



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA  
SUPERIOR INGENIEROS  
INDUSTRIALES VALENCIA

**TRABAJO FIN DE MASTER EN INGENIERÍA BIOMEDICA**

**DESARROLLO DE UN SISTEMA DE  
PROCESAMIENTO DE IMÁGENES PARA LA  
PREDICCIÓN SOBRE EL ÉXITO EN  
IMPLANTACIÓN DE BLASTOCITOS CON  
PARÁMETROS MORFOCINÉTICOS**

AUTOR: Julio José Silva Rodríguez

TUTOR: Valeriana Naranjo Ornedo

COTUTOR: Adrián Colomer Granero

**Curso Académico: 2017-18**



# Resumen

Los procesos de Fertilización in Vitro (IVF) tratan actualmente con el desafío de la selección de embriones que aporten una mayor probabilidad de nacimiento exitoso. En el marco de este problema, se ha desarrollado un sistema de procesamiento de imágenes del crecimiento de embriones el cual extrae parámetros morfocinéticos relacionados con las etapas de división celular. Asimismo, se ha desarrollado un modelo mediante *machine learning* para predecir si el embrión dará lugar a un nacimiento exitoso o a una mala implantación. Se han utilizado un total de 263 videos cedidos por el Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), de los cuales se conocía si habían llevado a un nacimiento exitoso o a una implantación embrionaria fallida. Los parámetros se han obtenido combinando dos técnicas: la estimación de la cantidad de movimiento en cada imagen del video (SAD) y un modelo de predicción del número de células, hasta 5, en cada instante temporal. Para la segunda técnica se han seguido distintos enfoques. Primero, evaluando la textura y elementos morfológicos del embrión mediante *Local Binary Pattern* (LBP) y Granulometría respectivamente, combinado con técnicas de *machine learning* para la clasificación. Segundo, mediante el uso de *deep learning* con Redes Neuronales Convolucionales (CNN). Con este segundo enfoque, añadiendo un postprocesamiento basado en Campos Condicionales Aleatorios (CRF) se ha conseguido una precisión media del 85 % en la detección del número de células en el embrión. A continuación, con los parámetros morfocinéticos se ha tratado de predecir el éxito en el nacimiento del embrión o la no implantación, obteniendo un 60 % de precisión en el conjunto de test. Se han estudiado las limitaciones de estos parámetros y propuesto líneas de trabajo futuro para mejorar el modelo.

**Palabras Clave:** Fecundación In Vitro, parámetros morfocinéticos, nacimiento exitoso, implantación, sistema de procesamiento de imágenes, *machine learning*, *deep learning*.



# Resum

Els processos de Fertilització in Vitro (IVF) actualment tracten amb el desafiament de la selecció d'embrions que aportin una major probabilitat de naixement amb èxit. En el marc d'aquest problema, s'ha desenvolupat un sistema de processament d'imatges del creixement d'embrions el qual extrau paràmetres morfocinètics relacionats amb les etapes de divisió cel·lular. A més, s'ha desenvolupat un model mitjançant *machine learning* per predir si l'embrió donarà lloc a un naixement amb èxit o a una mala implantació. S'han utilitzat un total de 263 vídeos cedits per l'Institut Valencià d'Infertilitat (IVI), dels quals es coneixia si havien portat a un naixement amb èxit o a una implantació embrionària fallida. Els paràmetres s'han obtingut combinant dues tècniques: l'estimació de la quantitat de moviment en cada imatge del vídeo (SAD) i mitjançant un model de predicció del nombre de cèl·lules, fins a 5, en cada instant. Per a la segona tècnica s'han seguit diferents enfocaments. Primer, avaluant la textura i elements de l'embrió mitjançant *Local Binary Pattern* (LBP) i Granulometria, combinat amb tècniques de *machine learning*. Segon, mitjançant l'ús de *deep learning* amb Xarxes Neuronals Convolucionals (CNN). Amb aquest segon enfocament, afegint un postprocessament basat en Camps Condicionals Aleatoris (CRF) s'ha aconseguit una precisió mitjana del 85 % en la detecció del nombre de cèl·lules en l'embrió. A continuació, amb els paràmetres morfocinètics s'ha tractat de predir l'èxit en el naixement de l'embrió o la no implantació, obtenint un 60 % de precisió en el conjunt de test. S'han estudiat les limitacions d'aquests paràmetres i proposat línies de treball futur per millorar el model.

**Paraules Clau:** Fecundació In Vitro, paràmetres morfocinètics, naixement amb èxit, implantació, sistema de processament d'imatges, *machine learning*, *deep learning*.



# Abstract

The processes of In Vitro Fertilization (IVF) currently deal with the challenge of selecting embryos that provide a higher probability of successful birth. Within the framework of this problem, an image processing system for embryo growth has been developed, which obtain morphological parameters related to the stages of cell division. Likewise, a model has been developed by machine learning to predict whether the embryo will lead to a successful birth or a bad implantation. A total of 263 videos donated by the Valencian Institute of Infertility (IVI) have been used, of which it was known whether they had led to a successful birth or a failed embryo implantation. The parameters have been obtained by combining two techniques: the estimation of the amount of movement in each video image (SAD) and by means of a prediction model of the number of cells, up to 5, at each instant. For the second technique, different approaches have been followed. First, evaluating the texture and elements of the embryo through Local Binary Pattern (LBP) and Granulometry, combined with machine learning techniques. Second, by using deep learning with Neuronal Convolutional Networks (CNN). With this second approach, adding post-processing based on Random Conditional Fields (CRF), an average accuracy of 85 % has been achieved in the detection of the number of cells in the embryo. Then, with the morphokinetic parameters, it has been tried to predict the success in the birth of the embryo or the non implantation, obtaining a 60 % accuracy in the set of tests. We studied the limitations of these parameters and proposed future work to improve the model.

**Keywords:** In Vitro Fertilization, morphokinetic parameters, successful birth, implantation, image processing system, machine learning, deep learning.



# Índice general

|  |          |
|--|----------|
| Resumen  | II       |
| Resum  | III      |
| Abstract   | IV       |
| Índice general   | V        |
| <b>I Memoria</b>   | <b>1</b> |
| 1 Introducción   | 2        |
| 1.1 Fecundación in vitro . . . . .   | 2        |
| 1.1.1 Etapas del desarrollo embrionario . . . . .  | 2        |
| 1.1.2 Técnica de fertilización in vitro . . . . .  | 4        |
| 1.2 Obtención continua de imágenes del desarrollo embrionario in vitro . . . . .             | 4        |
| 1.2.1 Parámetros relacionados con el éxito en la implantación . . . . .                      | 5        |
| 2 Objetivos  | 7        |
| 3 Materiales   | 8        |
| 4 Metodología  | 9        |
| 4.1 Estrategia seguida para el desarrollo del sistema de procesamiento de imágenes . . . . . | 9        |
| 4.2 Localización del embrión en la imagen . . . . .  | 11       |
| 4.3 Estimación del movimiento del embrión (SAD) . . . . .                                    | 14       |
| 4.4 Detección del número de células . . . . .  | 14       |
| 4.4.1 Extracción de características de las imágenes y <i>machine learning</i> . . . . .      | 15       |
| 4.4.2 <i>Deep learning</i> . . . . .   | 23       |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.4.3 Postprocesamiento del resultado en la predicción . . . . .     | 27        |
| 4.5 Cálculo de los parámetros morfocinéticos . . . . .               | 29        |
| 4.6 Predicción del éxito en la implantación . . . . .                | 31        |
| <b>5 Resultados</b>  | <b>33</b> |
| 5.1 Resultados en la detección del número de células . . . . .       | 33        |
| 5.2 Resultados en el cálculo de parámetros morfocinéticos . . . . .  | 36        |
| 5.3 Resultados en la predicción del éxito en el nacimiento . . . . . | 37        |
| <b>6 Discusión</b>   | <b>40</b> |
| <b>7 Conclusiones</b>  | <b>44</b> |
| <b>II Presupuestos</b>   | <b>45</b> |
| <b>8 Presupuestos</b>  | <b>46</b> |
| 8.1 Introducción . . . . .   | 46        |
| 8.2 Presupuestos detallados. . . . .                                 | 46        |
| 8.2.1 Mano de obra. . . . .  | 46        |
| 8.2.2 Software. . . . .  | 47        |
| 8.2.3 Hardware . . . . .   | 47        |
| 8.3 Presupuesto total . . . . .                                      | 48        |
| <b>Bibliografía</b>  | <b>50</b> |

**Parte I**

**Memoria**



# Capítulo 1

## Introducción

### 1.1 Fecundación in vitro

La embriología humana es la rama de la biología que estudia el desarrollo prenatal de las células sexuales humanas (gametos), desde la fertilización al desarrollo del embrión y feto hasta el nacimiento del ser vivo. En dicho desarrollo se pueden diferenciar dos etapas: embriogénesis y desarrollo fetal. La embriogénesis humana es el proceso de división y diferenciación celular del embrión durante las etapas de desarrollo más temprana, hasta la octava semana. Por otro lado, el desarrollo fetal es el periodo en el cual, con las células ya diferenciadas, se produce el crecimiento de las estructuras principales del organismo, hasta el nacimiento del ser vivo.

#### *1.1.1 Etapas del desarrollo embrionario*

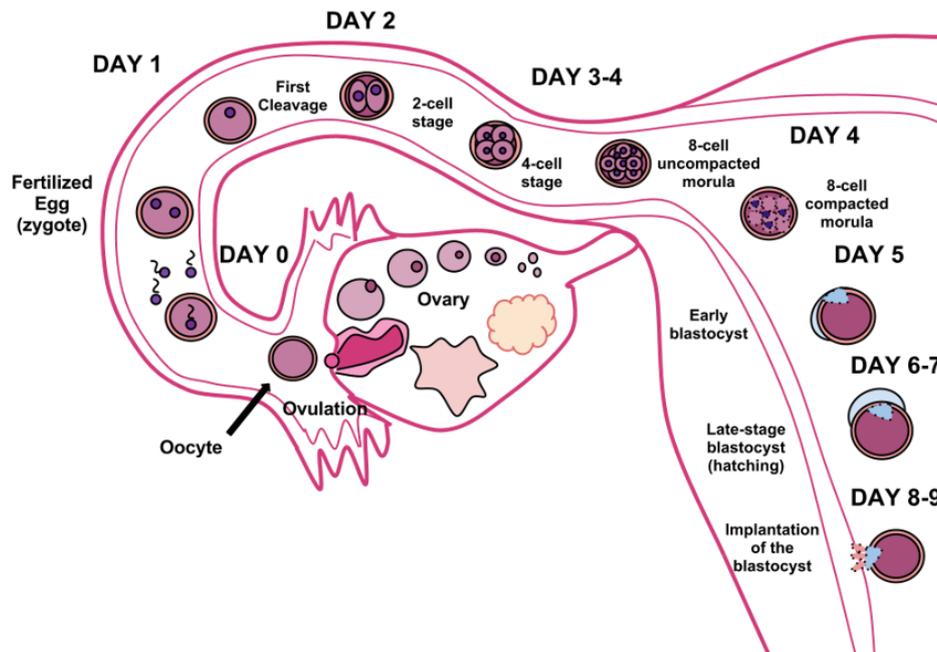
Dentro de la embriogénesis, se tiene a su vez distintas etapas hasta alcanzar el estado de diferenciación celular, divididas en cuatro partes cronológicamente: estado germinal, gastrulación, neurulación y organogénesis.

El estado germinal es el periodo desde la fertilización del gameto femenino (óvulo) por el masculino (espermatozoide) hasta la implantación del embrión en las paredes uterinas. Tiene una duración de alrededor de diez días. En la Figura 1.1 se muestran las etapas que lo componen, así como la cronología de las mismas desde la fertilización. Dichas etapas Tienen lugar en el aparato reproductor femenino, en las trompas de Falopio y el útero. Estas son y se denominan: [1]:

- Fertilización. El gameto masculino entra en el femenino atravesando la zona pellucida (ZP), una capa glicoproteica, y se produce la meiosis. Este es el proceso en el cual se mezcla el material genético de ambas células, obteniendo una célula denominada cigoto. Normalmente tiene lugar en las trompas de Falopio.
- División celular. Comienza al ocurrir la primera mitosis del cigoto, esto es, la división a dos células con idéntico material genético. El número de células se va duplicando consecutivamente

hasta dieciséis. En esta primera etapa a cada célula individual se le conoce como blastómero. Estos, conforme avanza la división celular van creando uniones entre ellas, permitiéndoles crecer de forma coordinada. Esta etapa tiene una duración de entre tres y cuatro días tras la fertilización.

- Blastulación. Proceso de formación de un blastocito. Este es una estructura compuesta por dos agrupaciones de células: trofoblastos e ICM (*Inner Cell Mass*). La primera es una capa circular que rodea la ICM, formando una cavidad con fluido. Esta capa es la precursora de la placenta en etapas posteriores. En cuanto al ICM, es un conjunto de células madre (diferenciables en cualquier tipo de célula) que formará el embrión a continuación. El proceso ocurre del quinto al séptimo día tras fertilización.
- Implantación. Se produce entre el día seis a ocho tras fertilización. El trofoblasto desarrollado une el blastocito al epitelio de la pared uterina, desarrollándose la placenta como conexión entre el embrión y esta.



**Figura 1.1:** Etapa Germinal del desarrollo embrionario. Obtenido de [2].

A continuación, en las siguientes etapas del desarrollo embrionario (gastrulación, neurulación y organogénesis) se comienzan a formar los distintos tejidos (nervioso, cartilaginoso, óseo, etc) a partir de la ICM, hasta conformar la estructura inicial de un feto.

### ***1.1.2 Técnica de fertilización in vitro***

En ocasiones, determinadas personas pueden tener problemas de infertilidad (masculina o femenina) en la concepción. La infertilidad femenina engloba problemas en la ovulación por causas endocrinas o físicas como por ejemplo el bloqueo de las trompas de Falopio (endometriosis). También puede ser debida a desórdenes en el transporte de los gametos en el aparato reproductor femenino. En cuanto a la infertilidad masculina, puede ser ocasionada por la producción de un bajo número de espermatozoides o a la baja movilidad de los mismos, así como a la obstrucción de los conductos seminales [3].

Una de las soluciones ante estos problemas es la técnica de Fertilización In Vitro (IVF). Este es un procedimiento en el cual los gametos se combinan fuera del cuerpo. El embrión desarrolla su etapa de estado germinal in vitro, y es implantado en las paredes uterinas el día 5 - 7 después de fertilización. El procedimiento cuenta con técnicas de hiperestimulación ovárica mediante hormonas para obtener un mayor número de óvulos, que son retirados de los ovarios mediante una aguja guiada con ultrasonido. Los espermatozoides son preparados eliminando células inactivas o con baja movilidad. A continuación, se fertilizan los gametos realizando una incubación conjunta en cultivo o mediante la técnica de Inyección Intracitoplasmática de Esperma (ICSI). Esta segunda técnica consiste en inyectar con una micropipeta el espermatozoide dentro del óvulo, evitando el proceso de unión espermatozoide-superficie ovarica que puede ser problemática en casos de infertilidad masculina. Una vez fertilizado el óvulo, se tiene en cultivo durante la etapa de división celular y blastulación, durante las cuales se puede analizar la morfología del embrión para seleccionar aquellos con más probabilidad de implantación. Finalmente, se realiza la implantación en la pared uterina mediante un catéter con los embriones seleccionados en lo que se conoce como ciclo de transferencia.

## **1.2 Obtención continua de imágenes del desarrollo embrionario in vitro**

Uno de los principales desafíos en IVF es la selección de embriones con una mayor probabilidad de implantación exitosa y nacimiento. Con ello se puede además evitar la implantación de varios embriones (que se realiza para aumentar la probabilidad de conseguir un embarazo exitoso) y reducir el ratio de embarazos múltiples. En los últimos años se ha comenzado a utilizar en el laboratorio herramientas para la toma continua de imágenes del cultivo del embrión, como la que se puede observar en la Figura 1.2. En ella se coloca el cultivo del embrión tras la fertilización, y se puede observar su evolución sin influir en el mismo. Con ello se obtiene información del desarrollo y morfología de los procesos que permita realizar una mejor selección de embriones a implantar [4].

Clásicamente la evaluación morfológica del embrión se basa en la visualización en momentos puntuales por medio de un experto. En el procedimiento se retira el embrión del cultivo para su visualización mediante microscopía. Esto tiene efectos negativos por la manipulación del entorno del cultivo. Además, es realizada en tiempos discretos y de manera subjetiva, dependiendo de la experiencia del experto. Actualmente, los sistemas de adquisición periódica de imágenes están incrustados en el sistema de cultivo. Por ello, no se afecta el entorno para su análisis y se pueden realizar de forma continua en el tiempo. Además, añadiendo sistemas automáticos de análisis de imagen se consigue un procedimiento objetivo y rápido, evitando los largos tiempos de entrenamiento del personal y de análisis manual de la gran



**Figura 1.2:** Dispositivo de cultivo y adquisición de imágenes del embrión. Obtenido de [5].

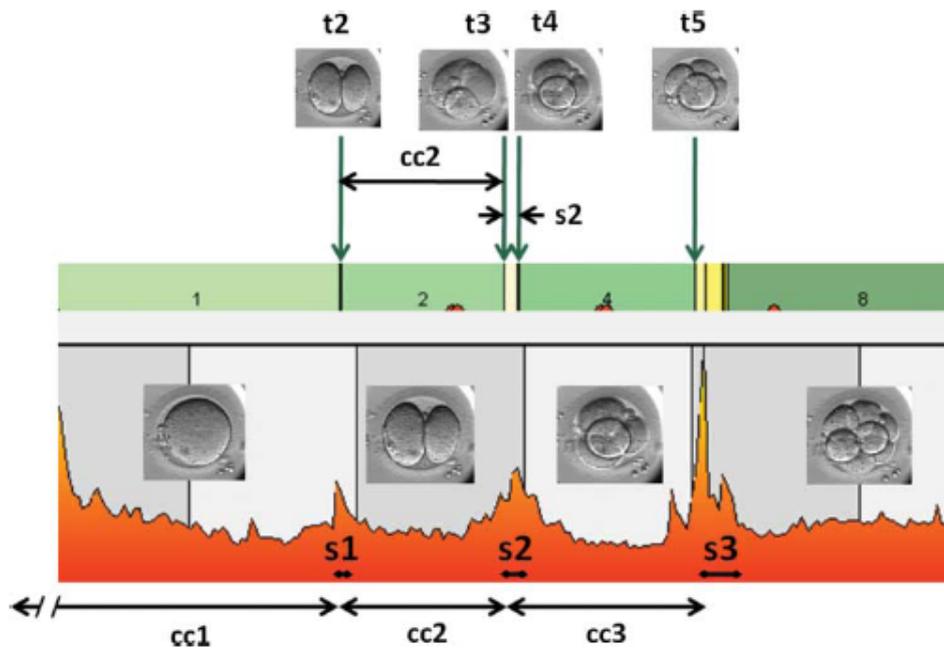
cantidad de datos. Una grabación del proceso dura hasta 100 horas tras la fertilización, con una imagen adquirida cada 15 minutos, lo cual supone aproximadamente 400 imágenes a analizar por cada muestra.

### ***1.2.1 Parámetros relacionados con el éxito en la implantación***

Uno de los objetivos para la mejora de la selección de embriones es encontrar parámetros morfocinéticos (relacionados con la morfología y cambios en el embrión) que correlen con el éxito en la implantación embrionaria y el nacimiento. En [6] se presentan una serie de parámetros basados en tiempos críticos de la etapa de división celular. Estos toman como referencia el instante de fertilización, y son los siguientes (Figura 1.3):

- **t2:** tiempo desde fertilización hasta el momento en el que se produce la primera mitosis, pasando de 1 a 2 células, y observándose dos blastocitos completamente separados por membranas.
- **t3:** instante en el cual se produce la división de un blastocito, pasando de 2 a 3 células.
- **t4:** instante en el cual se produce una nueva división. Se tienen entonces 4 blastocitos diferenciados completamente en el embrión. En ocasiones, según la frecuencia de adquisición de imágenes puede coincidir con t3.
- **t5:** instante en el cual, tras una nueva división en un blastocito, se tienen 5 células en el embrión.
- **cc2:** segundo periodo de interfase. Un periodo de interfase es aquel en el cual la célula se desarrolla previo a una división celular. En este caso, se trata de la interfase de dos células, hasta dividirse a tres células. Es decir,  $cc2 = t3 - t2$ .
- **cc3:** tercer periodo de interfase, desde que se tienen 4 células diferenciadas hasta que comienza la mitosis de los blastocitos pasando de 4 a 8 células. Este instante se define en la aparición de la célula 5.  $cc3 = t5 - t4$ .

- **s1**: duración de la primera mitosis. Tiempo que tarda en estabilizarse la presencia de dos células desde el inicio de la división.
- **s2**: duración de la segunda mitosis. Al no presentar periodo de interfase entre tres y cuatro células, se tiene que  $s2 = t4 - t3$ .
- **s3**: duración de la tercera mitosis.



**Figura 1.3:** Parámetros morfocinéticos relacionados con los tiempos críticos en la división celular. Obtenido de [6].

Estudios extensivos han reflejado que la transferencia de embriones con fases de división celular más temprana (valores de los parámetros indicados más bajos) obtiene mayores ratios de implantación exitosa [7, 8, 6]. Aún así, los resultados al respecto presentan cierta problemática. En cada ciclo de transferencia de embriones se implantan varios de ellos, cada uno con una fase de división celular más temprana o tardía, sin saber cual de ellos ha resultado en el nacimiento exitoso del recién nacido. Por otro lado, no se ha demostrado aún que dichos parámetros sean predictores independientes del éxito en la implantación, y no corren con otros parámetros dependientes de la morfología del embrión.



## Capítulo 2

# Objetivos

La base de datos generada para este proyecto contiene un total de 263 videos de embriones en cultivo durante el proceso de IVF previo a la transferencia al útero materno e implantación, cedidos por el Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI). Estos tienen una duración de en torno a 5 días, con un periodo de adquisición de una imagen cada 30 minutos aproximadamente. De ellos, 143 embriones dieron lugar en su ciclo de transferencia a un nacimiento exitoso, y 120 no tuvieron una correcta implantación.

El objetivo general del presente Trabajo Final de Máster es desarrollar un sistema de procesamiento de imágenes para la obtención de parámetros morfocinéticos, con los cuales tratar de predecir el nacimiento exitoso a partir de los videos. Dentro de este, se presentan una serie de objetivos específicos para el desarrollo del mismo:

- **Cálculo de parámetros morfocinéticos.**
  - Desarrollar un predictor del número de células en el embrión en cada imagen del video.
  - Calcular los parámetros temporales en la etapa de división celular presentados en el apartado 1.2.1. de la memoria.
- **Predicción del éxito en el nacimiento.**
  - Estudiar la capacidad de discriminación de los parámetros entre procesos de IVF con nacimiento exitoso y procesos no exitosos.
  - Desarrollar un modelo predictivo mediante técnicas de *machine learning* a partir de los parámetros del éxito en el nacimiento o fracaso en la implantación embrionaria.



## Capítulo 3

# Materiales

Los materiales utilizados para el desarrollo del trabajo son videos cedidos por el Instituto Valenciano de Infertilidad de embriones y software para el desarrollo del sistema de procesamiento de imágenes.

La base de datos utilizada para el proyecto contiene 263 videos del desarrollo del embrión hasta las 100 horas post fertilización, con una frecuencia de adquisición de una imagen cada 30 minutos. Del total de videos 120 embriones están clasificados como de nacimiento exitoso por el Instituto Valenciano de Infertilidad, mientras que a los restantes 143 se les asocia una implantación no exitosa. La base de datos es dividida en dos conjuntos, uno de entrenamiento o desarrollo del sistema, y un segundo de testeo del mismo (Tabla 3.1). El segundo conjunto permanece al margen del desarrollo del sistema, y únicamente se utiliza para evaluar su rendimiento. Se asigna el 20 % de los videos al conjunto de test, y el resto a entrenamiento de forma aleatoria, procurando mantener balanceadas las clases de nacimiento exitoso y no implantación en ambos conjuntos.

| Grupo      | Cantidad - (%) | Nacidos con Vida - (%) | No Implantación - (%) |
|------------|----------------|------------------------|-----------------------|
| Total      | 263 - (100.00) | 120 - (45.63)          | 143 - (54.37)         |
| Desarrollo | 211 - (80.23)  | 97 - (45.97)           | 114 - (54.03)         |
| Test       | 52 - (19.77)   | 23 - (44.23)           | 29 - (55.77)          |

**Tabla 3.1:** Base de datos de videos de embriones y división de la misma en desarrollo y testeo del sistema de procesamiento de imágenes.

Para el desarrollo del sistema de procesamiento de imágenes se utiliza el software ®Matlab en su versión 2018a.

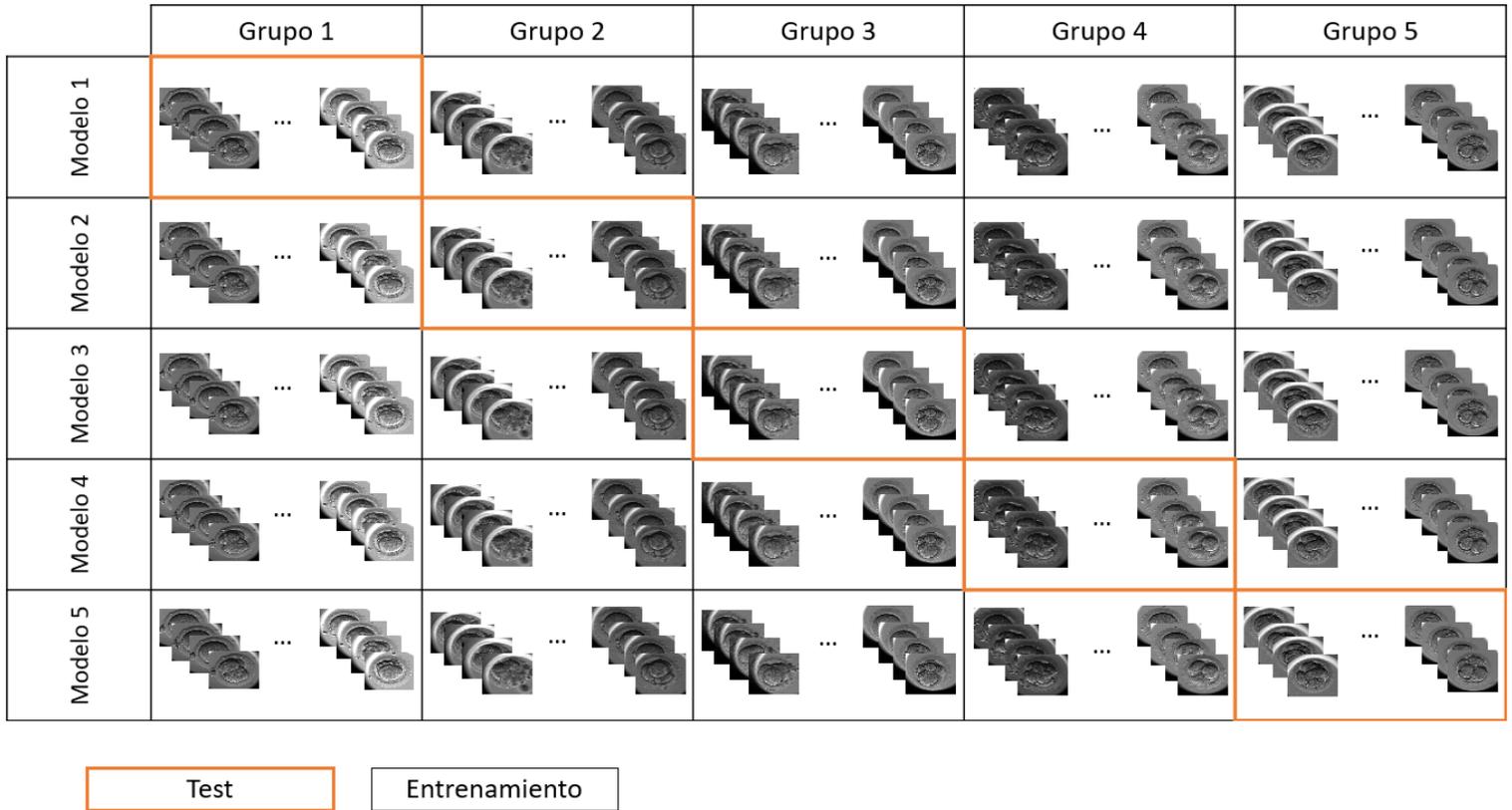


## Capítulo 4

# Metodología

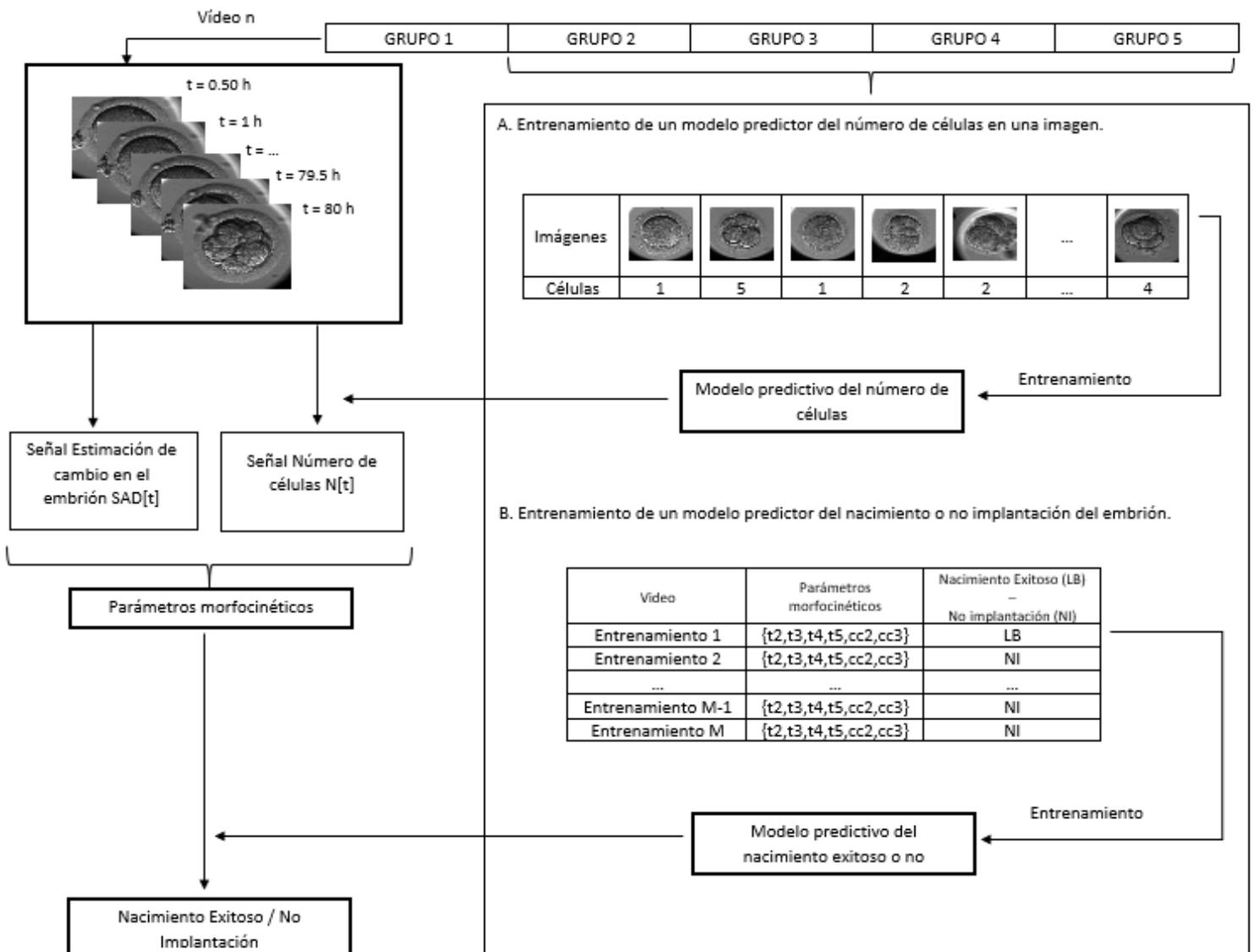
### 4.1 Estrategia seguida para el desarrollo del sistema de procesamiento de imágenes

En el desarrollo del sistema de procesamiento de imágenes se requiere utilizar y testear distintas técnicas de *deep learning* y *machine learning*. Para entrenar los modelos empleando estas técnicas es necesario dividir la base de datos, de forma que se entrene con unas muestras (videos) y se valide el resultado con otras muestras distintas. Esto puede ocasionar un sesgo a la hora de evaluar el modelo obtenido, debido a que solo se usa una parte de los datos para ello. Para evitar este sesgo, se decide seguir una estrategia de validación cruzada en  $K$  grupos. En ella, el total de  $N$  videos se divide en  $K$  grupos, de forma que cada grupo tiene  $M = N/K$  videos. Se obtienen entonces  $K$  modelos, y para cada uno de ellos se utiliza uno de los grupos creados para validar el modelo, y el resto de grupos para entrenarlo. En este trabajo se decide utilizar  $K = 5$  grupos. El proceso está representado en la Figura 4.1. De esta forma, todas las muestras son utilizadas para entrenamiento y evaluación de los modelos. Promediando los resultados de la validación de los modelos se obtiene entonces un resultado con menos sesgo. Otro factor a tener en cuenta es la distribución del tipo de videos en los distintos conjuntos. En este caso, se tienen videos que llevaron a un nacimiento exitoso o aquellos con una implantación fallida. En cada uno de los grupos de validación cruzada se debe asegurar que se mantenga la proporción inicial de ambas clases. Con ello se consiguen resultados más representativos de la base de datos total en cada uno de los conjuntos de validación cruzada.



**Figura 4.1:** Validación cruzada con 5 grupos.

Los dos procesos asociados a la necesidad de entrenar modelos predictivos son la detección del número de células en el embrión y la predicción de la no implantación o nacimiento exitoso del mismo. Un diagrama de bloques del proceso puede observarse en la Figura 4.2. Para cierto video  $n$  de uno de los grupos de validación cruzada, primero se obtienen los modelos de predicción del número de células en los fotogramas (Figura 4.2.A) y del éxito de la implantación y nacimiento del embrión (Figura 4.2.B). Estos se realizan entrenando con los videos que pertenecen al resto de grupos. El primero se obtiene a partir de todos los fotogramas de los videos, y las etiquetas manuales del número de células de cada imagen. El segundo se obtiene a partir de los parámetros morfocinéticos obtenidos manualmente para todos los videos, y las etiquetas de nacimiento exitoso o no implantación. Una vez se tienen los modelos, se obtiene a partir del video  $n$  la señal número de células en cada fotograma  $N[t]$  y una señal estimación del cambio en cada fotograma  $SAD[t]$ . La obtención de ambas señales será detallada en los apartados posteriores. A partir de estas, se obtienen los parámetros morfocinéticos, y con el modelo obtenido se predice si el video  $n$  está asociado a un nacimiento exitoso o a una no implantación del embrión.

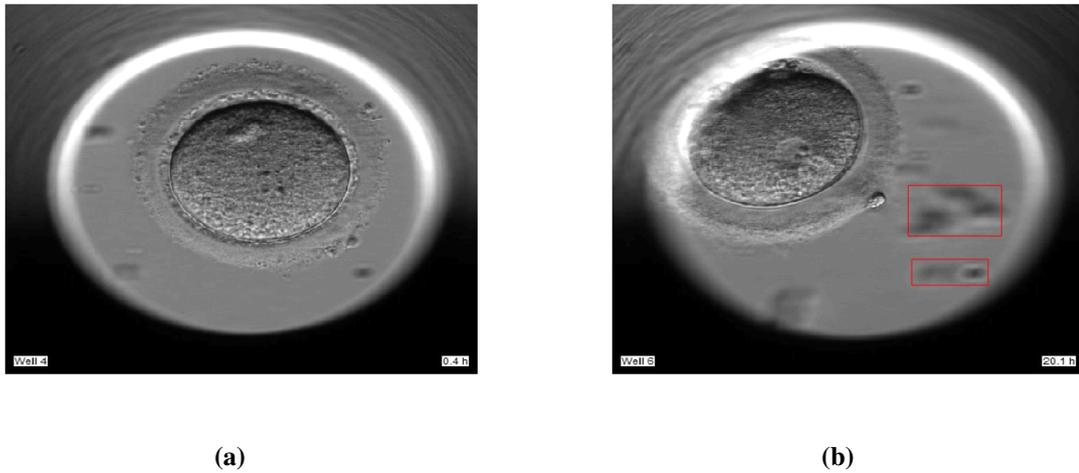


**Figura 4.2:** Diagrama de bloques del proceso de obtención de la clasificación no implantación o nacimiento exitoso a partir de un video de un grupo de entrenamiento.

## 4.2 Localización del embrión en la imagen

En los videos del desarrollo embrionario se tiene una visión del cultivo dentro de un marco circular en un plano. Este puede además tener artefactos fuera del embrión que afecten a la detección de las divisiones celulares. Por otro lado, el embrión no tiene por qué encontrarse centrado en la imagen, puede en ocasiones estar tapado por el marco. Un ejemplo de estos problemas puede visualizarse en la Figura 4.3.

Por tanto, surge la necesidad de desarrollar un algoritmo para detectar el centro del embrión en cada imagen del video. Este está basado en que visualmente, al observar el video, se observa como en el



**Figura 4.3:** Ejemplos de posicionamiento del embrión dentro de la imagen. En (a) se tiene un embrión centrado y en (b) un fotograma con artefactos enmarcados en rojo y el embrión no centrado en la imagen.

interior de la célula (citoplasma) se producen movimientos y cambios, mientras que el resto de la imagen permanece relativamente constante.

A partir de un video  $v[x, y, t]$ , siendo  $x$  e  $y$  las coordenadas espaciales de los pixeles de la imagen y  $t$  el instante temporal de cada imagen, para obtener el centro de la imagen en un fotograma  $v[x, y, t_i]$  se siguen los siguientes pasos:

1. Obtener la diferencia absoluta entre una imagen y la consecutiva en el video (Figura 4.4 A-B).

$$v_d[x, y] = \text{abs}(v[x, y, t_i] - v[x, y, t_{i+1}]) \quad (4.1)$$

Con esto se obtiene una imagen de baja intensidad, ya que las dos imágenes son muy parecidas, pero se puede apreciar un moteado en la zona del embrión (Figura 4.4 C), debido a los movimientos indicados que se observan en el interior el embrión.

2. Aplicar un suavizado sobre el resultado, para homogeneizar la zona con moteado en el embrión. Se aplica un filtro convolucional gaussiano sobre la imagen  $v_d[x, y]$ .

$$v_{ds}[x, y] = v_d[x, y] \otimes G[x, y] \quad (4.2)$$

siendo  $G[x, y]$  un *kernell* gaussiano que sigue la expresión:

$$G[x, y] = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}}, \quad \text{fijando } \sigma = 5. \quad (4.3)$$

El resultado puede observarse en la Figura 4.4 D.

3. Realzar el centro del embrión. Para ello, se aplica una operación morfológica de erosión con un elemento estructurante circular. Esta es una operación de mínimo, con lo cual la intensidad en la zona central del círculo no se verá afectada mientras que en la zona exterior, al estar en contacto con el fondo de baja intensidad se verá erosionada.

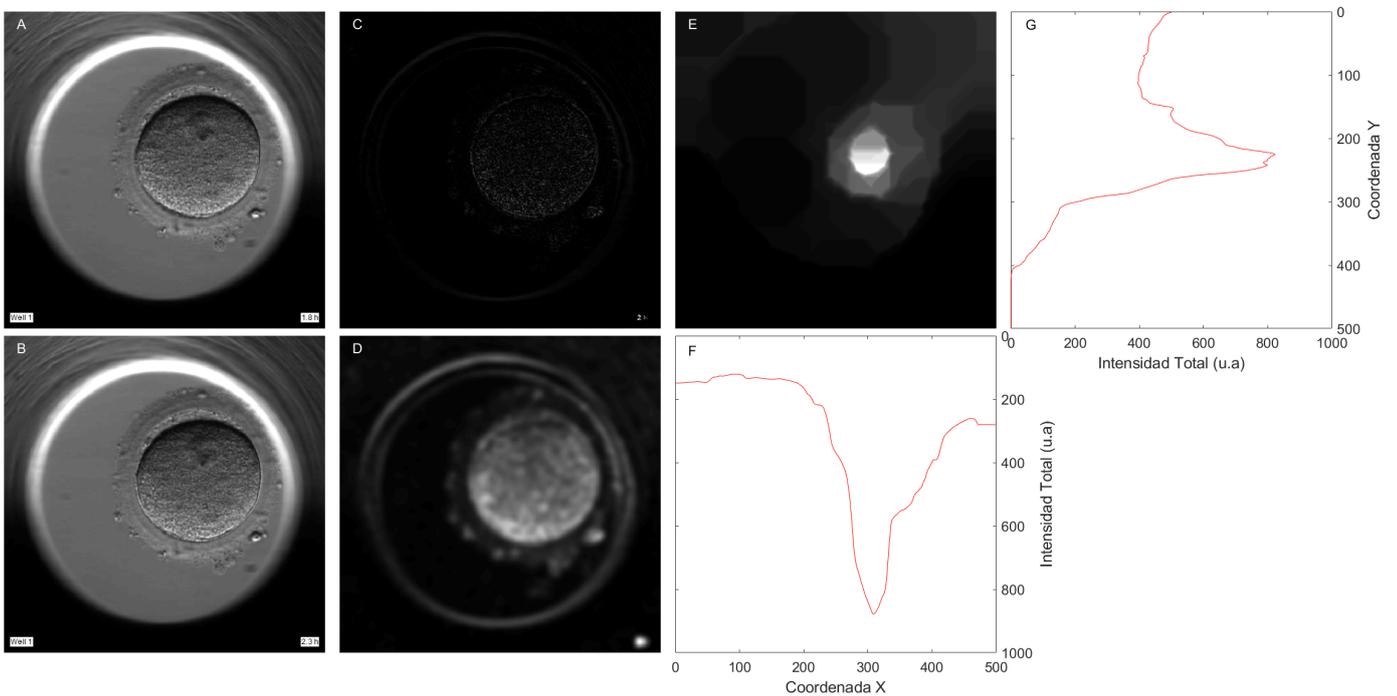
$$v_{dse}[x, y] = (v_{ds} \ominus ee)[x, y] = \min(v_{ds}[x + x', y + y'] : [x', y'] \in D_{ee}) \quad (4.4)$$

Siendo  $ee[x, y]$  el elemento estructurante, con dominio  $D_{ee}$ , que en este caso se trata de un círculo de radio 70 píxeles. Como resultado se tiene una zona de mayor intensidad en la imagen en el centro del embrión, la cual es más sencilla de detectar (Figura 4.4 E).

4. Obtención del centro del embrión  $[c_x, c_y]$  a partir de la coordenada en la cual las proyecciones en  $x$  e  $y$  de la imagen alcanzan su punto máximo (Figura 4.4 F-G).

$$c_x = x : p[x] = \max(p[x]) \quad , \quad \text{siendo} \quad p[x] = \sum_y v_{dse}[x, y] \quad (4.5)$$

$$c_y = y : p[y] = \max(p[y]) \quad , \quad \text{siendo} \quad p[y] = \sum_x v_{dse}[x, y] \quad (4.6)$$



**Figura 4.4:** Algoritmo para la detección del centro del embrión. A) y B): dos fotogramas consecutivos  $v[x, y, t_i]$  y  $v[x, y, t_{i+1}]$  respectivamente. C): imagen diferencia absoluta entre A) y B),  $v_d[x, y]$ . D):  $v_{ds}[x, y]$ , imagen C) tras aplicar un filtro gaussiano para suavizar. E):  $v_{dse}[x, y]$ , resultado de aplicar un filtro morfológico de erosión sobre D). F) y G): proyecciones en  $x$  e  $y$  de E).

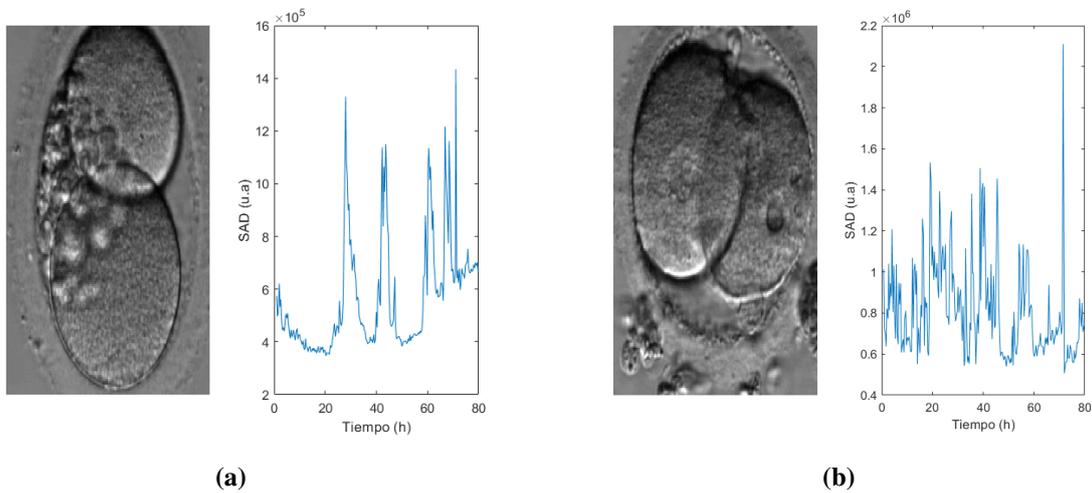
Una vez localizado el centro del embrión, se realiza un enventanado de la imagen a partir de este, quedando una imagen únicamente del embrión.

### 4.3 Estimación del movimiento del embrión (SAD)

A continuación, se busca detectar los tiempos de división celular. Intuitivamente, en estos instantes se producirán mayores cambios en la imagen que mientras permanece en periodo de interfase. Por ello, se procede a estimar la cantidad de cambio o movimiento de la imagen. Se obtiene la señal de diferencia absoluta (SAD) entre imágenes consecutivas como estimación de la cantidad de cambio.

$$SAD[t_i] = abs\left(\sum_x \sum_y (v[x, y, t_i] - v[x, y, t_{i+1}])\right) \quad (4.7)$$

Con el SAD se obtiene una señal temporal, con picos en los momentos de división celular (Figura 4.5). Aún así, este método es insuficiente para detectar los instantes de división celular por si solo de manera precisa. Pueden aparecer picos debido a la presencia de artefactos que se confundan con los de división celular en cultivos ruidosos, creando falsos positivos.



**Figura 4.5:** Ejemplos de señales  $SAD[t]$  obtenidas. (a):  $SAD[t]$  con resultado positivo. (b):  $SAD[t]$  con resultado negativo.

En la Figura 4.5 a) y b) se puede observar un caso donde con el SAD se obtendría un buen resultado y un resultado negativo respectivamente. En (a) se obtiene una buena señal, donde se distinguen los picos de división celular. En cuanto al caso (b), está afectado por artefactos exteriores al embrión, y no se puede distinguir con precisión los instantes de mitosis.

### 4.4 Detección del número de células

Para dar soporte a la señal  $SAD[t]$ , y lidiar con los casos problemáticos, se busca desarrollar un modelo que, dada una imagen en el instante de tiempo  $i$ ,  $v[x, y, t_i]$ , devuelva una etiqueta  $l_i$ , siendo  $l \in L\{1 \text{ célula}, 2 \text{ células}, 3-4 \text{ células}, 5+ \text{ células}\}$ . Esto es, un modelo que clasifique si una determinada imagen del embrión tiene 1 célula, 2 células, 3 o 4 células, o 5 o más células. Se unen los embriones con 3 y 4 células, ya que el número de imágenes con 3 células es bajo, y a veces es complicado distinguir entre ambas. Por otro lado, se clasifica hasta 5 células porque es lo necesario para sacar los parámetros de tiempo escogidos, y es difícil discernir el número de células visualmente a partir de ese instante.

Para entrenar el modelo de predicción del número de células se cuenta con 211 videos del conjunto de entrenamiento del sistema, con un total de 70.000 imágenes, donde las clases están repartidas en un 25 %, 20 %, 20 %, 35 % para 1 célula, 2 células, 3-4 células y 5+ células respectivamente. Como referencia se ha etiquetado manualmente las imágenes en las cuatro posibles clases.

Se siguen dos enfoques a la hora de desarrollar el modelo:

- Extracción de características de la imagen y clasificación con *machine learning*.
- Uso de *deep learning* para la extracción de parámetros y clasificación.

#### 4.4.1 Extracción de características de las imágenes y machine learning

En este enfoque, se pretende extraer ciertas características de las imágenes del embrión (parámetros), las cuales extraigan la información relevante de la imagen con el objetivo de poder diferenciar el número de células que esta contiene. Se emplean dos tipos de descriptores: *Local Binary Patterns* y granulometría.

- **Local Binary Pattern (LBP).**

La técnica de LBP extrae características relacionadas con la textura de la imagen. Analiza las variaciones alrededor de cada píxel, asignando una etiqueta o valor asociado a cada patrón posible [9]. La distribución de estas etiquetas en toda la imagen por medio del histograma es usada entonces como característica de la misma. En el campo de análisis de imágenes de embriones, ha sido utilizada para tratar de extraer información relacionada con la implantación exitosa del embrión [10].

Se trata de un método robusto a cambios en la iluminación o la escala de grises de la imagen. Esto es debido a que compara píxeles cercanos alrededor de cierto vecindario circular para cada punto de la imagen. Al analizar cada píxel de forma local no se ve afectado por inhomogeneidades en el nivel de gris.

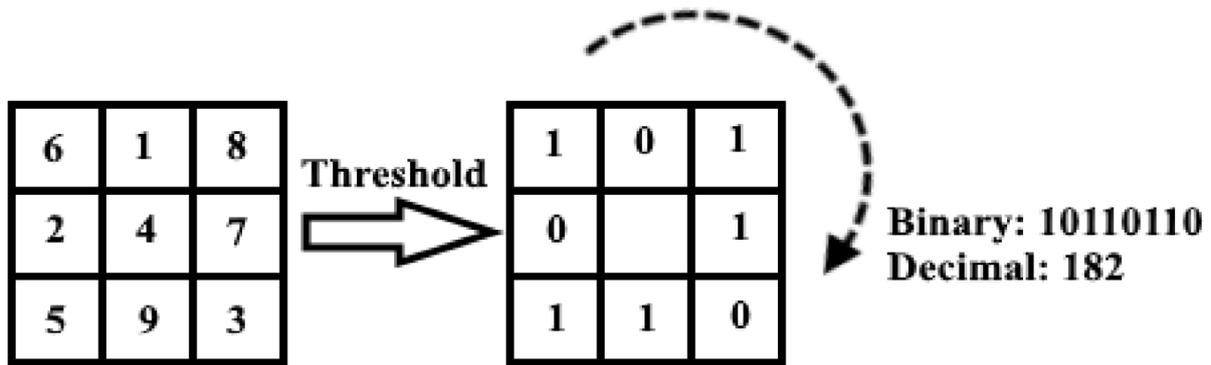
El  $LBP_{P,R}$  de una imagen viene definido por el número de vecinos utilizados ( $P$ ) y por el radio de distancia de los vecinos al píxel central ( $R$ ). Consiste en asignar a cada píxel de la imagen un valor o etiqueta según su relación con sus  $P$  vecinos de radio  $R$  de la siguiente forma:

$$LBP_{P,R}(i, j) = \sum_{p=0}^{P-1} s(g_p - g_c) \cdot 2^p, s(x) = \begin{cases} 1, & \text{if } x \geq 0 \\ 0, & \text{if } x < 0 \end{cases} \quad (4.8)$$

siendo  $g_p$  el valor de gris del píxel vecino y  $g_c$  el valor del gris del píxel central ( $i, j$ ).

La expresión consiste en umbralizar los valores de los vecinos alrededor del píxel central, obteniendo una máscara de 1s y 0s según si son mayores o iguales que el valor central o menores respectivamente. Estos valores, desde la esquina superior izquierda en sentido horario, forman una cadena binaria que posteriormente se convierte en etiqueta decimal. Este valor decimal es asignado entonces al píxel central. Una representación del proceso puede observarse en la Figura 4.6.

Sobre la imagen de etiquetas LBP se calcula el histograma de  $2^P$  valores, normalizado según el número total de píxeles en la imagen. Esta es la firma  $LBP_{P,R}$ .

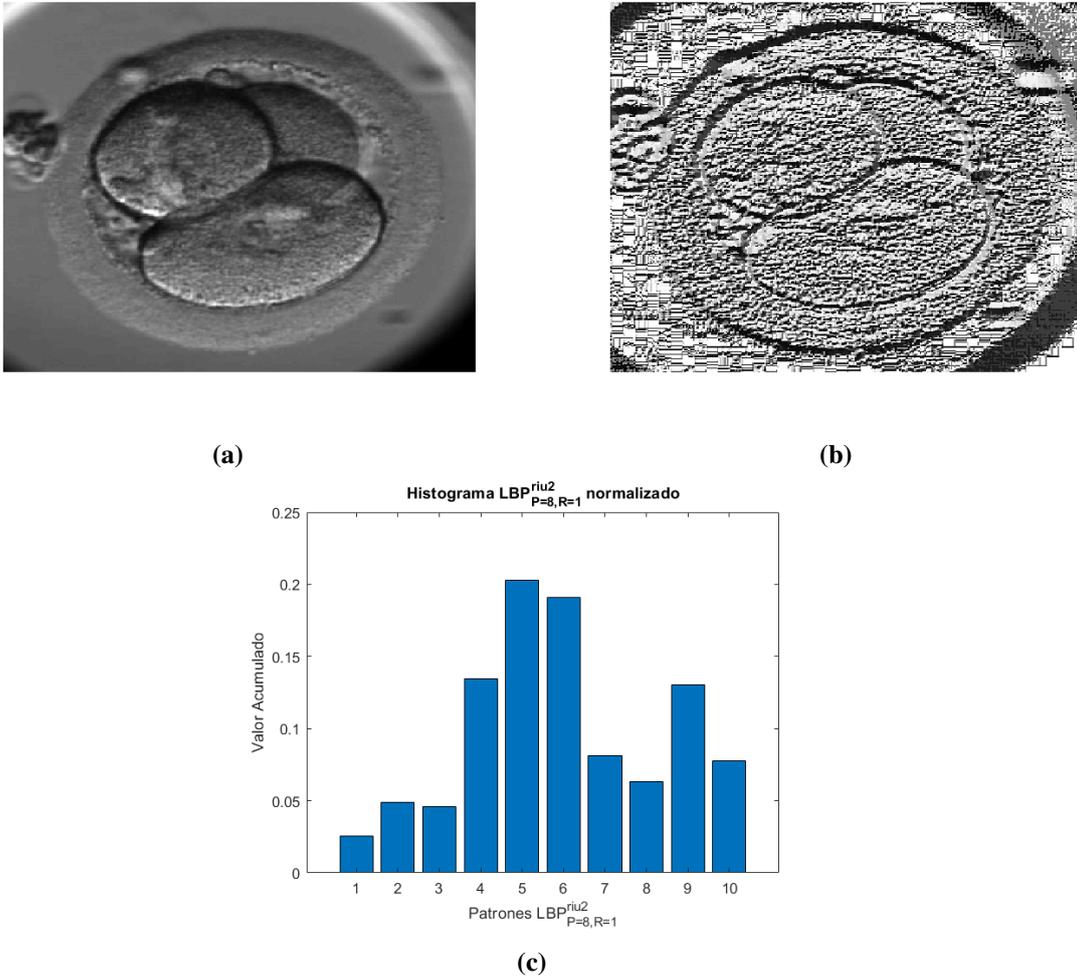


**Figura 4.6:** Proceso de obtención del valor LBP de un píxel. Obtenido de [11].

La firma  $LBP_{P,R}$  es sensible a rotaciones en los elementos de la imagen. Para obtener unas características invariantes a rotaciones, se obtiene el valor  $LBP_{P,R}^{ri}$  para cada píxel [12]. Este valor se calcula a partir del dígito binario, aplicando rotaciones circulares hasta  $P - 1$  número de vecinos utilizados, y asignando como etiqueta el menor número decimal de ellos. Por ejemplo, para el caso de la Figura 4.6, la etiqueta asignada al píxel central sería el mínimo valor decimal entre los números binarios  $\{10110110, 01101110, 11011010, 10110101, 01101011, 11010110, 10101101, 01011011\}$ . Pasando a decimal los números se tendrían los valores:  $\{182, 54, 218, 181, 107, 214, 173, 91\}$ , del cual el mínimo y por tanto etiqueta asociada sería 54. Con este método el número de etiquetas posibles para un píxel se reduce, teniendo por ejemplo para un vecindario típico de  $P = 8$  vecinos 36 posibles patrones.

La firma  $LBP_{P,R}^{ri}$  ha demostrado tener patrones con información redundante. Por ello, para extraer aquellos patrones con información propia se propone una medida de uniformidad [12]. Esta medida de uniformidad está basada en el número de transiciones entre 1s y 0s en el patrón binario. Patrones con una  $U$  (número de transiciones) menor o igual a 2 son los que tienen una mayor información. Estos son un total de 8 patrones distintos, a los cuales se les asigna la etiqueta 1 a 9. Para el resto de patrones, se les asigna la etiqueta 10. Así, se obtiene la característica  $LBP_{P,R}^{riu2}$  de la imagen.

En este trabajo se han obtenido la firma  $LBP_{P,R}^{riu2}$ , con  $P = 8$  y  $R = 1$ . Se ha testado distintos radios y número de vecinos, sin obtener mejores resultados. Un ejemplo del resultado obtenido se presenta en la Figura 4.7.



**Figura 4.7:** Resultado de característica  $LBP_{8,1}^{riu2}$  obtenida para una imagen de embrión. En (a) se tiene la imagen del embrión. En (b) la imagen LBP. En (c) la firma  $LBP_{8,1}^{riu2}$  asociada a la imagen LBP.

■ **Granulometría.**

La granulometría es una técnica basada en la aplicación de operaciones no lineales sobre la imagen para extraer características del tamaño y forma de sus elementos, sin necesidad de realizar una segmentación previa de los mismos [13]. Aplicando una serie de operaciones morfológicas de aperturas y cierres con tamaño creciente del elemento estructurante se obtiene una firma de la distribución del tamaño de los elementos en la imagen. La forma del elemento estructurante (EE) con el cuál se realiza la operación define el tipo de elementos analizados. No se conocen estudios previos que hayan aplicado estos descriptores al campo de imágenes de cultivo embrionario humano, ni para definir el número de células en un fotograma de éste ni para evaluar su implantabilidad.

Sea una imagen  $img[x, y]$  en escala de grises  $T = \{t_{min}, t_{min} + 1, \dots, t_{max}\}$ , se puede definir esta como un espacio de dos dimensiones  $F(E, T)$ , siendo  $E$  el espacio de coordenadas  $[x, y]$  y  $T$  cada uno de los niveles discretos de gris.

Dado uno de los niveles de gris de la imagen  $t_i$  se tiene una imagen binaria  $X = F(E, t_i)$ . Para cierta región  $B \in E$ , (elemento estructurante), cuya forma y tamaño son fijados por el

conocimiento a priori de los elementos de la imagen a analizar, se definen las operaciones de erosión ( $\epsilon_B$ ) y dilatación ( $\delta_B$ ) sobre X de la siguiente forma:

$$\epsilon_B(X) = (X \ominus \check{B}) = \{h \in E, X \cap B_h \neq 0\} = \bigcup_{b \in \check{B}} X_b \quad (4.9)$$

$$\delta_B(X) = (X \oplus \check{B}) = \{h \in E, X \cap B_h \neq 0\} = \bigcap_{b \in \check{B}} X_b \quad (4.10)$$

Esto es, una operación de mínimo y máximo respectivamente para cada punto del espacio de la imagen, en un vecindario definido por B.  $\check{B}$  es el elemento estructurante, con su centro trasladado a cada uno de los puntos de E en la imagen.

Para una imagen con más de un nivel de gris,  $X^g = F(E, T)$ , se define la erosión y dilatación de la misma con cierto elemento estructurante B como la operación para cada uno de los T niveles de gris.

$$\epsilon_B(X^g)[x, y] = \inf\{t_i[x, y] \in \epsilon_B(X_{t_i}^g)\}, t_i \in T \quad (4.11)$$

$$\delta_B(X^g)[x, y] = \sup\{t_i[x, y] \in \delta_B(X_{t_i}^g)\}, t_i \in T \quad (4.12)$$

Combinando estas expresiones, se puede obtener operaciones morfológicas que reducen el efecto de la operación sobre elementos que quepan en el elemento estructurante. Estas son la apertura ( $\gamma_B$ ) y cierre ( $\varphi_B$ ).

$$\gamma_B(X^g)[x, y] = \epsilon_B(\delta_B(X^g))[x, y] \quad (4.13)$$

$$\varphi_B(X^g)[x, y] = \delta_B(\epsilon_B(X^g))[x, y] \quad (4.14)$$

La firma granulométrica está basada en las operaciones de apertura y cierre previamente explicadas. A partir de una imagen del embrión  $img[x, y]$ , y un elemento estructurante EE de tamaño R, se puede obtener un perfil volumétrico de la misma aplicando sucesivas aperturas con tamaño del EE creciente ( $\Delta r$ ). Este puede ser expresado como:

$$\prod_{\gamma}(X) = \{\prod_{\gamma_R} : \prod_{\gamma_R} = \gamma_R(img), \forall R \in [0, \dots, R_{max}]\} \quad (4.15)$$

Y en el caso de operar con cierres como:

$$\prod_{\varphi}(X) = \{\prod_{\varphi_R} : \prod_{\varphi_R} = \varphi_R(img), \forall R \in [0, \dots, R_{max}]\} \quad (4.16)$$

A partir de estos volúmenes granulométricos, se puede definir una firma unidimensional de la imagen. Para ello, se define el operador  $m(img[x, y])$ , suma del valor de todos los píxeles de la imagen, tal que:

$$m(img[x, y]) = \sum_x \sum_y img[x, y] \quad (4.17)$$

La firma obtenida aplicando sucesivas aperturas es conocida como espectro granulométrico y sigue la siguiente expresión:

$$PS_{\Gamma}(img, R) = PS(img, R) = \frac{m(\Pi_{\varphi R}(img)) - m(\Pi_{\varphi R + \Delta r}(img))}{m(img)}, R \geq 0 \quad (4.18)$$

Es decir, es un vector de tantos valores como número de tamaños de elemento estructurante utilizados. Para cada tamaño de este, se aplica la operación de apertura y se obtiene la suma de todos los píxeles de la imagen. A este valor se le resta el obtenido en el anterior tamaño de elemento estructurante, y se normaliza el resultado respecto a la suma de todos los píxeles de la imagen inicial. Esto, se interpreta como que la firma granulométrica de aperturas representa cuántos elementos nuevos de la imagen se han eliminado en cada incremento del elemento estructurante.

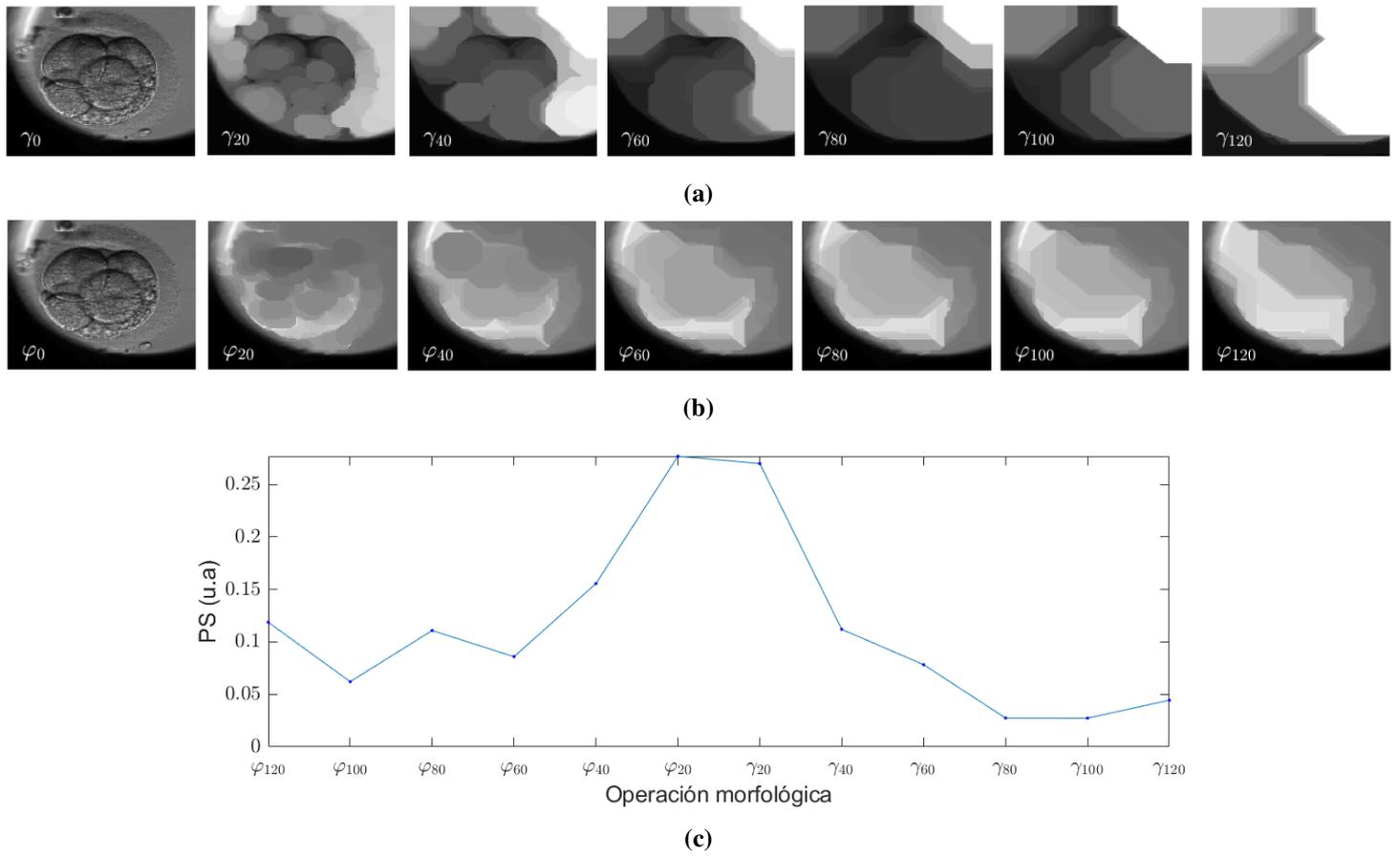
De forma similar, se tiene el espectro anti-granulométrico utilizando el volumen obtenido mediante operaciones morfológicas de cierre, el cual se define como:

$$PS_{\phi}(img, R) = PS(img, R) = \frac{m(\Pi_{\gamma R}(img)) - m(\Pi_{\gamma R + \Delta r}(img))}{m(img)}, R \geq 0 \quad (4.19)$$

Las firmas  $PS_{\Gamma}(img, n)$  y  $PS_{\phi}(img, -n)$  son complementarias. La primera representa el tamaño de las estructuras brillantes en la imagen, mientras que la segunda el de las oscuras respecto al fondo. Ambas curvas son finalmente juntadas en una sola:

$$PS(img, R) = \{PS_{\phi}(img, R), PS_{\Gamma}(img, R)\}, n \geq 0 \quad (4.20)$$

En este trabajo, se busca extraer características granulométricas para la predicción del número de células en un fotograma. Teniendo en cuenta la forma circular de las células en la imagen, se decide utilizar un elemento estructurante con forma de disco. Bajo la premisa de que conforme aumente el número de células en el embrión estas tendrán menor tamaño, el incremento del radio del elemento estructurante será de 0 a 120, en incrementos de 20 píxeles. Un ejemplo del resultado obtenido con una imagen de cuatro células se muestra en la Figura 4.8.



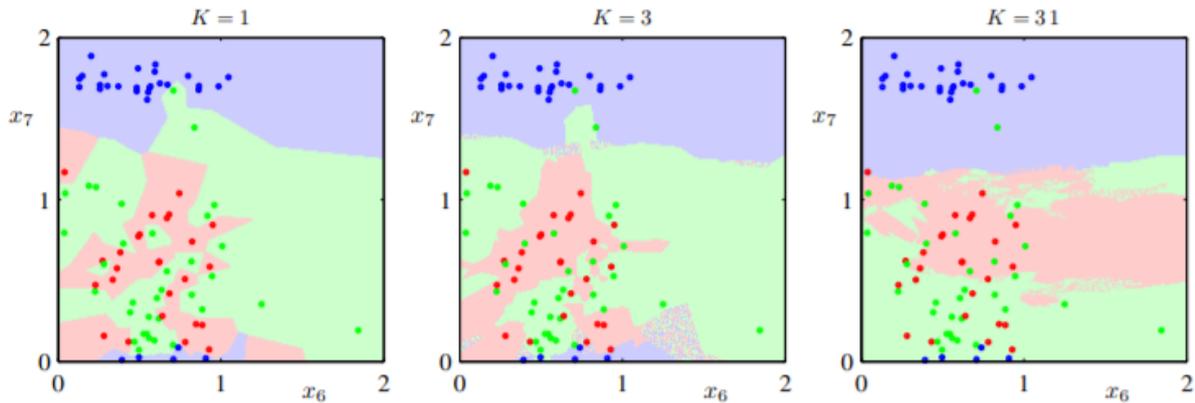
**Figura 4.8:** Obtención de la firma granulométrica de una imagen de embrión. En (a) se tiene el volumen de aperturas. En (b) se tiene el volumen de cierres. En (c) se tiene la firma granulométrica obtenida para la imagen.

En la Figura 4.8 (a) se observa, de izquierda a derecha, desde la imagen original hasta la obtenida aplicando una apertura con un elemento estructurante circular de radio 120 píxeles, en incrementos de 20. Estas imágenes son las que componen el volumen de aperturas explicado anteriormente. Se observa que, al tener cuatro células de menor tamaño, el principal cambio en la imagen se produce ya con radios bajos. Análogamente se tiene en 4.8 (b) el resultado de aplicar las operaciones morfológicas de cierre. En 4.8 (c), se muestra la firma granulométrica, juntando las dos firmas anteriores. Se observa como los valores más altos en ella son a valores bajos de radio, al ser las células de pequeño tamaño.

Una vez se tienen las dos firmas (LBP y Granulometría), estas forman vectores de características que alimentarán la fase de entrenamiento del modelo predictivo mediante algoritmos de *machine learning*. A partir de dichos vectores  $x$  (firma del LBP o Granulométrica) se busca asignar una de las  $l_i$  clases, siendo  $l_i \in L\{1 \text{ célula}, 2 \text{ células}, 3-4 \text{ células}, 5+ \text{ células}\}$  a cada patrón  $x_i$  posible. Para ello se utilizan técnicas que dividan el espacio de entrada dado por  $x$  en ciertas regiones de decisión. Para dichas regiones, para una muestra  $x_i$  se le asignará la clase  $l_i$  de la región en la cual esté [14]. Se prueban dos métodos, buscando aquel que dé mejor resultado en el conjunto de datos de entrenamiento: *K-Nearest Neighbours* y *Random Forest*.

■ ***K-Nearest Neighbours.***

Este modelo asume que el espacio de muestras  $x$  es un espacio métrico  $[X, d]$ , siendo  $d$  un tipo de distancia entre dos patrones. Dado un grupo de muestras de entrenamiento, este método crea las regiones de decisión asignando a cada punto  $x_i$  la clase más repetida dentro de las  $K$  muestras con menor distancia. Un ejemplo de la división de un espacio en zonas regiones de decisión con  $k$ -Nearest Neighbours se representa en la Figura 4.9.



**Figura 4.9:** División de un espacio bidimensional en tres posibles clases a partir de las muestras de entrenamiento. Obtenido de [14].

En la Figura 4.9 se tiene un conjunto de muestras en un espacio bidimensional, con tres etiquetas posibles: roja, verde y azul. De izquierda a derecha se observa el efecto de aumentar el número de vecinos utilizados para entrenamiento en la definición de las regiones de decisión. El parámetro número de vecinos  $K$  se debe optimizar buscando aquel que dé un mejor resultado en el conjunto de entrenamiento. Un valor  $K$  demasiado bajo puede crear muchas regiones pequeñas, con un resultado menos suavizado. En la Figura 4.9, se observa como el número de regiones para  $K = 1$  es mayor que para  $K = 31$ .

En la práctica, en la fase de entrenamiento se guardan las  $N$  muestras  $X^T$  y sus etiquetas asociadas  $L^T$ . Cuando llega una muestra de validación, se obtiene una distancia (euclídea por ejemplo) entre todas las muestras de entrenamiento y la nueva muestra  $x_i^v$ . Con esto se obtiene un vector de distancias  $V_d$ :

$$V_d[n] = \sqrt{(x_i^v - X_n^t)^2} \quad (4.21)$$

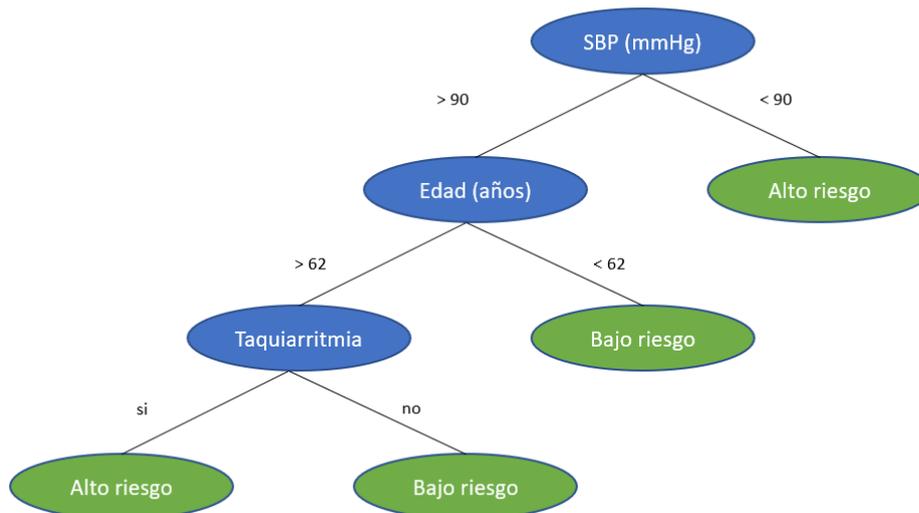
A continuación se buscan los  $K$  elementos con menor valor en  $V_d[n]$ , y se obtiene la moda de sus etiquetas, siendo esta la etiqueta asociada a la nueva muestra  $l_i^v$ .

$$l_i^v = \hat{L}_n^T : n \in \wedge(V_d[n], K) \quad (4.22)$$

Para el problema estudiado se utiliza la distancia euclídea, y el número  $K$  de vecinos se fija para cada tipo de parámetros mediante la optimización de los resultados en el grupo de validación cruzada. Para la firma de LBP se obtiene  $K = 80$ , y para Granulometría  $K = 100$ .

■ **Random Forest.**

La técnica *Random Forest* está basada en el uso de árboles de decisión para dividir el espacio de características en regiones de decisión. Los árboles son estructuras que presentan bifurcaciones condicionales (ramas). Las condiciones de estos están basadas en los valores de los parámetros de la muestra. Las hojas del árbol indican a qué clase pertenece la muestra, si sus características y las condiciones de bifurcación le han hecho llegar a ese nodo. Un ejemplo de un árbol de decisión se puede observar en la Figura 4.10.



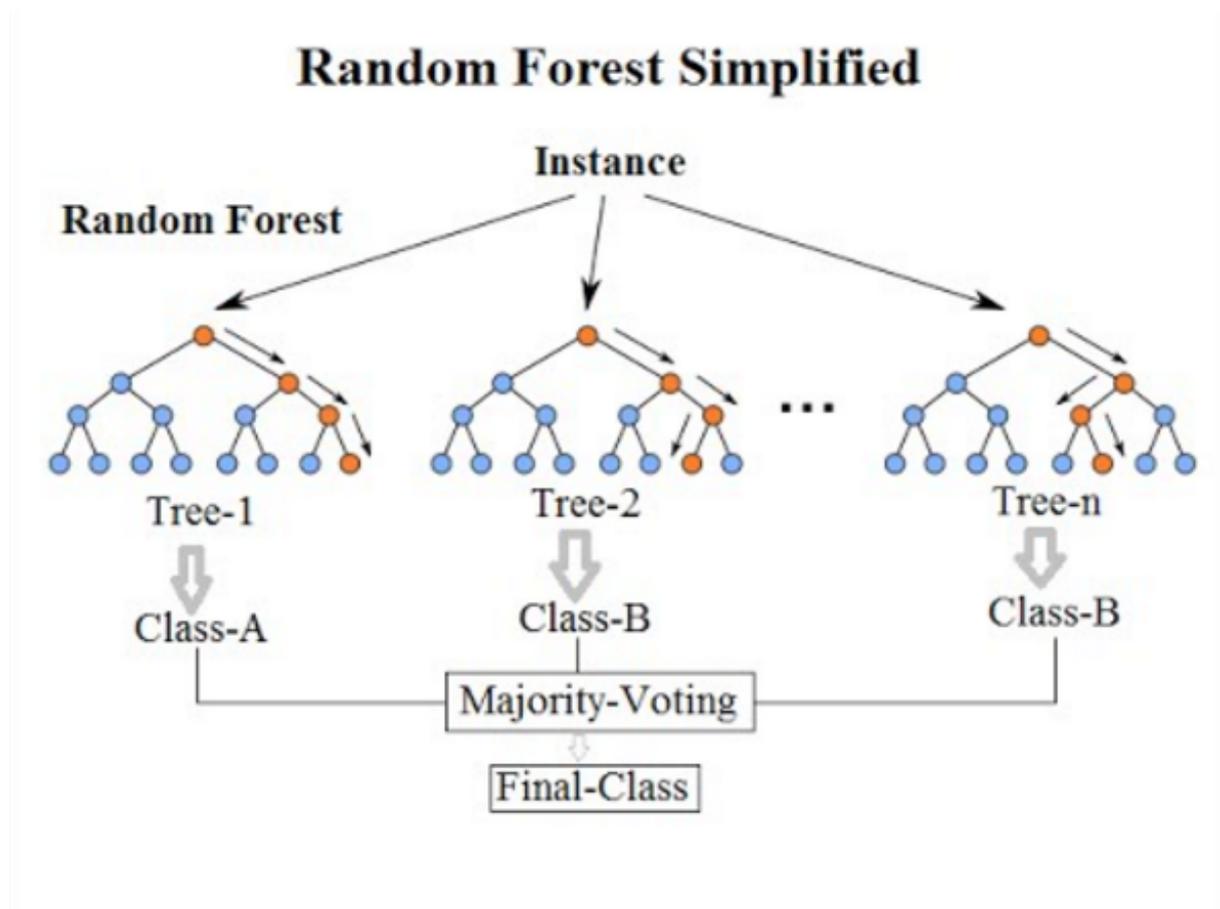
**Figura 4.10:** Ejemplo de árbol de decisión simple. Regla (simplificada) para clasificar un paciente post-operatorio en los grupos de bajo riesgo o alto riesgo.

En la etapa de entrenamiento del modelo, a partir de un conjunto de muestras, se definen las bifurcaciones condicionales y las hojas. Esto se realiza mediante el aprendizaje basado en la entropía y la ganancia de cada división (bifurcación). Se busca que cada división del espacio cree grupos los más homogéneos posible en cuanto a su etiqueta.

Los métodos de agrupamiento de modelos (*Bagging*) son algoritmos para mejorar la estabilidad y resultados del modelo. Se trata de reducir la varianza asociada al error en la clasificación mediante la combinación de varios modelos. Su aplicación en árboles de decisión se conoce como Random Forest, y funciona especialmente bien debido al bajo sesgo en el error que presentan los árboles de decisión.

En la etapa de entrenamiento, en cada árbol se utilizan una combinación distinta de las características para crear las bifurcaciones condicionales. De esta forma, se mantiene la independencia en los resultados de cada árbol. El conjunto de muestras  $N$  se divide en  $M$  grupos. A cada árbol se le distribuye  $N/M$  muestras más muestras obtenidas sintéticamente para el entrenamiento. Estas muestras sintéticas se obtienen de forma aleatoria a partir de las originales, variando los parámetros de estas pero manteniendo la distribución de los valores generados [15].

En la etapa de clasificación, dada una nueva muestra, se obtiene la clasificación dada por cada uno de los árboles, y se le asigna a la muestra la etiqueta más repetida. Este proceso se representa en la Figura 4.11.



**Figura 4.11:** Clasificación de una muestra mediante *Random Forest*. Obtenido de [16].

En el problema de clasificación del número de células en cada fotograma, se optimiza el número de árboles utilizados mediante los conjuntos de validación cruzada. Para los patrones de granulometría se obtiene un número de arboles óptimo  $N = 200$ , mientras que para el LBP se tiene  $N = 170$ .

#### 4.4.2 *Deep learning*

Los métodos explicados en el apartado anterior buscan predecir el número de células de un fotograma por medio de parámetros o características de la misma escogidos de forma subjetiva, los cuales se sospecha que puedan extraer información relevante para resolver el problema. El resultado obtenido por tanto depende de las características escogidas. En los últimos tiempos, han surgido algoritmos que buscan extraer aquellas características que tengan información discriminativa de forma automática para un problema dado. Estas técnicas se conocen como algoritmos de *deep learning*. En el área de visión artificial, la técnica con mayor popularidad en este campo en los últimos años son las Redes Neuronales Convolucionales (CNN).

Las CNN están basadas en el mecanismo de visión humana, en concreto en el córtex visual. La visión humana se basa principalmente en la detección de bordes, y está organizada de forma que, dado un patrón, se activan distintos grupos de neuronas conectados entre sí, los cuales hacen posible la comprensión del patrón y la asociación con su significado. Las CNN buscan aprender desde cero de forma automá-

tica estas conexiones y su significado correspondiente. Para el aprendizaje, necesitan un gran conjunto de imágenes con su etiqueta (significado) correspondiente. Este es un proceso costoso, por lo cual se necesitan una enorme cantidad de datos etiquetados, y potentes unidades computacionales.

En este trabajo se trata de utilizar las CNN para establecer el número de células en un fotograma de un embrión. Este es un problema bien definido, que visualmente se puede realizar de manera sencilla, pero que no hay descriptores clásicos que obtengan esta información de forma clara. Por tanto, cumple las características típicas en las cuales se utiliza esta técnica. Se toma como entrada del algoritmo las imágenes del cultivo inventanadas desde el centro del embrión, y reescaladas a una matriz de dimensiones  $128 \times 128$  para disminuir la memoria necesaria. Además, se aplica sobre las imágenes una eliminación del nivel de gris de fondo de la imagen. Dados los cambios de iluminación durante los videos y entre distintos cultivos, no se quiere que el algoritmo aprenda información acerca de este fondo, por lo cual se elimina mediante un filtro convolucional.

La arquitectura de la CNN toma por tanto como entrada una imagen de gris (un solo canal) de tamaño  $128 \times 128$ , y devuelve como salida un valor acotado en  $[0, 1]$  para cada una de las posibles clases de salida, siendo este la probabilidad de pertenencia a cada una de las clases. Desde la entrada a la salida, la CNN presenta una serie de capas ocultas, que realizan las transformaciones en la imagen necesarias para realizar la clasificación. Estas son: capas convolucionales, *pooling*, de activación y *fully-connected*.

■ **Capas convolucionales.**

El objetivo inicial de las capas convolucionales es resaltar los bordes y curvas de la imagen. Posteriormente, combinando capas convolucionales, se busca obtener un mayor nivel de abstracción, detectando objetos. Utilizan filtros  $Z$ , *kernels* de dimensión  $K \times K$ , los cuales se mueven a través de la imagen con un determinado paso (*stride* en inglés). En cada zona de la imagen realizan una operación de convolución, y transforman esa zona en un píxel con el valor resultado de la operación de la convolución a la salida de la capa. Los filtros aplicados tienen unos pesos que afectan a la operación realizada. El tamaño de paso define cuántas columnas o filas nuevas afecta el filtro en cada convolución. Un ejemplo gráfico puede verse en la Figura 4.12.

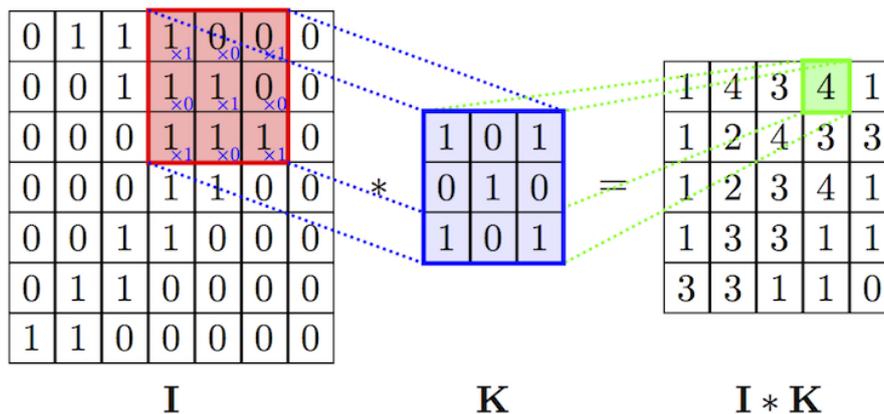


Figura 4.12: Capa convolucional. Obtenido de [17].

En esta, con una imagen  $I$  de tamaño  $7 \times 7$ , aplica un filtro *kernel* convolucional  $K$  de tamaño  $3 \times 3$ , obteniendo una imagen resultante de dimensiones  $5 \times 5$ . A partir de la posición inicial y con un paso de 1, el filtro da 5 pasos de izquierda a derecha y de arriba a abajo. Esto conlleva por tanto una reducción de la dimensionalidad de la imagen tras cada capa convolucional. Si no se quiere

reducir la dimensionalidad en las capas convolucionales, una herramienta utilizada es la adición de ceros (*padding* en inglés), de tantas filas y columnas alrededor de la imagen como para que la dimensión de la imagen entrada y salida sean iguales.

Utilizando capas convolucionales una detrás de otra, de forma que la salida de una es la entrada de la siguiente, se consigue una mayor precisión en la detección de patrones, bordes y relación entre ellos.

■ **Capas de activación.**

A continuación de cada capa convolucional suele seguirle una capa de activación. Esta aporta términos no lineales al proceso, complementando las operaciones lineales de convolución. Una de las más utilizadas es la ReLU [18] (unidad de rectificación lineal). Esta realiza una operación de saturación para valores menores que 0 en la salida de la capa convolucional .

$$f_A(x) = \max(0, x) \tag{4.23}$$

■ **Capas de *pooling*.**

Este tipo de capa busca disminuir la dimensionalidad de la salida de una capa convolucional. Este agrupamiento es beneficioso ya que relaciona zonas de la imagen (las agrupa), reduce el coste computacional y previene el sobreajuste. Uno de los métodos de agrupamiento, utilizado en el presente trabajo, es el del máximo (*max-pooling* del inglés). En este, a partir de una ventana de dimensión  $K \times K$ , con cierto paso, se cogen tramos de la imagen de la capa previa, pasando la región a un píxel de valor el máximo de la zona a la salida de la capa de agrupamiento. Un ejemplo de agrupamiento por máximo se tiene en la Figura 4.13.

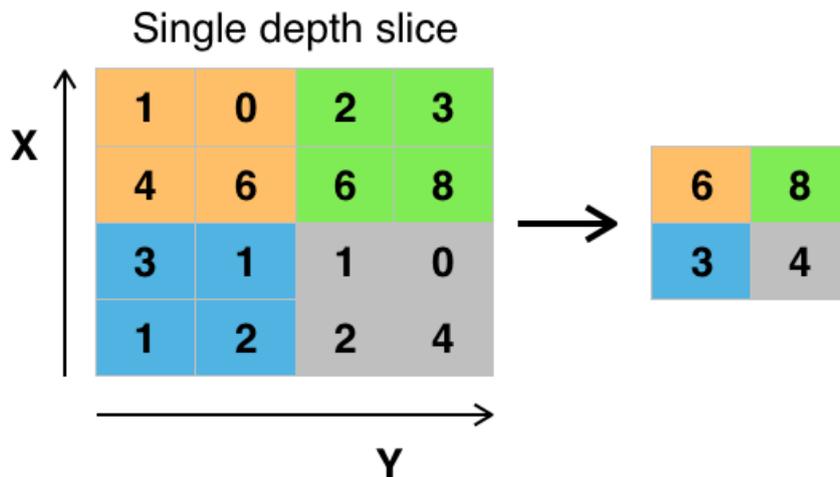


Figura 4.13: Capa de agrupamiento por máximo. Obtenido de [19].

■ **Capas *fully-connected*.**

Tras tratar la imagen de entrada a partir de las capas convolucionales, de *pooling* y de activación, se tiene un mapa de activación. Este debe convertirse en las probabilidades de pertenencia a cada una de las clases posibles. La capa *fully-connected* aplica una convolución unidimensional con pesos

al resultado de la capa previa, reduciendo las activaciones a un número  $N$  de neuronas presentes en la capa. Para aumentar la capacidad de aprendizaje y relación de patrones se pueden enlazar unas capas completamente conectadas con otras en serie. Tras la última capa totalmente conectada, la cual tiene que tener tantas neuronas como etiquetas posibles, se aplica una función conocida como *softmax*, la cual convierte los valores de salida para acotarlos en el intervalo de probabilidades  $[0,1]$ , bajo la premisa de que las probabilidades de todas las neuronas sumen 1. Finalmente, hay una capa de clasificación que obtiene como salida la etiqueta con mayor probabilidad.

Para mejorar los resultados del algoritmo y evitar el sobreajuste del modelo, una de las técnicas utilizadas es la de *dropout* [20] en capas fully-connected. En cada iteración durante la etapa de entrenamiento, esta técnica desactiva cierto porcentaje de las neuronas aleatoriamente. Esto hace que distintas neuronas puedan tener información acerca de un patrón, y no se tenga un sobreajuste en el cual cada neurona memoriza un patrón del conjunto de entrenamiento.

En el presente trabajo se utiliza una arquitectura basada en [21], un trabajo en el que ya trataron de predecir el número de células en un embrión mediante CNN. La arquitectura utilizada se presenta en la Tabla 4.1.

| N  | Capa               | Neuronas | Tamaño  | Otros                          |
|----|--------------------|----------|---------|--------------------------------|
| 1  | Convolutacional    | 24       | [11 11] | Paso = 1 , <i>Padding</i> = 10 |
| 2  | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 3  | <i>Max-pooling</i> | -        | [3,3]   | Paso = 1                       |
| 4  | Convolutacional    | 64       | [5 5]   | Paso = 1 , <i>Padding</i> = 4  |
| 5  | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 6  | <i>Max-pooling</i> | -        | [3,3]   | Paso = 1                       |
| 7  | Convolutacional    | 96       | [3 3]   | Paso = 1 , <i>Padding</i> = 2  |
| 8  | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 9  | Convolutacional    | 96       | [3 3]   | Paso = 1 , <i>Padding</i> = 2  |
| 10 | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 11 | Convolutacional    | 64       | [3 3]   | Paso = 1 , <i>Padding</i> = 2  |
| 12 | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 13 | <i>Max-pooling</i> | -        | [3,3]   | Paso = 1                       |
| 14 | Fully-connected    | 512      | -       | Ratio <i>dropout</i> 50 %      |
| 15 | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 16 | Fully-connected    | 512      | -       | Ratio <i>dropout</i> 50 %      |
| 17 | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 18 | Fully-connected    | 512      | -       | Ratio <i>dropout</i> 50 %      |
| 19 | ReLU               | -        | -       | -                              |
| 20 | Fully-connected    | 4        | -       | -                              |
| 21 | Softmax            | -        | -       | -                              |
| 22 | Clasificación      | -        | -       | -                              |

**Tabla 4.1:** Arquitectura de la CNN utilizada.

Una vez se tiene definida la estructura de la CNN, se procede a entrenar la misma. El entrenamiento tiene como objetivo ajustar los pesos de las neuronas y filtros de la red. En cada iteración, se divide un

grupo de imágenes de forma aleatoria. Se realizan iteraciones hasta haber entrenado la red con todas las imágenes tantas veces como se indique. Dada la iteración inicial, con las imágenes y sus etiquetas asociadas, se realiza un ajuste de los pesos mediante una técnica de retropropagación, a partir de una función de coste y unos pesos iniciales aleatorios. Se pasan las imágenes por la red, y se obtiene sus etiquetas predichas. A continuación, con la función de coste se compara el resultado obtenido con las etiquetas reales. En este trabajo se utiliza como función de coste el error cuadrático medio:

$$E = \sum (real - prediccion)^2 \quad (4.24)$$

Con el resultado de la función de coste, se analiza por retropropagación la dependencia del resultado con cada uno de los pesos. Al tener funciones diferenciables, se puede determinar las variaciones en la función de coste en función de las variaciones de los pesos. A continuación, se van actualizando los pesos en dirección contraria al gradiente de la función de coste. El ajuste de pesos puede calibrarse a partir del ratio de aprendizaje. Este es un factor que multiplica el incremento de los pesos. Un factor más alto indica cambios más grandes en los pesos. En el presente trabajo se inicia el proceso de entrenamiento con un ratio de aprendizaje de 0.005, y se disminuye en la mitad de las iteraciones una décima parte. Esto se realiza para que en el inicio se actualicen los pesos de forma más abrupta e ir más rápido en la disminución de la función de coste. Para encontrar un mínimo local en la función de coste de forma precisa se disminuye la tasa de aprendizaje a una décima parte. El número de iteraciones utilizadas en este trabajo es de 6000.

### 4.4.3 Postprocesamiento del resultado en la predicción

Como salida de la CNN se obtiene etiquetas del número de células y una probabilidad asociada a dichas clasificaciones, la cual es la probabilidad con la que ha sido clasificada para cada clase. Esta salida dentro de un video aporta el número de células en cada imagen por separado, sin tener en cuenta la información de las imágenes previas y posteriores y las restricciones naturales del proceso de división celular. Por ejemplo, el número de células a lo largo del video debe ser monótonamente no decreciente. Esto es, que el número de células no disminuya a lo largo del video. Para este propósito, en [22] se propone como postprocesamiento un Campo Condicional Aleatorio (CRF) que sigue las siguientes premisas:

Dado  $N_t \in L\{ 1 \text{ célula}, 2 \text{ células}, 3-4 \text{ células}, 5+ \text{ células} \}$  la etiqueta dada a la muestra  $t$ , entonces se define la energía de una sucesión de clasificaciones de imágenes a lo largo de un video de duración  $T$  como:

$$E(N_1, \dots, N_T) = \sum_{t=1}^{t=T} \psi_t^U(N_t) + \sum_{t=1}^{t=T-1} \psi_t^P(N_t, N_{t+1}) \quad (4.25)$$

siendo  $\psi_t^U(N_t)$  y  $\psi_t^P(N_t, N_{t+1})$  el término unitario y paritario respectivamente, definidos como:

- $\psi_t^U(N_t)$ : medida de la consistencia de la clasificación obtenida en el imagen  $t$ . Esta es obtenida a partir de la probabilidad que aporta el clasificador a esta etiqueta ( $P[N_{t_i}]$ ), aplicando el logaritmo negativo:

$$\psi_t^U(N_t) = -\ln(P[N_{t_i}]) \quad (4.26)$$

El clasificador aporta en cada imagen la probabilidad  $punt[N]$  para la clase que ha detectado, pero también aporta una probabilidad para el resto de posibles clases. Esto es, se tiene una probabilidad de pertenencia para cada imagen a todas las posibles números de células. Estas probabilidades están acotadas en  $punt[N] \in [0, 1]$ , siendo directamente proporcional a la pertenencia. Con el término unitario, aplicando el logaritmo negativo, probabilidades con mayor pertenencia presentan valores menores, es decir, menor energía.

- $\psi_t^P(N_t, N_{t+1})$ : medida de la consistencia en la clasificación obtenida entre imágenes consecutivas en el tiempo. Es un término que aporta un valor de energía máximo cuando la etiqueta de una imagen cuenta con más células que la de la imagen siguiente. Así, se define este término como:

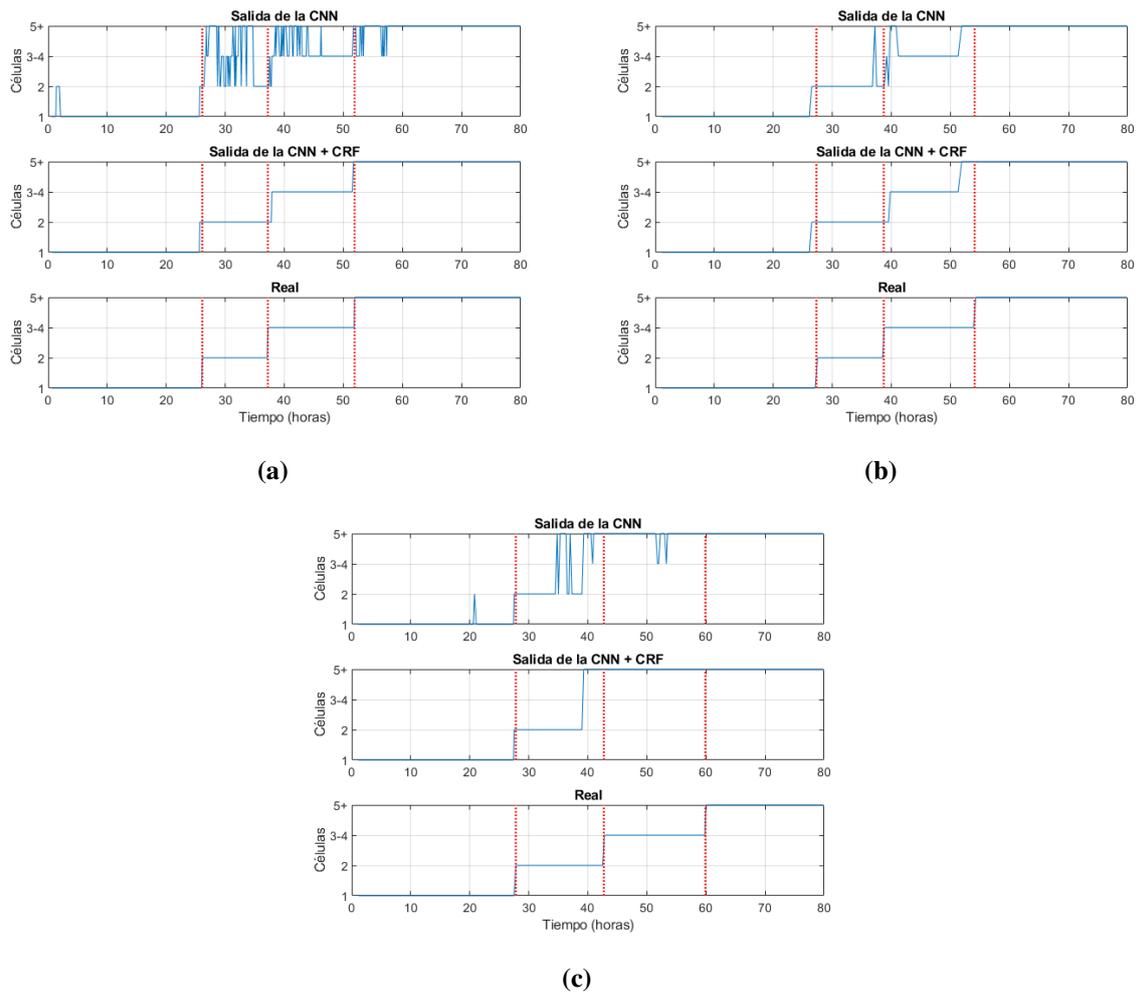
$$\psi_t^P(N_t, N_{t+1}) = \begin{cases} 0, & \text{if } N_t \leq N_{t+1} \\ \infty, & \text{if } N_t > N_{t+1} \end{cases} \quad (4.27)$$

El objetivo del CRF es encontrar las etiquetas  $(N_1, \dots, N_t)$  tal que minimice la función de energía.

Este postprocesamiento es implementado de forma iterativa mediante el siguiente algoritmo:

1. Fijar las etiquetas  $(N_1, \dots, N_t)$  tal que sus probabilidades  $(P[N_t])$  minimicen la energía total de la serie dada por los términos unitarios. Este paso coincide con utilizar las etiquetas que directamente aporta el clasificador, el cual las fija dando a cada fotograma la etiqueta cuya clase tiene mayor probabilidad.
2. Localizar los casos en que  $N_t > N_{t+1}$ , los cuales tendrían energía infinita en el término paritario.
  - Si existe alguno, pasar a 3.
  - Si no existen, finalizar el postprocesamiento.
3. Para cada caso encontrado en el punto 2:
  - Localizar la última muestra previa en que  $N_t < N_{t+1}$ . Para evitar tener un descenso en el número de células, el tramo desde el descenso hasta el último ascenso deben tener el mismo número de células. En los siguientes pasos se realiza una conversión de  $N_t$  para conseguirlo.
  - Calcular la energía que se le asignaría al tramo para cada una de las posibles etiquetas  $L$ .
  - Asignar al tramo la etiqueta con menor energía acumulada en el tramo.
4. Volver al paso 2.

En la Figura 4.14 se presentan ejemplos del resultado obtenido en la clasificación del número de células tras el postprocesamiento.



**Figura 4.14:** Ejemplos de resultados obtenidos con el postprocesamiento basado en Campos Condicionales Aleatorios (CRF). En cada subfigura (a-b-c), se tiene de arriba a abajo la predicción del número de células de la CNN, el de CNN con postprocesamiento, y las etiquetas reales.

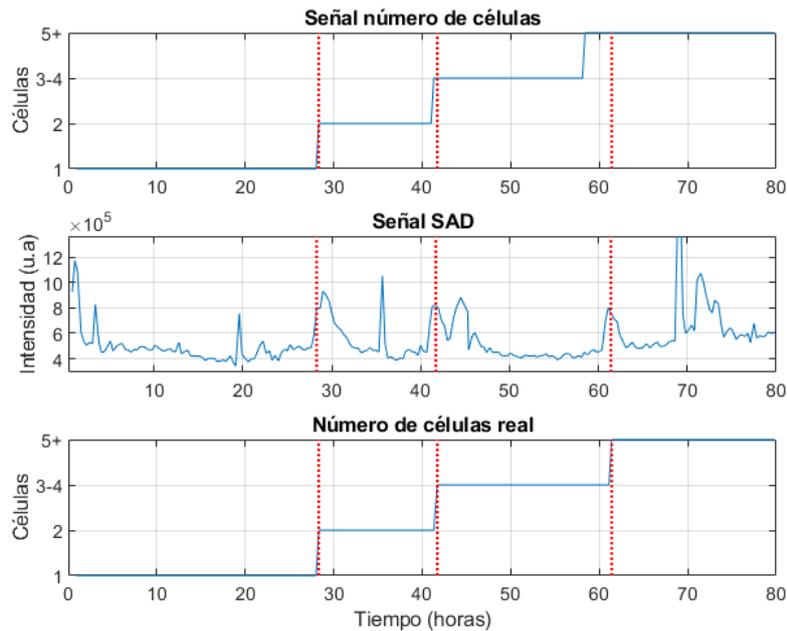
En la Figura 4.14 (a) se tiene un caso en el cual el postprocesamiento arregla completamente la salida dada por la CNN, la cual es bastante ruidosa. En (b) se tiene un caso donde el postprocesamiento elimina ciertos picos incoherentes, en los cuales disminuía el número de células detectadas. En cuanto a (c), se tiene un caso donde la predicción ha detectado erróneamente el paso de 2 a 3 células, pasando al grupo de 5 células o más.

## 4.5 Cálculo de los parámetros morfocinéticos

Una vez se tienen dos señales temporales  $N_t[t]$ , número de células a lo largo del video, y  $SAD[t]$ , estimación del cambio en la imagen entre el instante  $t$  y  $t - 1$ , se procede a calcular los parámetros morfocinéticos presentados en la introducción.

Para cada uno de los tiempos de división celular ( $t_2$ ,  $t_3$ ,  $t_4$ ,  $t_5$ ), se busca el instante en el cual la señal  $N_t[t]$  realiza el respectivo cambio en el número de células. A continuación, en una ventana de 3 horas antes y después de ese instante, se busca el pico en la señal  $SAD[t]$ . Esto se realiza porque en

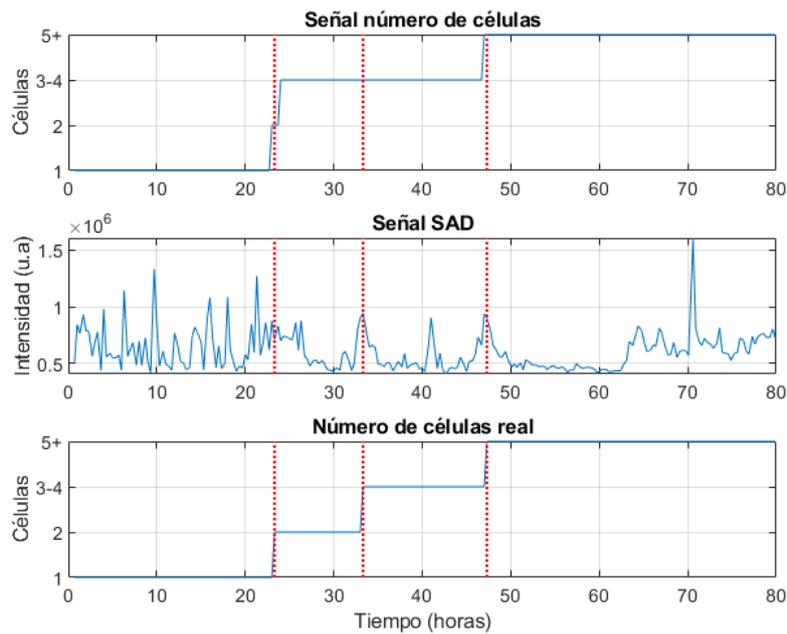
ocasiones en  $N_t[t]$  no se detecta con precisión el instante de división, pudiendo irse unos fotogramas. En cambio, el  $SAD[t]$  siempre presenta un pico muy cercano a dicho instante. EL problema del  $SAD[t]$  es que presenta un alto número de picos no asociados generalmente a divisiones celulares, que pueden dar falsos positivos. Por ejemplo, en la Figura 4.15 se presenta un caso en el cual la señal  $SAD[t]$  presenta picos cercanos a  $t_2$  y  $t_3$ , que causarían falsos positivos en la división celular. Utilizando ambas técnicas de forma complementaria, se consigue la zona en la cual se produce la división celular con  $N[t]$  y el momento en el pico del  $SAD[t]$  en dicha zona.



**Figura 4.15:** Muestra en la cual el  $SAD[t]$  puede causar falsos positivos. En rojo los instantes de división celular.

Para  $t_3$  y  $t_4$ , se coge una ventana alrededor del paso de 2 células a la clase 3-4 células en  $N_t[t]$ . Entonces, se detectan los dos principales picos de  $SAD[t]$ , asignando a  $t_3$  el primero de ellos y a  $t_4$  el segundo.

En ocasiones, la predicción del número de células dada por  $N[t]$  falla, saltándose alguno de los momentos de división celular o detectando muy pocos fotogramas de un estado. Por ejemplo, en la Figura 4.16 se tiene un caso en el cual no se ha detectado el estado de 2 células, pasando directamente al estado de 3-4 células. Por tanto, se pierde el episodio de división a 3 células. Este episodio puede recuperarse gracias al  $SAD[t]$ , buscando el pico entre los dos episodios que detecta la señal  $N[t]$  (paso de 1 a 3-4 células y paso de 3-4 células a 5).



**Figura 4.16:** Complementariedad de la señal número de células. En rojo los instantes de división celular.

En cuanto a los parámetros de periodos de interfase ( $cc2$  y  $cc3$ ), se calculan siguiendo las relaciones con los parámetros de tiempo indicadas en la introducción:  $cc2 = t3 - t2$ ,  $cc3 = t5 - t4$ .

Finalmente, los parámetros de duración de mitosis ( $s1$ ,  $s2$ ,  $s3$ ) se decide no calcularlos. Esto se debe a que extraerlos manualmente ya es una tarea costosa. Por ejemplo, debido a la baja frecuencia de adquisición de imágenes, en muchas ocasiones no se aprecia el estado de tres células, pasando directamente de dos a cuatro células. En estos casos, se habría perdido el parámetro  $s2$ . Por otro lado, es complicado saber cuándo comienzan los movimientos debidos a la mitosis en el video y cuando acaban para la mitosis de dos a tres células y de cuatro a cinco. Al no tener una referencia fiable para comparar los parámetros, y tener en muchas ocasiones una señal  $SAD[t]$  ruidosa (única herramienta para calcularlos), en este trabajo se decide no obtener estas características del embrión.

## 4.6 Predicción del éxito en la implantación

Teniendo los parámetros morfocinéticos, se pretende ahora realizar otro modelo predictivo que clasifique entre embriones que darán paso a un nacimiento exitoso (LB) y aquellos que no se implantarán adecuadamente en la transferencia (NI). Por tanto, se tiene un problema de clasificación en el cual a partir del vector de características  $x=(t2, t3, t4, t5, cc2, cc3)$  se obtenga su etiqueta  $Y_i$  asociada a esa muestra, siendo  $Y_i \in Y\{LB, NI\}$ . La referencia (LB/NI) en cada video viene dada por el Instituto Valenciano de Infertilidad.

Para entrenar y testear el modelo se utilizan las divisiones de la base de datos utilizada para la construcción del predictor del número de células. Para evitar el error acumulado a la hora de entrenar el modelo del éxito en la implantación, los parámetros morfocinéticos han sido sacados manualmente a partir de los videos, y utilizados para entrenar los modelos. En cambio, para validar y testear este modelo, se utilizarán los parámetros obtenidos por el sistema de procesamiento de imágenes. El modelo entrenado es

un *Random Forest*, ya presentado en el apartado 4.3.1. El número de árboles es optimizado nuevamente por validación cruzada, obteniendo un número óptimo de 85 árboles.

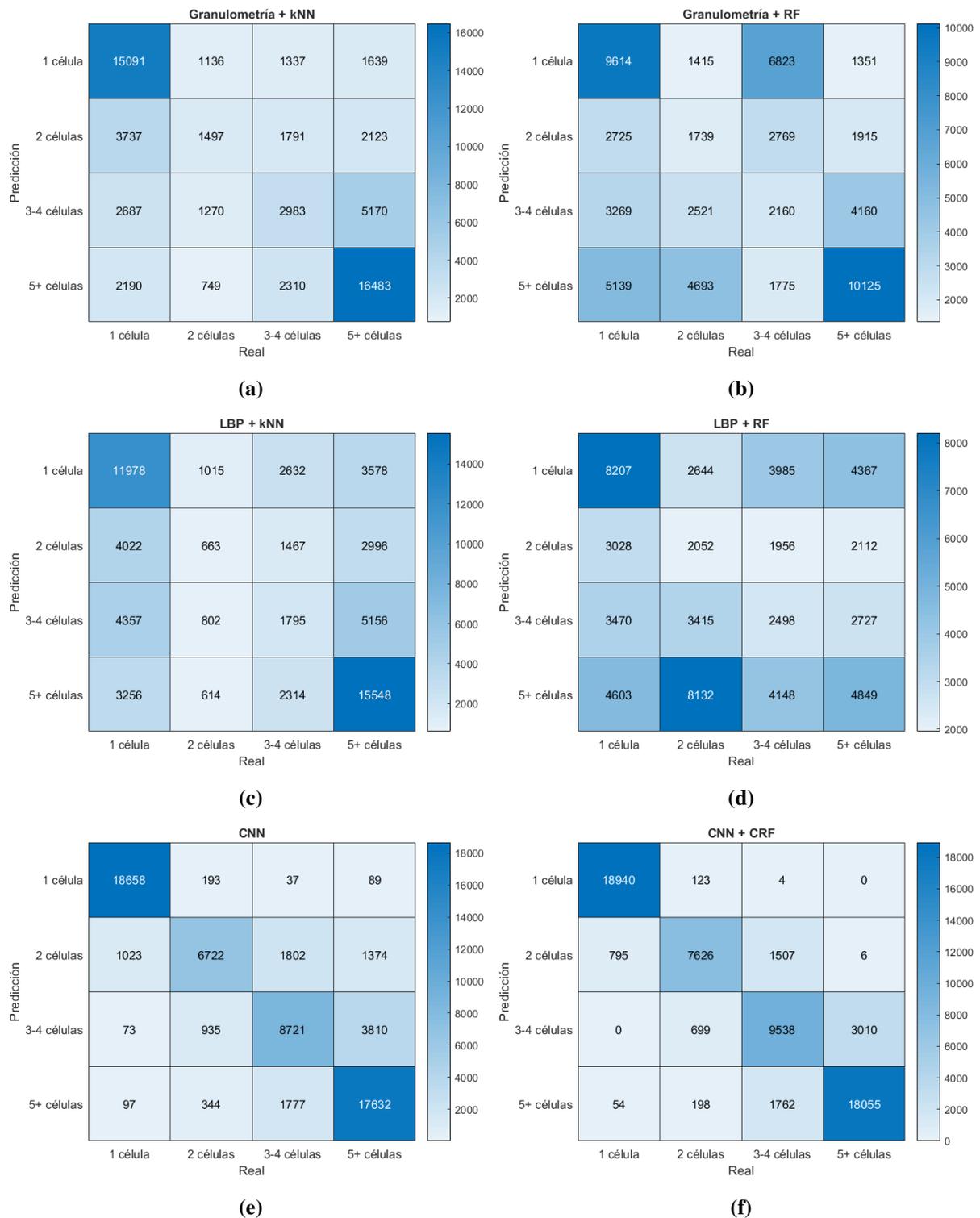
## Capítulo 5

# Resultados

### 5.1 Resultados en la detección del número de células

Para evaluar los resultados de los distintos modelos en la clasificación de imágenes según su número de células se obtienen las matrices de confusión  $MC$ . Esta es una matriz  $L \times L$  dimensional, siendo  $L$  el número de clases posibles. En este caso, las clases posibles son el número de células { 1 célula, 2 células, 3-4 células, 5+ células }. En ella, las filas representan el número de muestras que han sido predichas en cada clase, mientras que las columnas indican las muestras reales que pertenecen a cada etiqueta. Con este método se puede observar visualmente el resultado del método, ya que idealmente todas las muestras deberían encontrarse en la diagonal de la matriz. Para cada método se tienen cinco matrices de confusión, una por conjunto de validación cruzada. Como cada subconjunto está validado con muestras distintas, se puede obtener una matriz de confusión general del método sumando las cinco de validación cruzada.

La matriz de confusión obtenida para cada uno de los métodos se presenta en la Figura 5.1.



**Figura 5.1:** Matrices de confusión de los resultados en la predicción del número de células en el embrión. LBP: *Local Binary Pattern*, RF: *Random Forest*, kNN: *k-Nearest Neighbours*, CNN: *Convolutional Neural Networks*, CRF: *Conditional Random Field*.

A partir de la matriz de confusión se pueden obtener métricas que evalúen el resultado del modelo de forma cuantitativa. Se obtienen las métricas de precisión ( $P$ ) y sensibilidad ( $S$ ) para cada uno de los

métodos. Siendo ( $l_i$ ) una de las clases, se obtienen estas métricas para una clase a partir de  $M[x, y]$ , matriz de confusión, de la siguiente forma:

$$P_{l_i}(\%) = (M(i, i) / \sum_x M[x, y = i]) \cdot 100 \quad (5.1)$$

$$S_{l_i}(\%) = (M(i, i) / \sum_y M[x = i, y]) \cdot 100 \quad (5.2)$$

La precisión hace referencia al porcentaje de muestras que, perteneciendo a una cierta clase, son clasificadas correctamente. La sensibilidad expresa el porcentaje de muestras clasificadas como una clase que realmente pertenecen a ésta.

Los resultados de sensibilidad para cada una de las clases y métodos se presentan en la siguiente Tabla 8.2:

| -                 | Sensibilidad( %) |              |              |              |              |
|-------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Metodo            | 1 célula         | 2 células    | 3-4 células  | 5+célula     | Media        |
| LBP+RF            | 52.58            | 22.84        | 17.58        | 21.07        | 28.52        |
| LBP+kNN           | 62.37            | 7.24         | 14.80        | 71.54        | 38.99        |
| Granulometría+RF  | 50.13            | 23.45        | 16.44        | 32.47        | 30.63        |
| Granulometría+kNN | 78.58            | 16.36        | 24.63        | 78.58        | 48.85        |
| CNN               | 98.31            | 61.65        | 64.41        | 88.82        | 78.27        |
| <b>CNN+CRF</b>    | <b>99.33</b>     | <b>76.76</b> | <b>72.00</b> | <b>89.96</b> | <b>84.51</b> |

**Tabla 5.1:** Sensibilidad para la predicción del número de células en la imagen en el conjunto de entrenamiento. LBP: *Local Binary Pattern*, RF: *Random Forest*, kNN: *k-Nearest Neighbours*, CNN: *Convolutional Neural Networks*, CRF: *Conditional Random Field*.

Los resultados de precisión para cada una de las clases y métodos se presentan en la siguiente Tabla 5.2:

| -                 | Precisión( %) |              |              |              |              |
|-------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Metodo            | 1 célula      | 2 células    | 3-4 células  | 5+célula     | Media        |
| LBP+RF            | 44.75         | 12.86        | 21.59        | 33.86        | 28.26        |
| LBP+kNN           | 50.68         | 21.42        | 21.86        | 56.99        | 37.74        |
| Granulometría+RF  | 46.33         | 12.19        | 20.17        | 50.60        | 32.33        |
| Granulometría+kNN | 63.66         | 32.18        | 35.42        | 64.85        | 49.03        |
| CNN               | 93.99         | 82.03        | 70.68        | 76.97        | 80.93        |
| <b>CNN+CRF</b>    | <b>95.70</b>  | <b>88.20</b> | <b>74.45</b> | <b>85.68</b> | <b>86.01</b> |

**Tabla 5.2:** Precisión para la predicción del número de células en la imagen en el conjunto de entrenamiento. LBP: *Local Binary Pattern*, RF: *Random Forest*, kNN: *k-Nearest Neighbours*, CNN: *Convolutional Neural Networks*, CRF: *Conditional Random Field*.

Se observa a partir de los resultados que los parámetros basados en LBP y en ganulometría obtienen resultados inferiores a la CNN para la detección del número de células. Estos resultados no superan el

50 % de precisión ni sensibilidad para ninguno de los métodos, aunque la granulometría tenga algo mejor resultado para detectar 1 célula y 5+ (65 % de precisión y 78 % de sensibilidad). La CNN además mejora sus resultados con el uso del postprocesamiento CRF, obteniendo una precisión media del 86.01 % y una sensibilidad del 84.51 % para todas las clases. Esto es, aproximadamente cinco puntos porcentuales mejor que la salida directa de la CNN. El mejor resultado se obtiene para la detección de imágenes con una célula, 95.70 % de precisión, seguido de la detección del estado de 5+ células. Los estados de 2 y 3-4 células tienen una sensibilidad algo menor, entorno al 75 %. Esto es debido a que el principal error, según se puede apreciar en las matrices de confusión (Figura 5.1 (f)) se tiene entre clases adyacentes. Por tanto, al tener las clases 2 y 3-4 células dos clases adyacentes, se comete un mayor error.

Con el mejor modelo (CNN + CRF), se entrena de nuevo la red utilizando todas las muestras presentes en el conjunto de entrenamiento y se evalúa su rendimiento en el conjunto de test. Los resultados de sensibilidad se presentan en la Tabla 5.3 y los de precisión en la Tabla 5.4.

| -       | Sensibilidad( %) |           |             |          |       |
|---------|------------------|-----------|-------------|----------|-------|
| Método  | 1 célula         | 2 células | 3-4 células | 5+célula | Media |
| CNN+CRF | 97.50            | 78.80     | 73.29       | 92.33    | 85.48 |

**Tabla 5.3:** Sensibilidad para la predicción del número de células en la imagen en el conjunto de test. CNN: *Convolutional Neural Networks*, CRF: *Conditional Random Field*.

| -       | Precisión( %) |           |             |          |       |
|---------|---------------|-----------|-------------|----------|-------|
| Método  | 1 célula      | 2 células | 3-4 células | 5+célula | Media |
| CNN+CRF | 98.17         | 84.93     | 75.00       | 82.92    | 85.25 |

**Tabla 5.4:** Precisión para la predicción del número de células en la imagen en el conjunto de test. CNN: *Convolutional Neural Networks*, CRF: *Conditional Random Field*.

Los resultados obtenidos en el conjunto de test son similares a los de entrenamiento, con una precisión y sensibilidad media para todas las clases en torno al 85 %. Se constata de esta forma que el modelo resultante posee capacidad de generalización y no se evidencian signos de sobreajuste.

## 5.2 Resultados en el cálculo de parámetros morfocinéticos

Con la señal número de células  $N[t]$  obtenida con el método CNN+CRF y la señal SAD[t] se obtienen los parámetros de división celular como se explica en la metodología. Los valores obtenidos para los parámetros  $t_2$ ,  $t_3$ ,  $t_4$  y  $t_5$  son comparados con los obtenidos manualmente. En cuanto a los parámetros de duración de interfase,  $cc_2$  y  $cc_3$ , no se incluyen en esta comparación, ya que son combinación lineal de los anteriores. Para evaluar el resultado se extraen las métricas de error absoluto para cada muestra (AE), media para el conjunto de muestras (MAE) y desviación típica (std) del AE en el conjunto de datos entre los parámetros calculados y los reales. Sea  $X$  los datos reales, e  $Y$  los datos predichos, estas métricas se obtienen mediante las siguientes expresiones:

$$AE_i = |(X_i - Y_i)| \quad (5.3)$$

$$MAE = \frac{\sum_{i=1}^N AE_i}{N} \quad (5.4)$$

$$std = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (AE_i - MAE)^2}{N - 1}} \quad (5.5)$$

Los resultados para el conjunto de entrenamiento son los siguientes:

| Parámetro | MAE (h) | std (h) |
|-----------|---------|---------|
| t2        | 1.15    | 1.93    |
| t3        | 1.12    | 2.30    |
| t4        | 1.37    | 2.83    |
| t5        | 3.08    | 4.80    |

**Tabla 5.5:** Resultados en la obtención de parámetros de división celular en el conjunto de entrenamiento. Error absoluto medio desviación típica del error medio.

En la Figura 5.2 puede observarse la distribución de los parámetros reales respecto a los calculados. Como referencia se dibuja la línea  $x=y$ , pudiéndose observar una distribución cercana a esta zona, reflejando resultados positivos en el cálculo de parámetros de división celular.

Los resultados obtenidos en el conjunto de test son los siguientes:

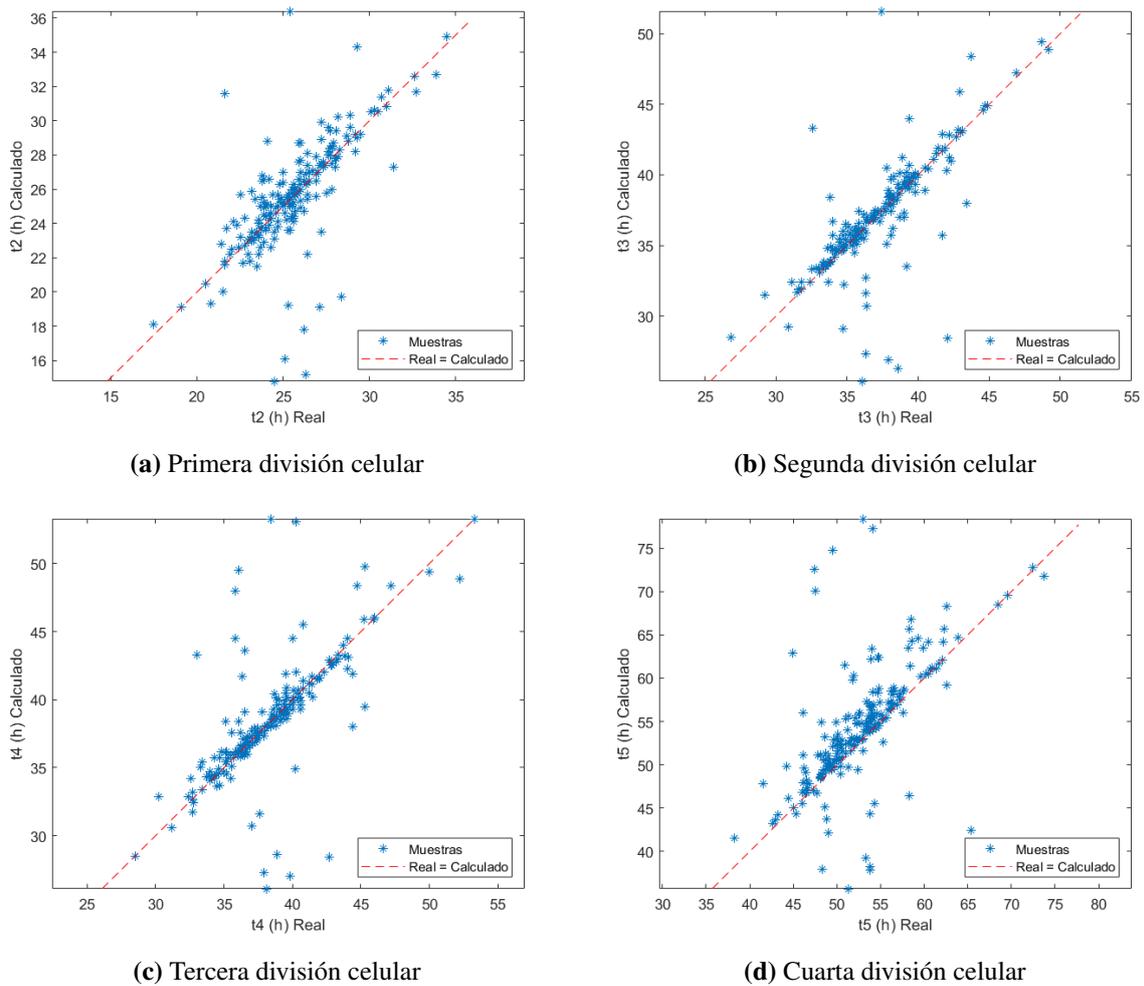
| Parámetro | MAE (h) | std (h) |
|-----------|---------|---------|
| t2        | 1.26    | 2.52    |
| t3        | 1.64    | 3.44    |
| t4        | 1.80    | 3.52    |
| t5        | 3.72    | 5.81    |

**Tabla 5.6:** Resultados en la obtención de parámetros de división celular en el conjunto de test. Error absoluto medio, desviación típica del error medio, y porcentaje de valores con un error menor de 5 horas.

### 5.3 Resultados en la predicción del éxito en el nacimiento

A continuación se presentan los resultados para la predicción del nacimiento exitoso (LB) o la no implantación (NI). Esto se realiza mediante la precisión para las dos clases en los conjuntos de entrenamiento para cada grupo de validación cruzada (CV), la media de estos (CV-media) y para el conjunto de test. Los modelos *Random Forest* se entrenan utilizando los parámetros obtenidos manualmente para evitar acumular error. En la Tabla 5.7 se pueden observar los resultados obtenidos evaluando los modelos con los parámetros obtenidos manualmente a partir de los videos, mientras que en la Tabla 5.8 se reflejan los resultados obtenidos con los parámetros que extrae el sistema de procesamiento de imágenes desarrollado en este trabajo.

Primero, se evalúan los resultados obtenidos idealmente, validando los modelos con los parámetros obtenidos manualmente, con tal de analizar los mejores resultados posibles que se pueden obtener con las características extraídas de los videos.



**Figura 5.2:** Comparativa de los tiempos de división celular calculados y reales. Se muestra la relación de los valores calculados en función de los reales. Como referencia se representa la recta  $x = y$  en rojo, que supondría un cálculo perfecto de los parámetros.

| -        | Precisión( %) |       |       |
|----------|---------------|-------|-------|
|          | NI            | LB    | Media |
| CV-I     | 47.60         | 44.00 | 45.80 |
| CV-II    | 48.40         | 47.10 | 47.72 |
| CV-III   | 61.90         | 44.80 | 53.40 |
| CV-IV    | 56.25         | 58.82 | 57.53 |
| CV-V     | 63.15         | 44.00 | 53.60 |
| CV-media | 55.50         | 47.74 | 51.60 |
| Test     | 66.66         | 62.50 | 64.60 |

**Tabla 5.7:** Resultados para la predicción del nacimiento exitoso (LB) o no implantación (NI) del embrión, utilizando para validar parámetros obtenidos manualmente.

El resultado medio en entrenamiento es una predicción media del 51.60 % para ambas clases, siendo mayor para la predicción de la No Implantacion (55.50 %) que para el Nacimiento Exitoso (47.74 %). Este resultado indica una posible ausencia de información predictiva de estos parámetros. A pesar del bajo resultado medio en el conjunto de entrenamiento, en algunos grupos de validación cruzada se tienen resultados algo mejores, llegando al 60 % de precisión para la detección de no implantación.

Con el modelo entrenado para todos los videos de entrenamiento y validado con el conjunto de test los resultados mejoran, obteniendo una precisión media para ambas clases del 64.60 %.

Para establecer una comparativa de la calidad en la obtención de los parámetros, se obtiene también los resultados en la predicción utilizando para validar los modelos los parámetros obtenidos manualmente. Estos resultados se presentan en la siguiente Tabla 5.8:

| -        | Precision( %) |       |       |       |
|----------|---------------|-------|-------|-------|
|          | Grupo         | NI    | LB    | Media |
| CV-I     | 43.33         | 66.66 | 62.60 |       |
| CV-II    | 70.83         | 38.88 | 43.59 |       |
| CV-III   | 56.52         | 61.11 | 41.42 |       |
| CV-IV    | 62.50         | 42.30 | 49.54 |       |
| CV-V     | 50.00         | 33.33 | 62.69 |       |
| CV-media | 56.63         | 48.46 | 52.54 |       |
| Test     | 73.33         | 46.70 | 60.00 |       |

**Tabla 5.8:** Resultados para la predicción del nacimiento exitoso (LB) o no implantación (NI) del embrión, utilizando para validar parámetros obtenidos por el sistema desarrollado.

Los resultados obtenidos son similares a los que se tienen validando los modelos con los parámetros obtenidos a partir del sistema.



## Capítulo 6

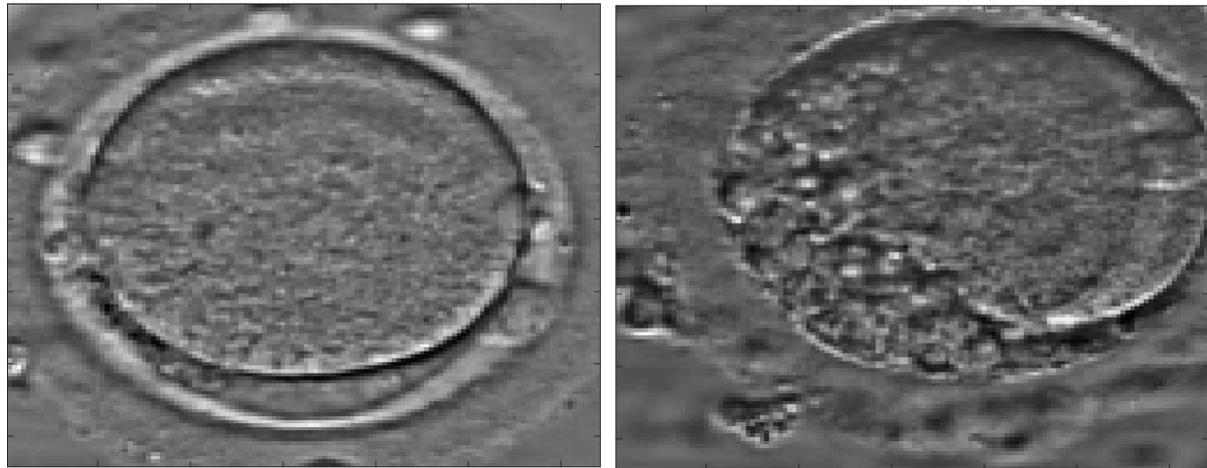
# Discusión

El presente trabajo se puede dividir en dos bloques: el primero, centrado en la obtención de los parámetros morfocinéticos presentados en la literatura, y el segundo que busca la predicción de la no implantación del embrión o nacimiento exitoso del mismo.

Para la obtención de los parámetros morfocinéticos, se han abordado nuevos enfoques a los presentes en la literatura, combinados con otros ya utilizados. Primero, la obtención de los mismos a partir de la predicción del número de células mediante técnicas de *machine learning* y *deep learning* combinado con una señal de la estimación del movimiento o cambio en el embrión, el SAD. En la práctica, esto resulta de utilidad, ya que si uno de ambos métodos no dan un resultado coherente debido a artefactos en la imagen, el otro método puede aportar una red de seguridad.

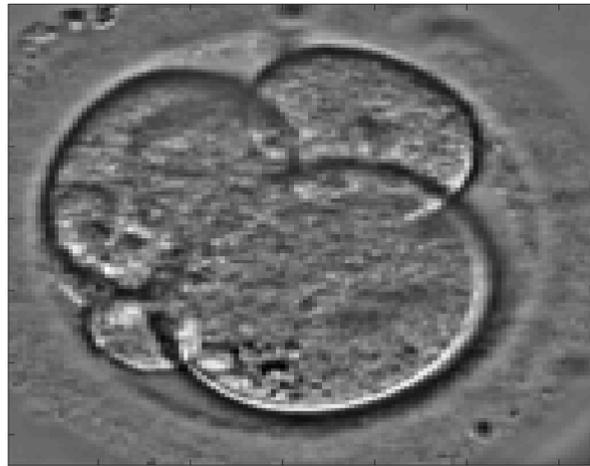
En la predicción del número de células en la imagen, de los tres enfoques (granulometría, LBP y CNN), el tercero de ellos obtiene un resultado claramente superior al resto. La información que aportan los LBP acerca de la textura del embrión no está relacionada con el número de células. Esto se puede apreciar visualmente al ver los videos, ya que la superficie del interior de las células se observa igual dentro del video para 1, 2, 3, 4 o incluso 5 células en la mayoría de los casos. En cuanto a la granulometría, la información que aporta sobre los elementos que componen la imagen tampoco es suficiente. Parece distinguir entre la presencia de una sola célula y la presencia de 5 o más, alcanzando cerca de un 70 % de sensibilidad en éstas. Esto puede ser debido a que los embriones con 5 o más células presentan un gran número de elementos de bajo tamaño, mientras que las de 1 célula no presentan ninguno. Por contra, no distingue las fases de 2, 3 y 4 células. La técnica CNNs en cambio, va en línea con los buenos resultados expuestos en otros trabajos. A pesar de esto, se tienen ciertas limitaciones en cuanto a la técnica y al sistema de adquisición de imágenes utilizado para registrar el video. Por ejemplo, errores cometidos por la CNN pueden encontrarse en la Figura 6.1.

Estos son principalmente debidos al solapamiento entre células. Al tener una imagen bidimensional de un objeto tridimensional, se pierde parte de la información, y las células pueden quedar debajo de otras, o fuera del campo de visión. Otro tipo de error sucede también con imágenes cuyos embriones tienen un alto grado de componentes fragmentados, que comprimen las células y les producen cambios en su tamaño. Estos errores son comprensibles, pero entran dentro de las limitaciones del trabajo.



(a) Real: 2 células , Clasificación: 1 célula

(b) Real: 2 células , Clasificación: 3 células

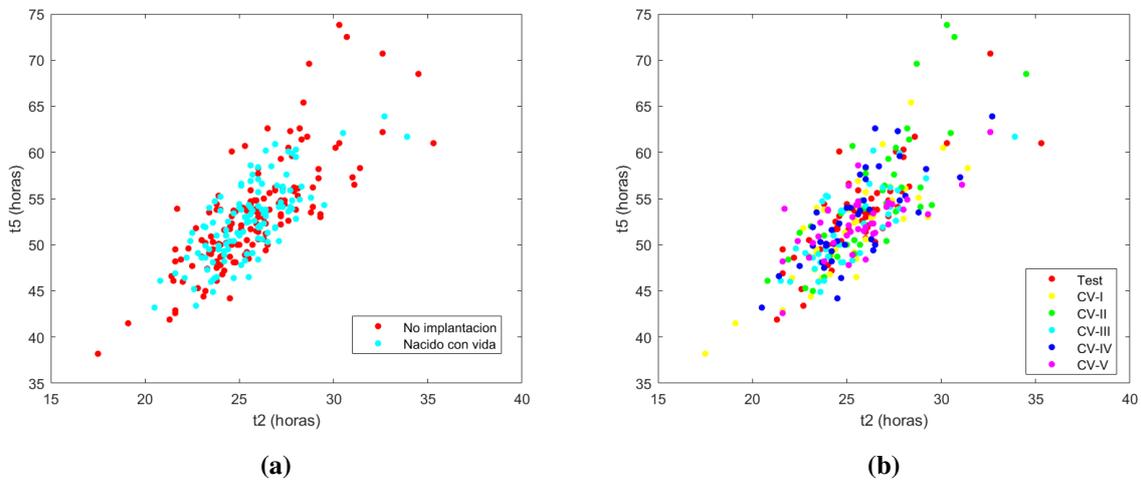


(c) Real: 3 células , Clasificación: 2 células

**Figura 6.1:** Errores típicos de la CNN al clasificar una imagen según su número de células.

En cuanto al bloque de predicción de la no implantación o nacimiento exitoso a partir de los parámetros, se presenta un sistema automático de obtención de los parámetros y clasificación de las muestras, mientras que en trabajos previos estos parámetros eran generalmente obtenidos de forma manual mediante especialistas. Los resultados en este apartado no han sido buenos, obteniendo alrededor del 50 % de precisión media en el conjunto de datos de entrenamiento (lo cual es equivalente a clasificar al azar los videos) y 60 % en test. Teniendo en cuenta que en la bibliografía se indicaba lo contrario acerca de la información de estos parámetros, se busca una explicación en la distribución de los datos en los distintos subconjuntos de entrenamiento y test y en la distribución de los parámetros. Para ello, se representa el valor de  $t_2$  (tiempo de división a dos células) respecto a  $t_5$  (tiempo de división a 5 células), los dos parámetros que más importancia tienen en estudios previos, en la Figura 6.2. Estos se dibujan diferenciando cada muestra según si su clasificación de no implantación o nacimiento exitoso (Figura 6.2.a) y según el grupo de entrenamiento o test al que pertenecen (Figura 6.2.b). Se puede observar en (a) que parte de las muestras con no implantación tienen tiempos más altos de división celular, aunque la gran mayoría están solapadas con las muestras de nacimiento exitoso. En (b) se puede observar la distribución de las

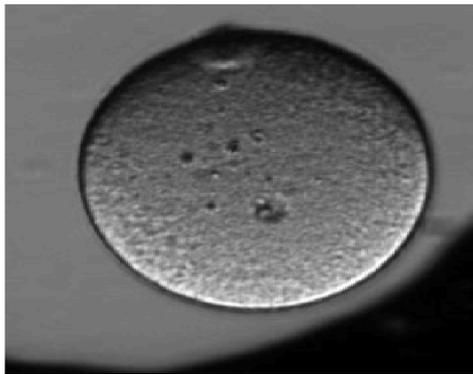
muestras en los distintos grupos de test y validación. En algunos grupos de entrenamiento no han entrado muestras con valores de division celular altos, y por tanto no tienen esta información.



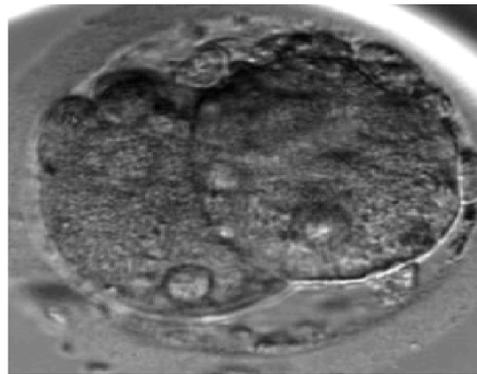
**Figura 6.2:** Representación de  $t_2$  en función de  $t_5$  para todas las muestras de la base de datos.

En la Figura 6.2.a se observa como la mayoría de muestras están concentradas en la misma zona, es decir, no se observa diferencia en la media de ambos grupos. Donde si se observa cierta diferencia es para algunas muestras de no implantacion, que tienen valores extremos (tanto altos como bajos). Visualmente, estas muestras son las que los parámetros de división celular son capaces de discriminar entre ambas clases. Los bajos resultados en validación vienen dados porque no hay suficientes casos de este tipo para estar en todos los grupos de validación y, por lo tanto, en estos grupos la capacidad predictiva de los parámetros es nula. Por ejemplo, el segundo grupo de validación tiene unos resultados especialmente bajos. En la Figura 6.2.b se puede observar cómo en este grupo han caído las muestras con valores de división celular más altos en  $t_5$ , mientras que en el resto de grupos no, y por tanto al entrenar los modelos no tienen información de esta zona. En cambio, en el conjunto de test, comparado con el conjunto de entrenamiento completo, si se tienen muestras pertenecientes a todas las zonas y por tanto se obtiene un resultado más representativo de la información que tienen los parámetros morfocinéticos desarrollados. Los bajos resultados en la predicción de la no implantacion o el nacimiento exitoso vienen dados por el limitado número de muestras, haciendo que estas no estén bien distribuidas en todos los grupo de entrenamiento, y las limitaciones propias de los parámetros utilizados.

Al utilizar los parámetros morfocinéticos presentados, se está resumiendo toda la información del desarrollo embrionario a ciertos instantes de tiempo. Con esto se está pasando por alto posibles ciertas características morfológicas de las células del embrión. En estudios previos, estos se complementaban con clasificaciones manuales realizadas por biólogos especializados, según la calidad morfológica de los embriones. En la base de datos estudiada, se han observado muestras clasificadas como no implantacion embrionaria con tiempos de división celular dentro de la media, pero que tienen alguno de las características morfológicas anómalas respecto a las muestras de nacimiento exitoso (Figura 6.3).



(a)



(b)

**Figura 6.3:** Muestras con tiempos de división celular normales pero con características morfológicas anómalas. En (a) se tiene un embrión sin zona pellucida, en (b) se tiene un embrión con fragmentos celulares en la superficie.

Como futura mejora del sistema, se podría añadir parámetros relacionados con la morfología del embrión para complementar los tiempos de división celular. Por ejemplo, el radio del embrión, la presencia de Zona Pellucida [23] y su radio o el grado de fragmentación en el embrión son parámetros usados en la práctica para evaluar la morfología [24].

## Capítulo 7

# Conclusiones

Para concluir, se retoman los objetivos planteados al inicio trabajo.

### ■ Cálculo de parámetros morfocinéticos.

- Se ha desarrollado satisfactoriamente un modelo que predice el número de células a partir de las imágenes del embrión con el uso de Redes Neuronales Convolucionales (CNN) y un postprocesamiento basado en Campos Condicionales Aleatorios (CRF).
- Características del embrión basadas en la textura de la imagen (uso de Local Binary Pattern) o la fragmentación (Granulometría) no aportan información suficiente acerca del número de células del mismo como para realizar la predicción.
- A partir del número de células y la estimación del movimiento del embrión (uso de Diferencia Absoluta Muestral, SAD) se ha desarrollado un sistema de procesamiento de imágenes que calcula satisfactoriamente los parámetros morfocinéticos.

### ■ Predicción del éxito en el nacimiento.

- Se ha desarrollado un modelo que predice entre embriones que dan lugar a un nacimiento exitoso o a la no implantación a partir de los parámetros morfocinéticos, con un 60 % de precisión en el conjunto de test.
- Los parámetros morfocinéticos estudiados tienen limitada información en cuanto a la predicción de no implantación o nacimiento exitoso. Únicamente indican que los casos con tiempos de división celular muy tardíos o cortos tienen mayor posibilidad de no dar lugar a un nacimiento exitoso.
- Para mejorar los resultados en la predicción del éxito en el nacimiento se requiere el uso de otros parámetros, más relacionados con la morfología o cambios de esta en el embrión.



**Parte II**

**Presupuestos**



## Capítulo 8

# Presupuestos

### 8.1 Introducción

Para el desarrollo del trabajo se ha requerido de recursos, tanto materiales como personales, los cuales deben ser presupuestados. A continuación se busca definir los costes asociados a la realización del Trabajo Fin de Máster. Estos, engloban tanto los materiales necesarios (software y equipos informáticos principalmente) como los honorarios de las personas necesarias para ello.

### 8.2 Presupuestos detallados

Los elementos presupuestados del trabajo se detallan a continuación:

#### 8.2.1 *Mano de obra*

El trabajo desarrollado se trata principalmente del desarrollo de algoritmos y su programación. Por tanto, gran parte de los costes imputables vienen dado por la mano de obra necesaria para ello. Entre ella, se tiene el alumno que realiza el trabajo, y dos tutores.

- Tutora: Valeriana Naranjo Ornedo, catedrática de la Universidad Politécnica de Valencia y Doctora en Telecomunicaciones.
- Cotutor: Adrián Colomer Granero, técnico superior de la Universidad Politécnica de Valencia y Doctor en Telecomunicaciones.
- Estudiante: Julio José Silva Rodríguez, estudiante del máster en ingeniería biomédica.

Los honorarios y horas de trabajo se presentan en la Tabla 8.1.

| Concepto   | Unidades - Uds. | Cantidad (Uds.) | Coste Unitario (€/ Uds.) | Coste (€) |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------|
| Tutora     | horas           | 30              | 29,50                    | 885,00    |
| Cotutor    | horas           | 30              | 17,20                    | 516,00    |
| Estudiante | horas           | 500             | 12,50                    | 6250,00   |

**Tabla 8.1:** Costes de mano de obra.

### 8.2.2 Software

Los algoritmos del trabajo se han desarrollado en el software Matlab en versión R2018b. Para la redacción se ha utilizado del software gratuito de desarrollo de textos shareLatex. Por tanto, el gasto en cuanto a software necesario para el proyecto es la licencia de Matlab para uso estándar, de duración anual [25]. Además, se requiere de ciertas herramientas (*Toolbox*). Estos costes están detallados en la siguiente Tabla 8.2.

| Concepto                          | Unidades - Uds. | Cantidad (Uds.) | Coste Unitario (€/ Uds.) | Coste (€) |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------|
| Matlab R2018b                     | -               | 1               | 800                      | 800       |
| <i>Neural Network toolbox</i>     | -               | 1               | 400                      | 400       |
| <i>Parallel Computing toolbox</i> | -               | 1               | 400                      | 400       |
| <i>Signal Processing toolbox</i>  | -               | 1               | 400                      | 400       |
| <i>Image Processing toolbox</i>   | -               | 1               | 400                      | 400       |

**Tabla 8.2:** Costes de Software.

### 8.2.3 Hardware

Como hardware, se ha utilizado un ordenador portátil, modelo Dell XPS13 [26]. Este ordenador tiene un coste de 1.208,99 €, con una estimación de tiempo de uso de 5 años (75 meses). Por tanto, con este periodo de amortización, su coste mensual es de 16.12€/mes.

Para algunos algoritmos, como el entrenamiento de las Redes Neuronales Convolucionales, se ha requerido el uso de hardware con GPU y altas capacidades de memoria. Para ello, se ha utilizado el servidor del grupo de investigación CVBLab. Al realizar una estrategia de validación cruzada, en cada prueba de entrenamiento de la Red Neuronal Convolutiva se entrena la misma cinco veces. Cada proceso de entrenamiento en todos los grupos dura alrededor de 4 horas. Teniendo en cuenta que se han realizado distintas pruebas de variaciones de arquitectura de la red y de ajuste de hiperparámetros, se estima que se ha utilizado el servidor un total de 60 horas. Las horas de uso de este son presupuestadas, junto al ordenador, en la siguiente Tabla 8.3.

| Concepto        | Unidades - Uds. | Cantidad (Uds.) | Coste Unitario (€/ Uds.) | Coste (€) |
|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------|
| Servidor CVBLab | horas           | 60              | 0,04                     | 2,40      |
| Ordenador       | meses           | 5               | 17.72                    | 80.60     |

**Tabla 8.3:** Costes de hardware.

### 8.3 Presupuesto total

Finalmente, se calcula la suma de todos los costes detallados, obteniendo un presupuesto. A este presupuesto queda añadirle el impuesto sobre el valor añadido, un 21 % de este total. Esto se detalla en la Tabla 8.4.

| Concepto          | Coste (€) |
|-------------------|-----------|
| Presupuesto       | 10134,00  |
| IVA (21 %)        | 2128,14   |
| Presupuesto Total | 12262,14  |

**Tabla 8.4:** Costes totales.

Finalmente, el presupuesto total asociado al trabajo es de doce mil doscientos sesenta y dos euros con catorce céntimos. (12262,14 €).



# Bibliografía

- [1] J. Hall. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 2 edition, 2010.
- [2] Fertilizatio in hominibus sapientibus. Obtenido de: [https://la.wikipedia.org/wiki/Conceptus/media/File:Human Fertilization.png](https://la.wikipedia.org/wiki/Conceptus/media/File:Human_Fertilization.png). Acceso: 2018-06-15.
- [3] S. Anwar and A Anwar. Infertility: A review on causes, treatment and management. *Womens Health Gynecology*, 2016.
- [4] B. Aparicio-Ruiz, N. Basile, S. Perez, F. Bronet, J. Remohi, and M Mesenguer. Automatic time-lapse instrument is superior to single-point morphology observation for selecting viable embryos: retrospective study in oocyte donation. *Fertility and Sterility*, 2016.
- [5] The clinical benefits of the embryoscope time-lapse system. Obtenido de: <https://www.wijnlandfertility.com.za/clinic-benefits-embryoscope-time-lapse-system/>. Acceso: 2018-07-25.
- [6] M. Mesenguer, J. Herrero, A. Tejera, K. M. Hiligsoe, N. BirgerRamsing, and J. Remohi. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reproduction*, 2011.
- [7] A. P. A Van Montfoort, J. C. M. Dumoulin, A. D. M. Kester, and J Evers. Early cleavage is a valuable addition to existing embryo selection parameters: a study using single embryo transfers. *Human Reproduction*, 2004.
- [8] D. Hlinka, B. Kalatova, I. Uhrinova, S. Dolinska, J. Rutarova, J. Rezacova, S. Lazarovska, and M. Dudas. Time-Lapse Cleavage Rating Predicts Human Embryo Viability. *Physiological Research*, 2012.
- [9] S. Parveen, N. Naeem, and J. Devi. Review on Local Binary Pattern (LBP) texture descriptor and its variants. *International Journal of Advanced Research*, 2017.
- [10] Y. Yin, Y. Tian, W. Wang, F Duan, Z. Wu, and M. Zhou. Classification Based on LBP and SVM for Human Embryo Microscope Images. *Human-Computer Interaction*, 2013.
- [11] I. B. Leuve Konbi and C. Guo. Enhancing Face Identification Using Local Binary Patterns and k-Nearest Neighbors. 2017.

- [12] T. Ohara, M. Pietikainen, and T. Maenpaa. Multiresolution gray-scale and rotation invariant texture classification with local binary patterns. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2002.
- [13] M. Sonka, V. Hlavac, and R. Boyle. *Image Processing, Analysis and Machine Vision*. 1993.
- [14] C. M. Bishop. *Pattern Recognition and Machine Learning*. 2009.
- [15] L. Breiman. Random Forests. 2001.
- [16] Random forest simple explanation. Obtenido de: <https://medium.com/@williamkoehrsen/random-forest-simple-explanation-377895a60d2d>. Acceso: 2018-07-28.
- [17] Deep learning for complete beginners: convolutional neural networks with keras. Obtenido de: <https://cambridgespark.com/content/tutorials/convolutional-neural-networks-with-keras/index.html>. Acceso: 2018-07-30.
- [18] A. Krizhevsky, I. Sutskever, and G. E. Hinton. ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 2012.
- [19] Convolutional neural network. Obtenido de: [https://en.wikipedia.org/wiki/Convolutional\\_neural\\_network](https://en.wikipedia.org/wiki/Convolutional_neural_network). Acceso: 2018-07-30,.
- [20] N. Srivastava, G. Hinton, A. Krizhevsky, I. Sutskever, and R. Salakhutdinov. Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting. *Journal of Machine Learning Research*, 2014.
- [21] A. Khan, S. Gould, and M Salzmman. Deep Convolutional Neural Networks for human embryonic cell counting. 2017.
- [22] A. Khan, S. Gould, and M Salzmman. A linear chain Markov model for Detection and localization of cells in early stage embryo development. 2015.
- [23] D. A. Morales, E. Bengoetxea, and P Larranaga. Automatic Segmentation of Zona Pellucida in Human Embryo Images Applying an Active Contour Model. 2015.
- [24] A. Coello, M. Mesenguer, A. Galan, L. Alegre, J. Remohi, and A. Cobo. Analysis of the morphological dynamics of blastocysts after vitrification warming defining new predictive variables of implantation. *Fertility and Sterility*, 2017.
- [25] New license for matlab student r2018a. Obtenido de: <https://es.mathworks.com/store/link/products/standard/ML>. Acceso: 2018-08-28.
- [26] Portatiles para empresa. Obtenido de: <https://www.dell.com/es-es/work/shop/port%C3%A1tiles-dell/sc/laptops/xps-laptops>. Acceso: 2018-08-28.



