

# Segmentación automática de tejido cerebral en imagen preclínica

N. Sánchez<sup>1</sup>, E. Marinetto<sup>1</sup>, M. Desco<sup>1,2,3</sup>, J. Pascau<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Medicina y Cirugía Experimental, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid  
jpascau@mce.hggm.es

<sup>2</sup> Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid

<sup>3</sup> CIBERSAM. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid

## Resumen

En estudios preclínicos neurológicos de imagen de resonancia magnética (MRI) en pequeños animales es común el uso de la segmentación cerebral para su posterior análisis volumétrico y/o registro con otras modalidades de imagen. Este proceso suele realizarse de forma manual, por lo que a menudo se emplea una gran cantidad de tiempo dependiendo del estudio. En este trabajo se propone un nuevo método de segmentación automática basado en registro para facilitar dicho proceso. La propuesta se ha comparado con dos métodos: segmentación manual, que se emplea como referencia, y una segmentación basada en PCNN (Pulse Couple Neural Network) propuesta específicamente para imágenes de rata. El método propuesto consigue buenos resultados en índice de solapamiento y volumen cerebral comparado con el manual, y ofrece además una reducción considerable en el tiempo de ejecución comparado con PCNN.

## 1. Introducción

En estudios de neuroimagen es común el uso de la extracción cerebral, definida como la separación de tejido cerebral del resto de tejidos (cráneo, ojos, músculos, piel, etc.). Este paso constituye una tarea necesaria, precursora de otro tipo de procesos tales como cuantificación, registro y/o visualización. El proceso de obtención de la máscara de segmentación de cerebro total ('*skull stripping*') requiere habitualmente una interacción manual que resulta muy laboriosa y debe ser realizada por personal técnico experto. Para solventar este inconveniente, en neuroimagen clínica se han desarrollado diversos métodos que realizan este procesado de forma automática (*Brain Extraction Algorithms*, BEAs), aunque en muchos casos sigue siendo necesaria una comprobación y retoque del resultado de forma manual. Sin embargo en el campo de la neuroimagen preclínica existen pocas referencias de aplicación de dichos algoritmos. En consecuencia, la segmentación de tejido cerebral en pequeños animales de laboratorio continúa realizándose de forma manual o, a lo sumo, mediante técnicas semiautomáticas.

En este trabajo se propone un nuevo algoritmo basado en técnicas de registro (*Small animal Brain extraction using Registration*, SBR), que realiza la segmentación de forma automática. Para comprobar la calidad de los resultados de este nuevo método se ha evaluado en un amplio banco

de datos, empleando como referencia máscaras de segmentación manuales. Además, se ha comparado con un reciente algoritmo basado en un tipo de red neuronal denominada *Pulse Coupled Neural Network* (PCNN) [1], propuesto específicamente para imagen preclínica por resonancia magnética de rata (en adelante BEA-PCNN).

## 2. Método propuesto: SBR

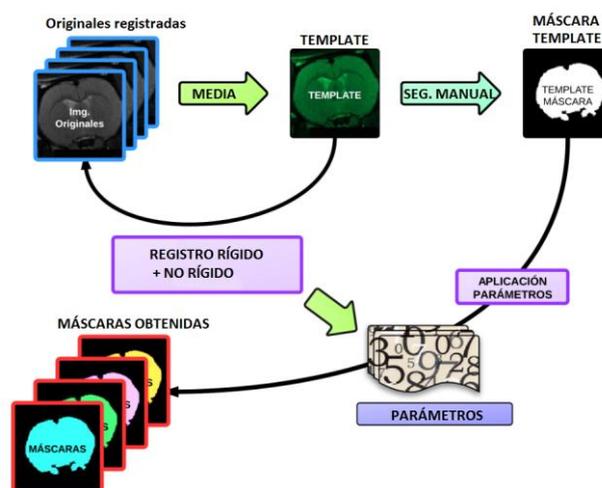


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de segmentación mediante SBR.

El método de segmentación se describe en la Figura 1 y sigue los siguientes pasos:

- Se elige, de forma aleatoria, una imagen de referencia del grupo de imágenes que se pretenden segmentar y se registran, mediante registro rígido, el 25% de las imágenes del estudio hacia ésta, de nuevo escogidas de forma aleatoria. Las imágenes resultantes se promedian para obtener una imagen 'plantilla' auxiliar que denominaremos *template*.
- Se registran mediante registro rígido todo el grupo de imágenes a dicho *template*, promediando los resultados y obteniendo el *template final*. La creación de este *template* se hace en dos pasos para evitar que los resultados de la segmentación dependan de una única imagen del conjunto.
- Dicho *template final* se registra mediante registro rígido, seguido de un registro no rígido, hacia cada

imagen para obtener las transformaciones entre el espacio de la imagen *template* y cada una de las imágenes objetivo.

- Aplicamos dichos parámetros a una máscara obtenida mediante segmentación manual del *template final* para obtener la segmentación final de cada imagen.

Para la implementación de este método se ha empleado el software NiftyReg desarrollado por Modat *et al.* [2], que implementa los algoritmos de registro rígido y no rígido propuestos por Ourselin [3] y Rueckert [4], respectivamente.

Ourselin presenta en [3] un algoritmo denominado ‘Aladin’ basado en *block matching* y *Trimmed Least Square* (LTS). La técnica *block matching* proporciona un conjunto de puntos que establecen una correspondencia entre la imagen de referencia y la imagen objetivo. A partir de esos puntos, se realiza un registro rígido o afín. La optimización iterativa mediante LTS minimiza la distancia entre los puntos sin verse afectada de forma excesiva por ‘outliers’.

El algoritmo de registro no rígido empleado se basa en el modelo de deformación *Free-Form Deformation* (FDD) presentado por Rueckert [4]. Para llevar a cabo el registro, se superpone una red de puntos de control sobre la imagen de referencia y, a partir de ellos, se genera el campo de deformación mediante *b-splines* cúbicos. La función de coste se basa en *Normalized Mutual Information* (NMI) y *Bending Energy* (BE). NMI se basa en la teoría de la información y requiere crear un histograma conjunto para maximizar la cantidad de información que una imagen tiene de la otra. Por otro lado, BE penaliza la deformación forzándola a ser suave. El optimizador utilizado es el descenso por gradiente. Este algoritmo está implementado en GPU con el fin de reducir el coste computacional [2].

### 3. Método BEA-PCNN

Este algoritmo se basa en el modelo estándar PCNN desarrollado por Eckhorn [5]. PCNN es un modelo de red neuronal basado en la réplica del comportamiento biológico de las neuronas (en términos de ráfagas de impulsos de sincronización) observado en el cerebro de un gato [6].

La imagen de entrada puede representarse mediante una matriz de  $M \times N$  valores de intensidad normalizados. Esta matriz alimenta las  $M \times N$  entradas de la red PCNN para la primera iteración. Si inicialmente todas las neuronas tienen un nivel de activación nulo, el resultado es la activación de todas las neuronas. El potencial de activación de cada neurona aumenta de forma significativa cuando la neurona se activa, para posteriormente decaer con el tiempo. Cuando el potencial cae por debajo del umbral de activación, dicha neurona se activa de nuevo, elevando nuevamente su potencial. Este proceso continúa generando pulsos binarios para cada neurona. A su vez, las neuronas incitan a sus vecinas a activarse mediante las interconexiones existentes entre ellas. Las neuronas que han sido activadas, influyen en sus vecinas, lo que genera una onda de activación que se expande a través de las regiones activas. De este modo, si

un grupo de neuronas está próximo a activarse, una única neurona puede provocar la activación de dicho grupo [7]. Debido a la unión entre neuronas, la activación de las mismas conduce a la sincronización de grupos de neuronas que corresponden a subregiones de la imagen que tienen propiedades similares, produciendo una serie temporal de imágenes binarias o máscaras. Por último, un operador morfológico se encarga de separar clústeres de zonas con características similares. El número máximo de iteraciones ( $n$ ) se establece cuando  $Y[n]$  (la imagen resultante) excede el 50% del tamaño total de la imagen de entrada. Finalmente, una red neuronal artificial (*Artificial Neural Network*, ANN) previamente entrenada con imágenes y sus máscaras manuales correspondientes selecciona la máscara que considera óptima [1].

## 4. Evaluación

### 4.1. Descripción del juego de datos

Se dispone de dos grupos de imágenes de resonancia magnética (MRI) bien diferenciados. El primero de ellos lo conforman las imágenes proporcionadas por los autores del algoritmo BEA-PCNN (en adelante, imágenes BEA-PCNN); el segundo incluye imágenes adquiridas en el equipo de resonancia magnética de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental (UMCE) del Hospital Gregorio Marañón (en adelante, imágenes UMCE):

- Imágenes BEA-PCNN: 30 imágenes de ratas Long-Evans adultas adquiridas con un Bruker Biospec de 4,7 T. Se empleó una secuencia anatómica ponderada en T2 con un FOV=3 x 3 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 12 cortes de grosor de rodaja 1.2 mm. Estas imágenes fueron cedidas por los autores del algoritmo BEA-PCNN y están disponibles en [9].
- Imágenes UMCE: Se dispone de 12 imágenes de ratas Sprague Dawley (SD) y 18 imágenes de ratón C57BL6, adquiridas con un Bruker 7/210 USR de 7 T. Se empleó una secuencia anatómica ponderada en T2 con un FOV=3.5 x 3.5 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 34 cortes de grosor de rodaja 0.8 mm para las imágenes de rata y FOV=1.6 x 1.6 cm, tamaño de matriz 256 x 256 y 41 cortes de grosor de rodaja 0.4 mm para las imágenes de ratón. Se corrigió el artefacto de inhomogeneidad debido al uso de antena de superficie mediante “*Dual Coil Inhomogeneity Correction*” (CO2) [8]. Dichas imágenes fueron adquiridas en la UMCE del Hospital Gregorio Marañón con el fin de evaluar el comportamiento del BEA-PCNN con imágenes diferentes a las proporcionadas.

También se dispone de máscaras manuales (*gold-standard*) para ambos grupos de imágenes. Las máscaras manuales para las imágenes BEA-PCNN formaban parte del conjunto de datos ofrecido por los autores en [9]. Por otro lado, las máscaras de las imágenes adquiridas en UMCE fueron realizadas manualmente por técnicos especializados del laboratorio.

### 4.2. Criterios de evaluación

La valoración de los dos métodos de segmentación se ha realizado mediante el índice de similitud Jaccard y el

volumen de las máscaras, comparados con la segmentación manual considerada como referencia o *gold standard*. El índice Jaccard queda definido por la siguiente ecuación, donde  $M_{BEA}$  representa a la máscara automática del método utilizado y  $M_{GOLD}$  a la máscara manual:

$$Jaccard = \frac{|M_{BEA} \cap M_{GOLD}|}{|M_{BEA} \cup M_{GOLD}|}$$

La significación de las diferencias entre el volumen de las máscaras manuales y automáticas se determinó mediante un test ANOVA de medidas repetidas.

### 4.3. Procesado previo a la segmentación

Para que los algoritmos funcionasen correctamente fue necesario procesar las imágenes previamente en algunos casos que se detallan a continuación.

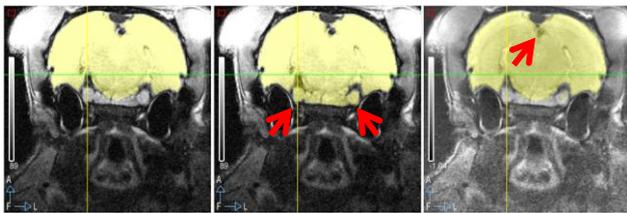
**Segmentación BEA-PCNN:** fue necesario eliminar algunos cortes superiores e inferiores en las imágenes UMCE, para evitar que el algoritmo diese errores al encontrar cortes con muy poca información de imagen. Dado que el código disponible [9] no permitía su modificación, y por lo tanto no era posible entrenar de nuevo la red ANN para estas imágenes, aunque los resultados para estas imágenes no eran correctos no se pudieron mejorar.

**Segmentación con SBR:** para segmentar las imágenes BEA-PCNN se corrigió previamente el artefacto de inhomogeneidad mediante *Nonparametric Nonuniformity Normalization* (N3) [10], y se aumentó de cortes (de 12 a 36) mediante interpolación con *b-splines* cúbicos para que el algoritmo de registro no rígido ofreciera mejor resultado.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Imágenes BEA-PCNN

En la Figura 2 se observa una imagen representativa de este grupo.



**Figura 2.** Corte transaxial de una MRI de rata Long-Evans fusionada con su máscara (de izquierda a derecha): manual, BEA-PCNN y SBR. Las flechas indican las zonas donde el algoritmo ha segmentado de forma errónea.

Como puede observarse, las máscaras resultantes son similares aunque, en este ejemplo, se adapta mejor la máscara obtenida mediante SBR.

En la Tabla 1, se muestran los valores medios y desviación estándar del índice Jaccard para cada algoritmo. Se puede confirmar que el índice Jaccard de las máscaras obtenidas por los dos métodos frente a las máscaras manuales es equivalente.

	Jaccard PCNN	Jaccard SBR
Media	0,9351	0,9423
SD	0,0114	0,0102

**Tabla 1.** Estadísticas del índice Jaccard para ambos algoritmos sobre el grupo de imágenes BEA-PCNN.

En la Tabla 2 se muestran los tiempos de pre-procesado y ejecución de ambos algoritmos.

	BEA-PCNN	SBR
Pre-procesado (s)	--	773
Ejecución (s)	12660	6300

**Tabla 2.** Tiempos medios de los métodos medidos en un Quad Core, Intel Q6600, 2,4GHz, 8MB de memoria caché compartida, 4GB RAM.

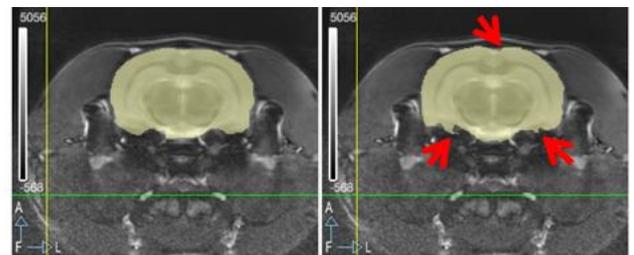
Destaca la reducción significativa en tiempo de ejecución utilizando el método propuesto. Respecto al BEA-PCNN, no se ha tenido en cuenta el tiempo de entrenamiento de la red ANN puesto que ese paso previo lo realizaron los autores del método. A continuación, se muestra una comparativa entre los volúmenes de las máscaras para cada método (Tabla 3).

volumen	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1	1470,195	8,287	1453,247	1487,143
2	1459,570	7,999	1443,210	1475,929
3	1467,706	3,469	1460,611	1474,801

**Tabla 3.** Medias y errores de volúmenes en imágenes BEA-PCNN para segmentación: manual (1), BEA-PCNN (2) y SBR (3). Las diferencias entre métodos no son significativas para un umbral de significación  $p \leq 0.05$ .

### 5.2 Imágenes UMCE

En la Figura 3 se muestra una imagen de rata SD representativa de dicho grupo.



**Figura 3.** Corte transaxial de una imagen de rata Long-Evans fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha). Las flechas indican las zonas donde el algoritmo ha segmentado de forma errónea.

Para las imágenes UMCE no se representa la máscara obtenida ni el tiempo de ejecución mediante el método BEA-PCNN puesto que el resultado en todas las imágenes era completamente erróneo. El índice Jaccard promedio en estas imágenes para el método SBR es 0,9165 con una desviación estándar igual a 0,0124 y en la

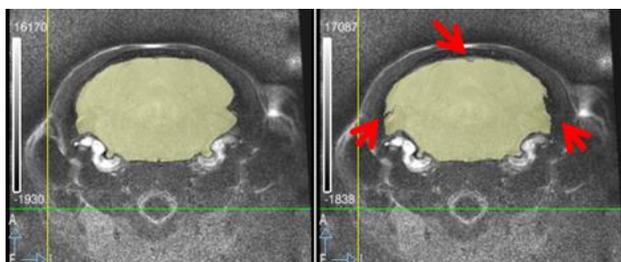
Tabla 4 se presentan los promedios de los volúmenes para este caso. El tiempo de ejecución del método SBR es de 1860 segundos para estas imágenes.

volumen	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
1	1886,790	13,100	1857,958	1915,622
2	1946,031	8,416	1927,508	1964,555

**Tabla 4.** Medias y errores de volúmenes de rata SD para segmentación manual (1) y SBR (2).

Al realizar la comparativa entre volúmenes de máscaras segmentadas manualmente y mediante SBR, se constatan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Una explicación de este hecho sería el emborronamiento presente en el *template* que dificulta la labor de segmentación manual realizada por el técnico especializado.

La Figura 4 muestra una imagen de ratón C57BL6 representativa de dicho grupo.



**Figura 4.** Corte transaxial de una imagen de ratón C57BL6 fusionada con su máscara manual (izquierda) y SBR (derecha).

El índice Jaccard promedio en estas imágenes para el método SBR es 0,935 con una desviación estándar igual a 0,0106 y en la Tabla 5 se presentan los promedios de los volúmenes para este caso. El tiempo de ejecución del método SBR es de 3300 segundos para estas imágenes.

volumen	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
1	403,557	2,575	398,124	408,990
2	383,521	2,881	377,442	389,600

**Tabla 5.** Medias y errores de volúmenes de ratón C57BL6 para segmentación manual (1) y SBR (2).

## 6. Conclusiones

Se ha presentado un método de segmentación automática para imágenes preclínicas de rata y ratón. Los resultados demuestran que la máscara de tejido cerebral obtenida es válida, comparada tanto con segmentaciones manuales como con un método BEA-PCNN previamente propuesto en la literatura, superando algunas limitaciones prácticas de este último. Las conclusiones particulares del estudio son las siguientes:

- El algoritmo BEA-PCNN es dependiente de las imágenes objetivo: no funciona con las imágenes UMCE aunque sean de rata.

- El algoritmo SBR se comporta de manera estable y robusta con independencia de las imágenes utilizadas.
- El método SBR sobreestima el volumen en las imágenes UMCE de rata y subestima en las de ratón. Esto puede ser debido a los bordes borrosos del *template*.
- El método SBR es más rápido, a pesar de la necesidad de segmentar el *template*. Como ventaja, los criterios de segmentación del mismo se transmiten a las máscaras automáticas obtenidas.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyectos TEC2010-21619-C04-01, TEC2011-28972-C02-01, PI10/02986, Red RECAVA RD09/0077/00087), la Comunidad de Madrid y los Fondos FEDER (proyecto ARTEMIS-S2009DPI-1802), el programa CENIT-CDTI (proyecto AMIT CEN 20101014) y el subprograma INNPACTO (proyecto PRECISION IPT-300000-2010-003).

## Referencias

- [1] Murugavel, M. and J. M. Sullivan, Jr. (2009). "Automatic cropping of MRI rat brain volumes using pulse coupled neural networks." *Neuroimage* **45**(3): 845-854.
- [2] Modat, M., G. R. Ridgway, et al. (2010). "Fast free-form deformation using graphics processing units." *Comput Methods Programs Biomed* **98**(3): 278-284.
- [3] Ourselin, S., R. Stefanescu, et al. (2002). Robust Registration of Multi-modal Images: Towards Real-Time Clinical Applications. *Proceedings of the 5th International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-Part II*, Springer-Verlag: 140-147.
- [4] Rueckert, D., L. I. Sonoda, et al. (1999). "Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images." *IEEE Trans Med Imaging* **18**(8): 712-721.
- [5] Johnson, J. L. and M. L. Padgett (1999). "PCNN models and applications." *IEEE Trans Neural Netw* **10**(3): 480-498.
- [6] Eckhorn, R., H. J. Reitboeck, et al. (1990). "Feature linking via synchronization among distributed assemblies: Simulations of results from cat visual cortex." *Neural Computation* **2**(3): 293-307.
- [7] Skourikhine, A. N., L. Prasad, et al. (2000). "Neural network for image segmentation." *Applications and Science of Neural Networks, Fuzzy Systems and Evolutionary Computation III* **4120**: 28-35.
- [8] Marinetto, E., M. Desco, et al. (2010). Corrección de artefacto de inhomogeneidad en imágenes de resonancia magnética de pequeños animales. *XXVIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB)*, Madrid.
- [9] NeuroImage/Elsevier web products server, <http://www.sciencedirect.com/science/MiamiMultiMediaURL/1-s2.0-S1053811908012809/1-s2.0-S1053811908012809-mmcl.zip/272508/html/S1053811908012809/2dbf6baa933ef1034efb238ebb93ed0b/mmcl.zip>.
- [10] Vovk, U., F. Pernus, et al. (2007). "A review of methods for correction of intensity inhomogeneity in MRI." *IEEE Trans Med Imaging* **26**(3): 405-421.