recortes por subconjunto y tipo (mitosis/no mitosis) fue de: 908/202667 para entrenamiento, 220/29511 validación y 375/28786 test.

Para solucionar el desequilibrio entre clases en la base de datos, se ha realizado un entrenamiento por lotes equilibrados, de manera que a cada clase "mitosis" alimentada le sigue una clase "no-mitosis". Tras la alimentación de la red con las primeras 908 parejas, dichos 908 recortes originales de la clase "mitosis" se ordenan aleatoriamente y cada una de ellas se modifica mediante una aplicación sucesiva, y en orden aleatorio, de distintas operaciones morfológicas como escalado, desplazamientos, rotaciones y desdoblamientos. Se prosigue con la alimentación equilibrada con este nuevo lote de parejas equilibrado. La operación de reordenado y *data augmentation* de la lista perteneciente a la clase "mitosis", se realiza en múltiplos de 908, hasta finalizar con las 202.667 imágenes de la clase "no mitosis". De esta forma, se ha entrenado la red con el mismo número de elementos de ambas clases.

Para el entrenamiento y validación de la CNN se diseñaron 48 experimentos con diferentes configuraciones para el

aprendizaje. Estas configuraciones para la optimización de la red pretendían valorar los siguientes criterios:

- La representación de las imágenes en diferentes espacios de color.
- La normalización previa de cada canal de las imágenes (media 0 y desviación estándar 1)
- Diferentes métricas de penalización en el aprendizaje.
- Diferentes rangos de *learning rates* o tasas de aprendizaje.

Las conclusiones extraídas fueron:

- La representación de la información en el espacio RGB originales aporta mejor resultado que su descomposición en los canales H&E.
- *Learning Rates* iniciales mayores, dotan de mayor mutabilidad a la red, proporcionando mejores resultados.
- La métrica de penalización que contribuyó a los mejores resultados es la pérdida de precisión.
- La normalización de los canales es relevante.

Los pesos de la red fueron entrenados siguiendo el método de descenso de gradiente estocástico con una tasa de aprendizaje inicial de 0.001 y un decaimiento de 10^{-5} minimizando una función de coste definida por la entropía cruzada entre las dos clases.

2.2.4. Evaluación

Al tratarse de un problema de clasificación binario (presencia de mitosis) se evaluó el desempeño del clasificador mediante una matriz de confusión 2x2. Y se emplearon como métricas de desempeño la sensibilidad (Se), valor predictivo positivo (VPP) y el F-score, la media armónica de la Se y el VPP. Se calcularon también la especificidad (Sp), el valor predictivo negativo (VPN) y la precisión (Acc) de la etapa de clasificación.

Los resultados finales se ajustaron para reflejar el efecto de la etapa de visión artificial en la que se detectan 1503 de las 1552 mitosis. Esto afecta a los valores finales de Se y F-score, que se refieren siempre al conjunto total de mitosis disponibles a la entrada.

3. Resultados

Considerando la etapa de clasificación de forma aislada se obtuvieron unos valores de Se=0.632, PPV=0.482 y F-score=0.547. Estos valores son bajos debido a que el ratio de falsos positivos por verdaderos positivos a la entrada al clasificador es de aproximadamente 174/1. Por ello, a pesar de los bajos valores de Se y PPV se detectaron correctamente un 98.6% de los 29161 recortes, es decir con un NPV=0.992 y una Sp=0.991. Así, se obtuvo un clasificador basado en CNN muy preciso incluso para la clase positiva (Se), a pesar del sesgo hacia la clase negativa de los datos de entrada. Cuando los resultados fueron ajustados por las mitosis no detectadas en la etapa de visión artificial, se obtuvo una Se=0.617, PPV=0.482 y F-score=0.541.

A modo de referencia se muestran en la tabla 1 de resultados obtenidos por distintos grupos en el reto

TUPAC16 [6]. Los resultados obtenidos son comparables con los del estado del arte, situándose en el rango medio alto de las soluciones propuestas en el reto, algunas de las cuales emplearon datos adicionales (ver [6]).

Equipo	F1-score
Lunit Inc., Korea	0.652
IBM Research Zurich and Brazil	0.648
ContextVision, Sweden	0.616
The Chinese University of Hong Kong	0.601
Microsoft Research Asia, China	0.596
Radboud UMC, The Netherlands	0.541
The proposed method, Spain	0.541
University of Heidelberg, Germany	0.481
University of South Florida, United States	0.44
Pakistan Institute of Engineering and Applied Science	0.424
University of Warwick, UK	0.396
Shiraz University of Technology, Iran	0.33
Inha university, Korea	0.251

Tabla 1. Comparativa de resultados con algunos grupos participantes en TUPAC Challenge 2016.

Finalmente se evaluó el tiempo de computación total necesario para el conteo de mitosis. Sobre una imagen tipo de 2500x2500 píxeles en una máquina compuesta por 12 procesadores Intel-Xeon, 128GB, el algoritmo tarda de media 0.9 segundos en el procesamiento de una imagen.

4. Conclusiones y discusión

Este trabajo presenta un método para el conteo automático de mitosis en imágenes histológicas teñidas con H&E. El método consta de dos etapas: 1) extracción de candidatos a mitosis por métodos convencionales de procesamiento de imagen; 2) clasificación de las regiones candidatas en mitosis mediante un clasificador basado en Redes Neuronales Convolucionales. El método propuesto tiene precisiones comparables a los obtenidos por los algoritmos más avanzados presentados en la competición TUPAC-16, y permite obtener el conteo de mitosis sobre imágenes pesadas de histología en tiempos de procesamiento cortos.

El abordaje planteado se basa en una primera etapa de visión artificial que reduce considerablemente la dimensionalidad del problema, reduciendo los tiempos de procesamiento. Esto supone una ventaja importante, ya que permitiría al clínico disponer de los resultados casi inmediatamente, con precisiones similares a las de los algoritmos más avanzados. Actualmente los clínicos dedican entre 5-10 minutos en un caso típico, y los resultados de anotación dependen considerablemente del clínico (subjetividad) [2].

A pesar de que el sistema completo presenta ya una precisión aceptable, se plantean varias líneas de trabajo futuras. La primera es la mejora de la etapa de procesamiento de imagen para manteniendo valores similares de sensibilidad reducir el número de candidatos falsos por mitosis. Esta es precisamente la mayor limitación del algoritmo, ya que a pesar de disponer de un clasificador CNN con una $Sp=0.991$ el número de falsos positivos (255) fue similar al de verdaderos positivos (237). Para ello se estudiarán en el futuro distintos abordajes para la obtención de los canales H y E de las imágenes RGB, así como algoritmos de procesamiento morfológico de imagen más elaborados. Otra línea de mejora del método consiste en considerar otras arquitecturas de red para clasificador, como son las redes neuronales pre-entrenadas.

Este trabajo tiene dos limitaciones. La primera es que se ha trabajado con un número de imágenes y pacientes limitado. Algunos abordajes del TUPAC-16 reportaron mejores resultados en parte gracias al uso de un mayor número de ejemplos. La segunda limitación es que no se ha planteado un proceso de optimización conjunto de las etapas 1 y 2, ya que el tiempo necesario para entrenar las CNN lo impide.

Referencias

- [1] Irshad H. Automated mitosis detection in histopathology using morphological and multi-channel statistics features. *Journal of Pathology Informatics*. Vol 4, issue 1, pp 10-18, 2013.
- [2] Mitko MA. Assessment of Mitosis Detection Algorithms. MICCAI Grand Challenge 2013: <http://amida13.isi.uu.nl/> (Consultado: Mayo de 2017)
- [3] Mitko P. Assessment of Mitosis Detection Algorithms. AMIDA13 | MICCAI Grand Challenge. Mitko Veta. doi:10.1016/j.media.2014.11.010, 2013
- [4] Malon CD, Cosatto E. Classification of mitotic figures with convolutional neural networks and seeded blob features. *Journal of Pathology Informatics*. Vol 4, issue 9, 2013. DOI: [10.4103/2153-3539.112694](https://doi.org/10.4103/2153-3539.112694)
- [5] Dan C., Cires AG. Mitosis Detection in Breast Cancer Histology Images with Deep Neural Networks. *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. pp 41-418, 2013.
- [6] Página web del Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016 | MICCAI Grand Challenge. <http://tupac.tueimage.nl/> (Consultado: Mayo 2017)
- [7] Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Analytical and quantitative cytology and histology*. Vol 23, issue 4, pp 291-299, 2001.
- [8] Le Cun Y, Bottou L, Bengio Y, Haffner P. Gradient-based learning applied to document recognition. *Proceedings of the IEEE*, Vol 86, issue 11, pp. 2278 – 2324, 1998. (ISSN: 1558-2256)