

## Antecedentes y Motivación

### Antecedentes

- Los nuevos avances biotecnológicos y la rapidez a la que estos suceden necesitan de buenos y eficaces métodos de análisis para que la investigación y los resultados puedan ir a la par.
- Muchos programas actualmente no son desarrollados desde el ámbito biotecnológico por lo que no se ajustan a las necesidades reales de los laboratorios. Por otro lado, los programas que nacen en el campo de la biología no cuentan con los recursos informáticos suficientes para que se puedan optimizar y obtener a partir de ellos datos relevantes de forma eficaz.
- El panorama del análisis de imagen actualmente no cuenta con herramientas rápidas y sencillas que se puedan adecuar a los tipos de imágenes que se obtienen en los diversos tipos de ensayos.

### Objetivos

- Los ensayos en los que se centrará el desarrollo del proyecto son ensayos de microaspiración o aspiración con micropipeta.
- En estos ensayos se pretenden conocer las propiedades mecánicas de las membranas celulares a partir de las deformaciones sufridas al ser aspirada. Esta aspiración ocurre debido a una diferencia de presiones entre el medio exterior y el interior de la micropipeta.
- Se ha creado un programa capaz de ser analizar las imágenes obtenidas en estos ensayos midiendo las variaciones de diámetro que suceden durante el proceso de aspirado para determinar su deformación y por lo tanto otros parámetros como su elasticidad o su tenacidad.
- El programa deberá ser capaz de reconocer las células de forma autónoma durante las distintas fases del ensayo para su posterior implantación in vivo.

## Metodología

La plataforma sobre la que se ha programado este proyecto es LabVIEW. El proceso consta de tres partes principales:

**FOCALIZACIÓN:** Sobre las imágenes obtenidas se le pide al usuario señalar la ubicación de la pipeta.

**SEGMENTACION:** Una vez localizada la región de interés es necesario que el programa reconozca la ubicación de la célula de la forma más exacta posible. Para esto, se ha implementado las redes neuronales con arquitectura U-NET. Los principios del deep learning permiten al programa aprender sobre la morfología de la célula para que pueda ser reconocida en todo tipo de imágenes.

El modelo ha sido entrenado en Python para que reconozca la ubicación de la célula a través de un banco de imágenes de prueba.

El resultado es una máscara a dos colores y sin ruido que se introduce en el programa de LabVIEW, de forma que sea mucho más sencillo localizar estos bordes y por lo tanto la célula.

**SEGUIMIENTO:** El algoritmo usado para el seguimiento de los puntos es el LKP o método de Lucas Kanade. El principio de este algoritmo se basa en afirmar que el movimiento de los pixels cercanos a un punto X en concreto será igual o muy parecido al movimiento de este punto X.

Una de las razones de elección de este algoritmo de seguimiento frente a otros es principalmente su alta efectividad y la posibilidad de usarse en ensayos a tiempo real.

Finalmente, el programa se podrá implementar en el equipo en el que se visualice el ensayo de tal forma que pueda monitorizar y analizar las imágenes a tiempo real.

## Resultados

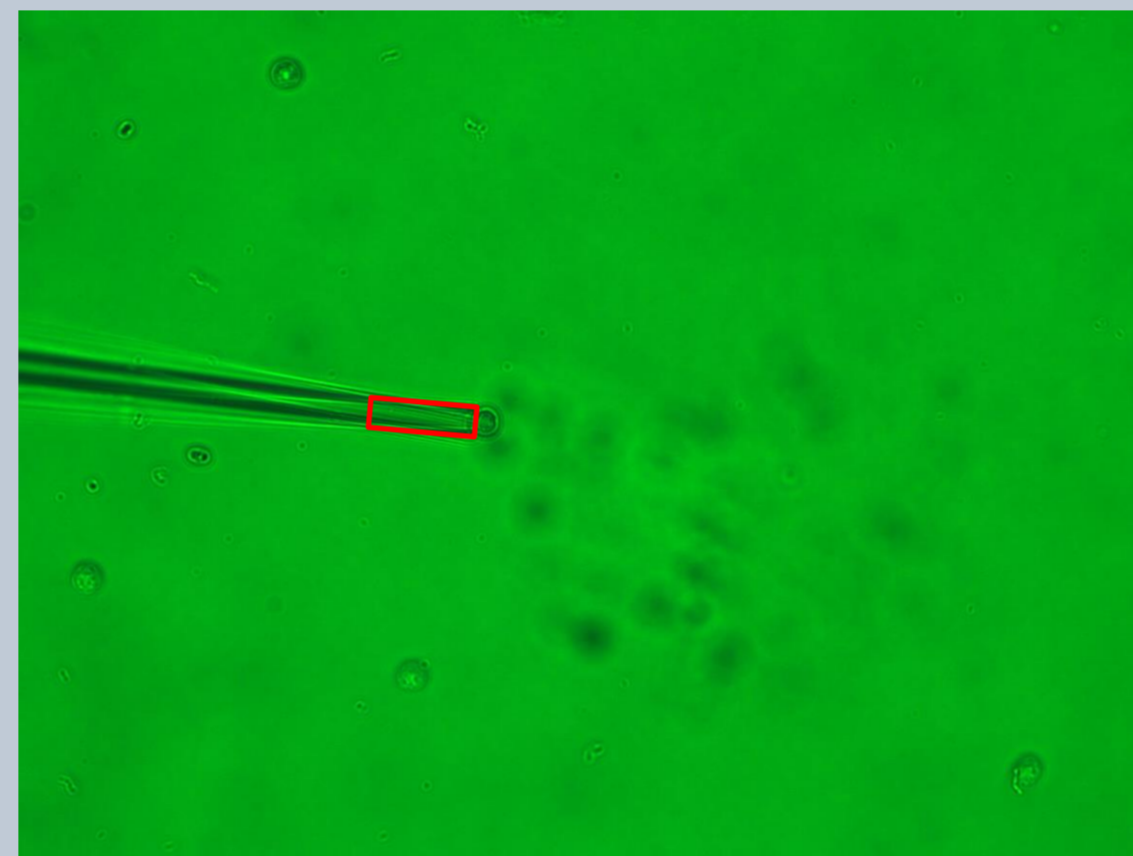


Figure 2: Focalización de la imagen

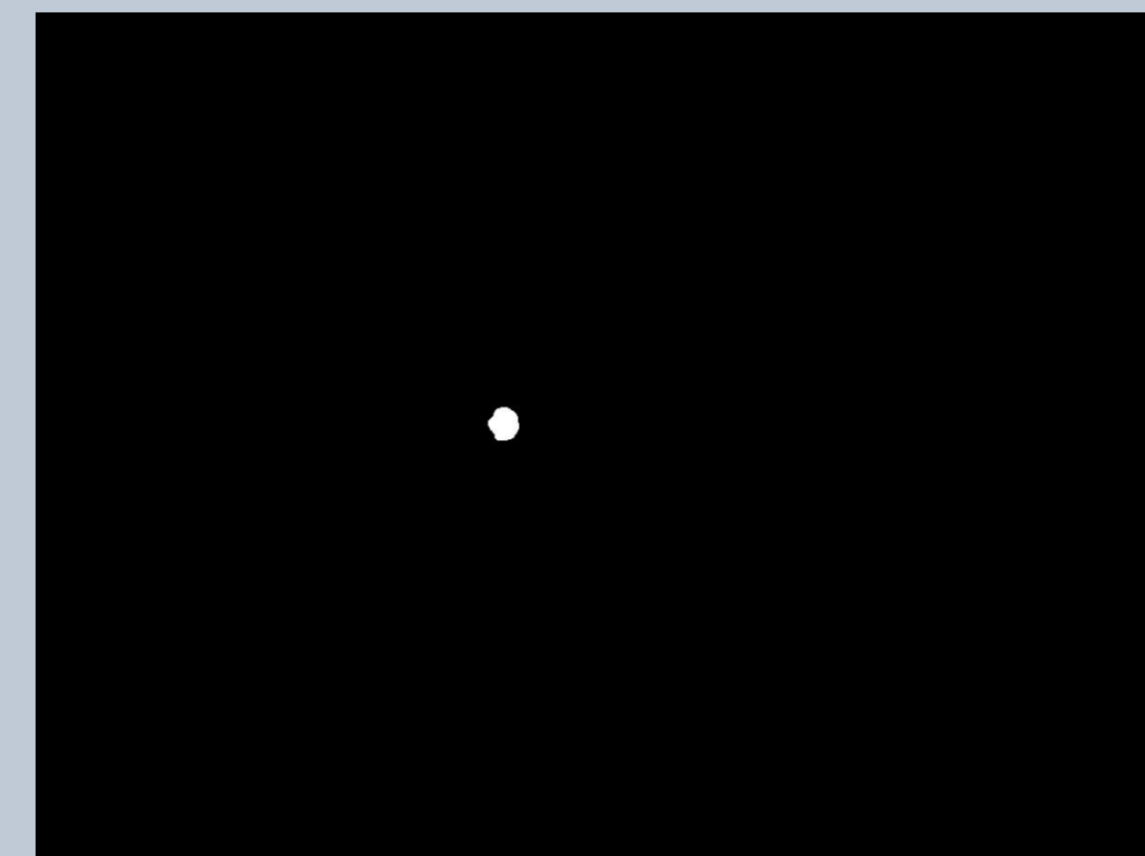


Figure 3: Creación de la máscara y segmentación

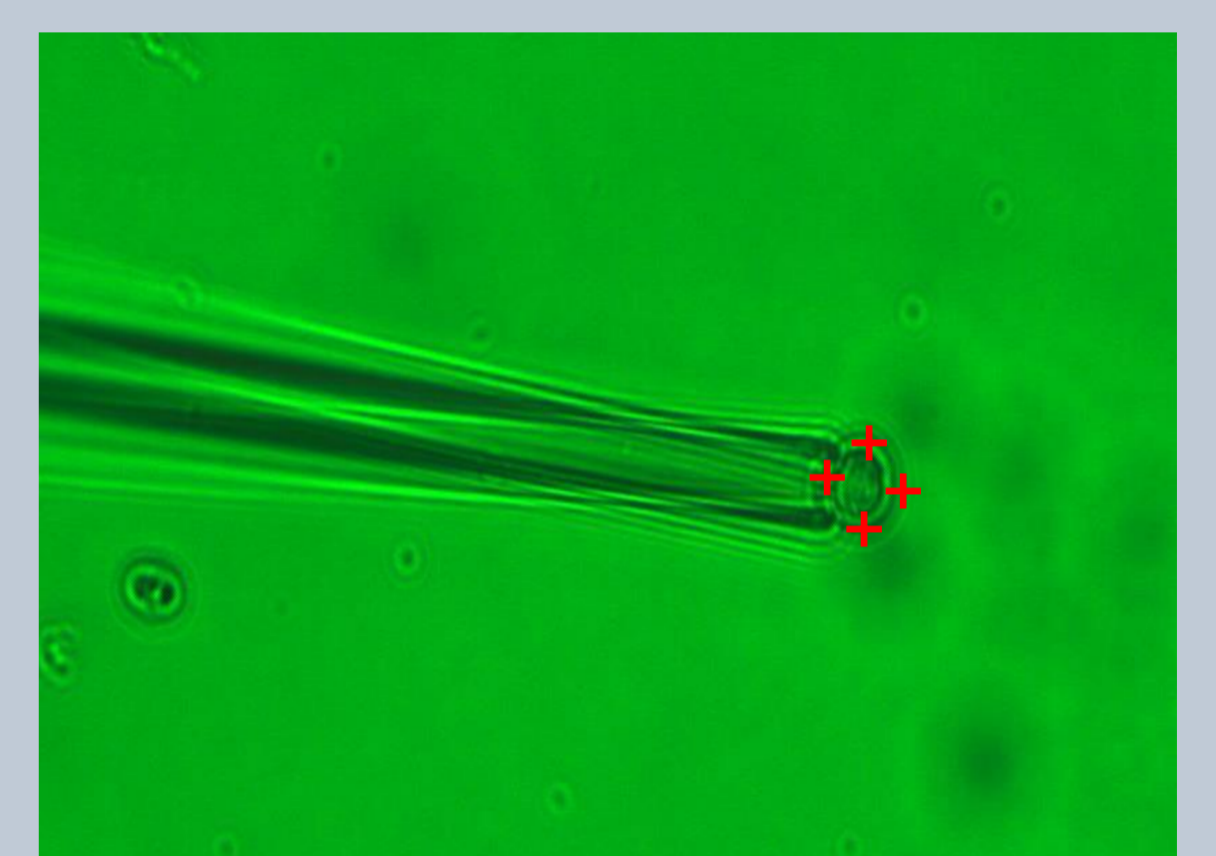


Figure 4: Identificación de los 4 puntos borde de la célula para su seguimiento

- Se puede localizar de forma precisa el contorno de la célula gracias a las herramientas de Deep Learning.

- El algoritmo de seguimiento escogido fija cuatro puntos en cada uno de los bordes de la célula y permite el seguimiento de estos a través de los distintos fotogramas del ensayo.

- El diámetro en la dirección X va aumentando debido al estrechamiento que se produce en la dirección contraria tras pasar por la micropipeta.

- De igual forma se observa que el diámetro mínimo que alcanza la célula en la dirección Y es aproximadamente 6.8 micrometros, que coincide con el diámetro de la micropipeta.



Figure 5: Localización de los puntos borde en dirección X y posterior seguimiento con el tiempo

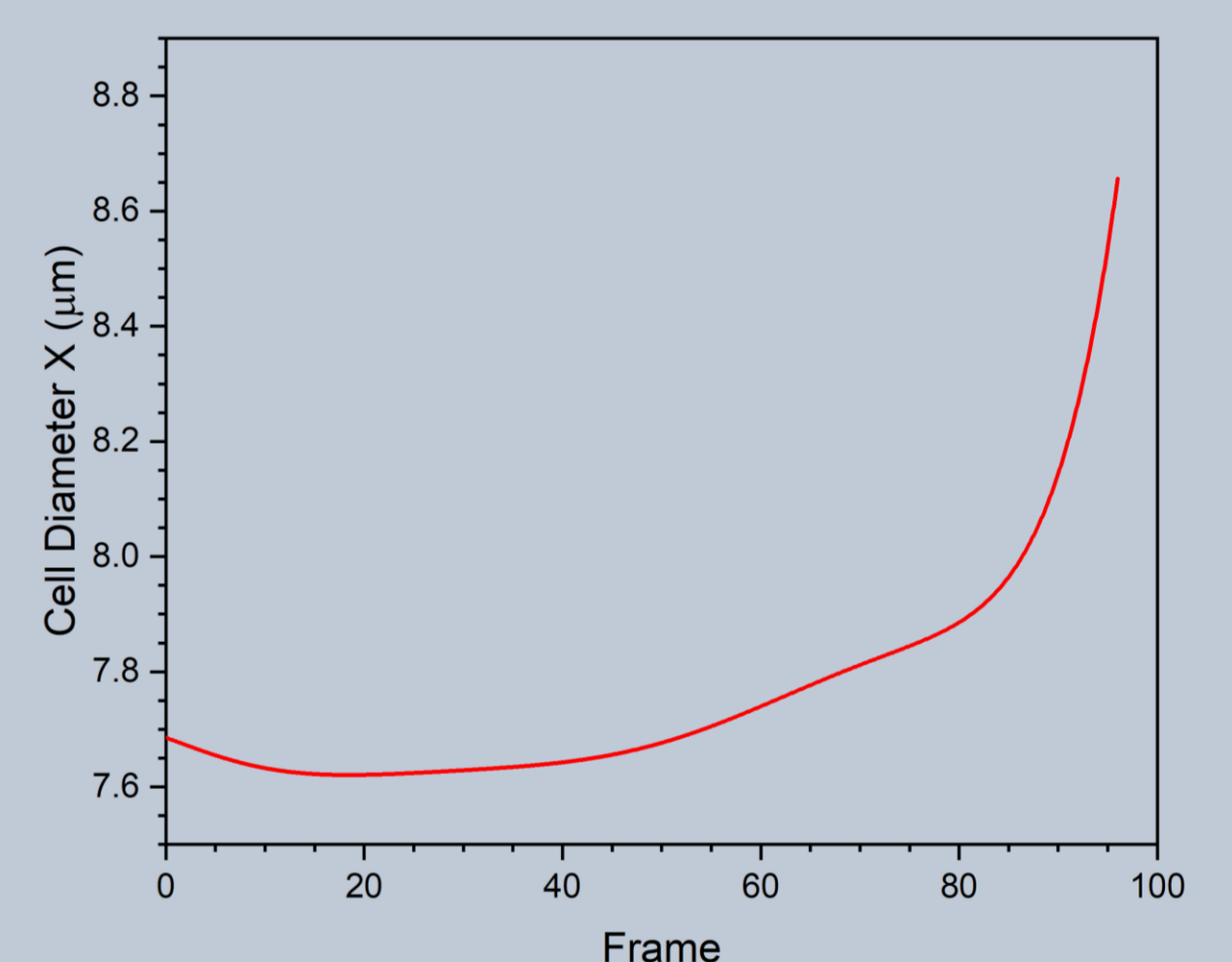
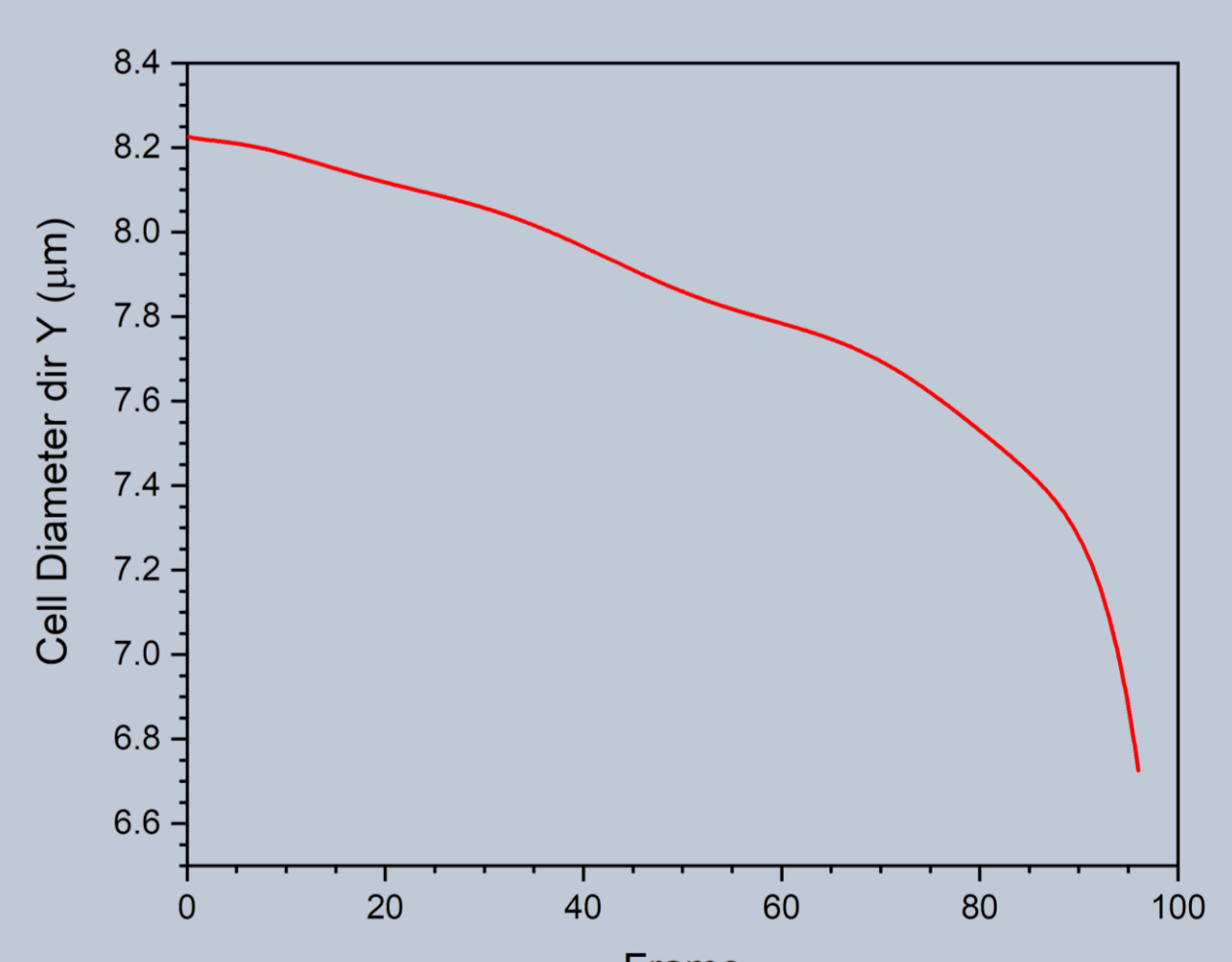


Figure 6: Localización de los puntos borde en dirección Y y posterior seguimiento con el tiempo



## Conclusiones

- Se puede apreciar que con una localización precisa de la célula y un adecuado seguimiento de esta se puede llegar a conseguir la variación de su diámetro en ambos ejes al ser microaspirada.
- Características mecánicas como la deformación están íntimamente ligadas a la variación de diámetros.
- Usando diversas fórmulas se podrán conocer las propiedades mecánicas de la membrana celular y por lo tanto de muy diversos sistemas biológicos con tan solo un análisis de imagen.

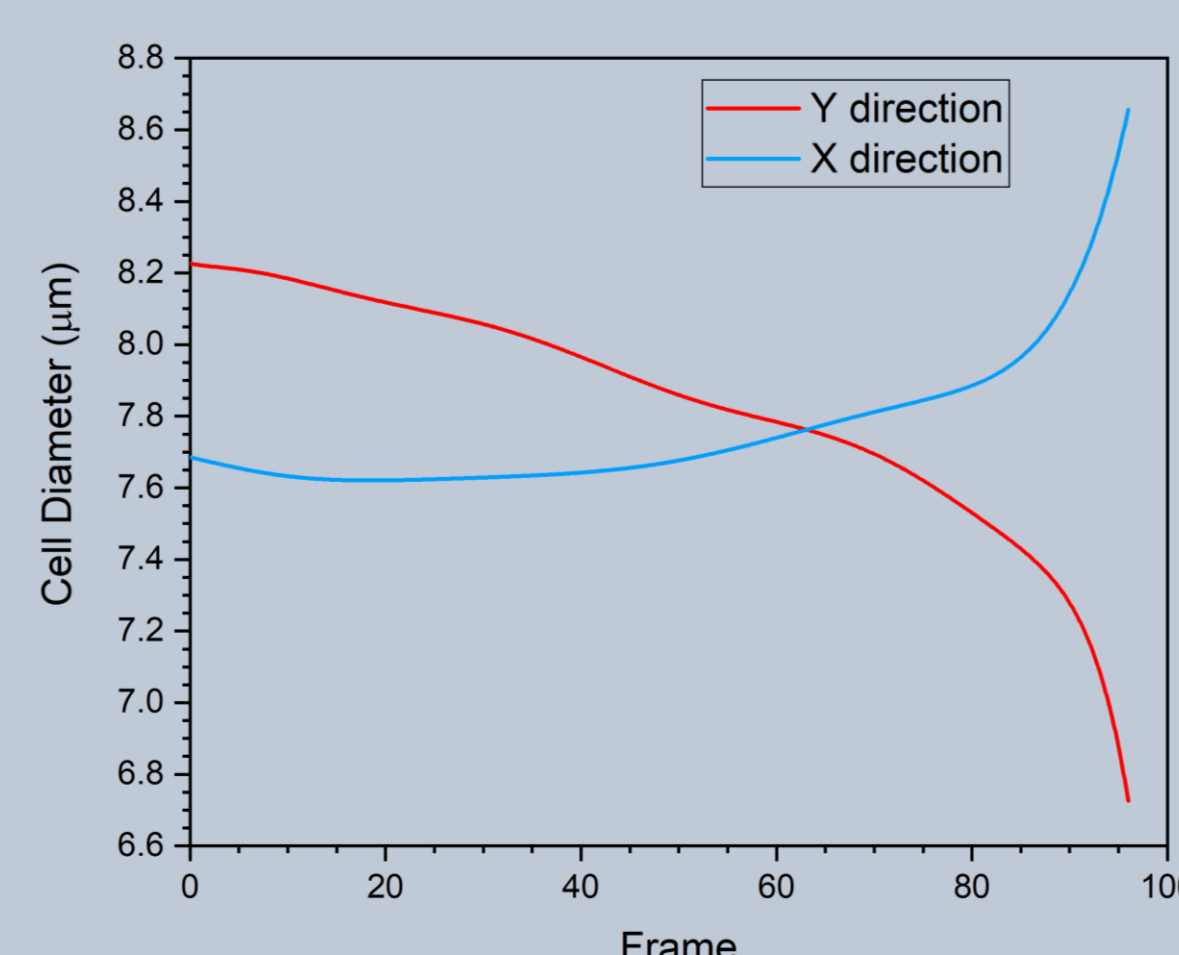


Figure 6: Variación del diámetro de la célula en la dirección X e Y

### Referencias:

- Alpatov, B., Ershov, M., & Vdovkin, L. (2020, marzo). LKP Based Tracker Performance Estimation for Coordinate Measurement Algorithm Switching.
- Falk, T., Mai, D., Bensch, R. et al. U-Net: deep learning for cell counting, detection, and morphometry. Nat Methods 16, 67–70 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0261-2/>
- Peng H. (2008). Bioimage informatics: a new area of engineering biology. Bioinformatics (Oxford, England), 24(17), 1827–1836. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn346>

Contact: irene.martos.esteban@gmail.com / sergio.perosanz.amarillo@gmail.com