

Ciencia computacional aplicada a la biomedicina

A la izquierda: imagen de fluorescencia de un embrión de pez cebra. A la derecha: fluorescencia, modelos geométricos y esquemas 3D representan cambios asimétricos entre izquierda y derecha en estructuras del cerebro del embrión, entre las 26 y 38 horas postfertilización. Imagen: C.G. Lemus, J. Jara, M.L. Concha, S. Härtel (LEO, SCIAN-Lab).



Nancy Hitschfeld

Profesora Asociada DCC Universidad de Chile. Obtuvo su doctorado en Technischen Wissenschaften en el ETH-Zurich (Suiza). Su área de estudio es el modelamiento geométrico, en particular la generación de mallas en dos y tres dimensiones, análisis de imágenes y programación orientada a objetos. nancy@dcc.uchile.cl



Steffen Härtel

Doctor en Ciencias Naturales Universidad de Bremen (Alemania). Profesor Asociado en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina. Director de SCIAN-Lab. Su trabajo se orienta al desarrollo de modelos físicos, matemáticos y computacionales para microscopía óptica avanzada y procesamiento de imágenes, con aplicaciones que van desde la investigación básica a la telemedicina. shartel@med.uchile.cl



Jorge Jara

Alumno del Programa de Doctorado en Ciencias mención Computación, DCC Universidad de Chile. Forma parte del Laboratorio de Análisis de Imágenes Científicas SCIAN-Lab (BNI, Facultad de Medicina U. de Chile). Trabaja en el desarrollo de métodos de segmentación 3D para imágenes de fluorescencia en series de tiempo. jjara@dcc.uchile.cl

La ciencia e ingeniería computacional es una disciplina que permite entender, predecir y/o resolver problemas complejos que surgen tanto en el diseño y análisis de problemas, no sólo en ingeniería, sino también en el estudio de fenómenos naturales desde la astrofísica a las ciencias de la vida, con creciente frecuencia e impacto. En ciencias biomédicas, el desarrollo de nuevas técnicas microscópicas, nanoscópicas o genéticas generan avalanchas de datos que requieren un enfoque ingenieril en combinación con modelos matemáticos para reconocer patrones, crear nuevos componentes activos a escala nanométrica, o extraer y filtrar información de arreglos de expresión génica. Con la creciente capacidad de adquisición de datos a múltiples escalas, aumenta también la complejidad en el manejo e interpretación de éstos, por lo que se requiere del desarrollo y aplicación de nuevos modelos computacionales tanto de análisis como de simulación con enfoques multidisciplinarios, generalmente

asociados a estrategias de computación de alto desempeño.

Actualmente, las aplicaciones de ciencia e ingeniería computacional resultan innumerables. Entre las más conocidas están: simulación de semiconductores y VLSI en ingeniería eléctrica; análisis de elementos finitos en ingeniería civil; simulación de estructuras moleculares y sus propiedades en física/química; simulaciones de Monte-Carlo y eventos discretos, y optimización matemática en ingeniería industrial; modelamiento de reservas de petróleo y yacimientos mineros en geología y minería; simulación de la física del universo y detección automática de cuerpos celestes en astronomía; modelamiento de la física de partículas y cálculo automático de sus interacciones en física; modelos de predicción del tiempo en geofísica; y análisis del genoma de los organismos, simulaciones del comportamiento de órganos, análisis y modelamiento multinivel

de estructuras biológicas en biología y medicina. Dentro de las técnicas usadas hay modelos matemáticos para la solución numérica de ecuaciones diferenciales parciales y ecuaciones lineales, métodos de modelamiento y análisis estadístico, optimización, modelos computacionales representados por algoritmos y estructuras de datos eficientes, tanto para resolver problemas discretos como continuos, algoritmos geométricos, programación paralela, técnicas de visualización y análisis de grandes volúmenes de datos.

Durante las últimas décadas ha habido un enorme avance tanto en la capacidad de cálculo y almacenamiento computacional como en las tecnologías para la adquisición de imágenes, en particular para la medicina y ciencias de la vida. El uso tradicional de las imágenes biomédicas ha sido para visualizar e inspeccionar las estructuras celulares o anatómicas. Hoy en día, las imágenes se han convertido en fuente de información crucial para planear, simular y visualizar cirugías en tiempo real, analizar y modelar el desarrollo de enfermedades, o entender el comportamiento y evolución de organismos vivos y sus estructuras componentes a distintas escalas. En este contexto, el desarrollo de la computación con algoritmos geométricos y análisis de imágenes se potencia con un número creciente de aplicaciones de uso cotidiano o de ciencia básica [1,2]. Uno de los grandes desafíos en este ámbito es mejorar la eficiencia y precisión de los algoritmos actuales para (1) identificar regiones de interés (*regions of interest*, ROIs) en imágenes, a través del proceso de segmentación, (2) construir representaciones geométricas de ROIs, (3) caracterizar y clasificar estas representaciones geométricas a nivel subcelular, celular o supracelular, y (4) analizar y visualizar los resultados en el contexto biomédico correspondiente. Éstas son tareas difíciles debido no sólo a la gran cantidad de datos a manejar, o la complejidad y variabilidad de las estructuras en estudio. Al mismo tiempo aparecen errores e incertidumbres inherentes a los datos y la microscopía, como limitaciones de resolución espacio-temporal, y marcación

imperfecta de las estructuras de interés que causa que bordes de ROIs no se vean o no aparezcan cerrados [3].

En este artículo describiremos algunos de los métodos de análisis de imágenes y de representación geométrica que hemos estado desarrollando [4,5] para caracterizar el proceso de generación de órganos en embriones de pez cebra y el uso de procesamiento de imágenes para obtener imágenes de súper resolución en microscopía de fluorescencia.

LA COMPLEJIDAD DE ANALIZAR ORGANOGÉNESIS EN EL PEZ CEBRA

¿Por qué usar el pez cebra? Se trata de un modelo de desarrollo de organismos vertebrados para el cual se conocen diversas técnicas de experimentación genética y de manipulación de embriones. Los embriones de pez cebra son casi transparentes, lo que permite usar técnicas de marcación fluorescente y luz visible para observar al mismo tiempo distintas estructuras subcelulares o celulares con uno o más “colores” (longitudes de onda). La Figura 1 muestra el enfoque general que utilizamos para el procesamiento de imágenes de fluorescencia en embriones de pez cebra. Luego, en la Figura 2 se muestran modelos geométricos para representar y cuantificar la morfología en células del complejo pineal-parapineal en el cerebro, además de los cambios que ocurren durante su desarrollo. Utilizando estos acercamientos estudiamos el desarrollo de la asimetría izquierda/derecha en el sistema nervioso durante la organogénesis del cerebro en el pez cebra. Análisis de este tipo se realizan en condiciones normales y alteradas, con múltiples aplicaciones en estudios de enfermedades o de terapias [6].

La proliferación, migración y cambios en la organización de células durante la formación de cualquier órgano involucran procesos en intervalos de tiempo que van de segundos a días. Para la observación *in vivo* de estos fenómenos se recurre a

la microscopía confocal de fluorescencia, que permite observar embriones marcados con moléculas exógenas o proteínas fluorescentes (fluoróforos) que no alteran al sistema vivo y sin necesidad de fijarlos a una placa, como en el caso de la microscopía electrónica. Mediante un sistema de espejos y filtros es posible obtener imágenes de varios canales de fluorescencia en un mismo espécimen (por ejemplo, longitudes de onda en rojo para núcleos y verde para membranas celulares) y realizar capturas de imágenes tanto en dos como tres dimensiones a intervalos de tiempo controlados.

Actualmente existen en Chile más de una decena de microscopios confocales “convencionales” en distintas universidades y centros de investigación, y unos pocos orientados a alta resolución espacio/temporal y la adquisición automatizada para experimentos simultáneos con múltiples muestras: (1) el *spinning disk microscope* (SDM, Facultad de Medicina U. de Chile) es capaz de adquirir imágenes 2D a tasas de ~10 imágenes/seg. (de unos 1.024x1.344 píxeles), permitiendo observar procesos de transporte y reorganización de estructuras intracelulares como el retículo endoplasmático. En 3D, el SDM permite capturar un volumen de datos del orden de 1.024x1.344x70 vóxeles (“píxeles 3D”) cada cinco minutos, permitiendo observar la dinámica de conglomerados de células como en el caso del complejo pineal y la habénula en el cerebro (Figura 1 y 2). (2) el *Large scale imaging* (LSI) o *macro-zoom* (U. de Chile), permite observar estructuras en escala de milímetros a nanómetros en placas con hasta 96 muestras, mediante fluorescencia o sin ninguna marcación (contraste de fase), y cuenta con software programable para realizar capturas automatizadas durante horas o días. Un experimento típico en estos microscopios con 1-2 canales de fluorescencia genera 20-80GB de imágenes “crudas” (*raw*), los que pueden aumentar 5-10 veces según la información extra que se requiera generar, como imágenes con reducción de ruido, mejoras en la resolución y/o modelos geométricos asociados a las estructuras de interés. La

Figura 1 esquematiza una secuencia de procesamiento de imágenes típicas para el estudio del desarrollo asimétrico del órgano parapineal, que ocurre entre las 24 y las 36 horas postfertilización (hpf) de un embrión de pez cebra. Una vez adquiridas, las imágenes de fluorescencia se someten primero a una etapa de *tratamiento* para minimizar el ruido y las distorsiones del microscopio (deconvolución); posteriormente, diversas técnicas de *análisis* se enfocan en extraer información tanto sobre las imágenes como sobre las estructuras de interés que se puedan detectar; finalmente, las tareas de *comprensión* o *interpretación* apuntan a consolidar la información obtenida en las etapas anteriores para responder a las preguntas de alto nivel que motivan el procesamiento. Nos centraremos ahora en la parte de análisis, particularmente en la segmentación, modelamiento y

optimización de características de forma y organización de ROIs a nivel subcelular, celular y supracelular.

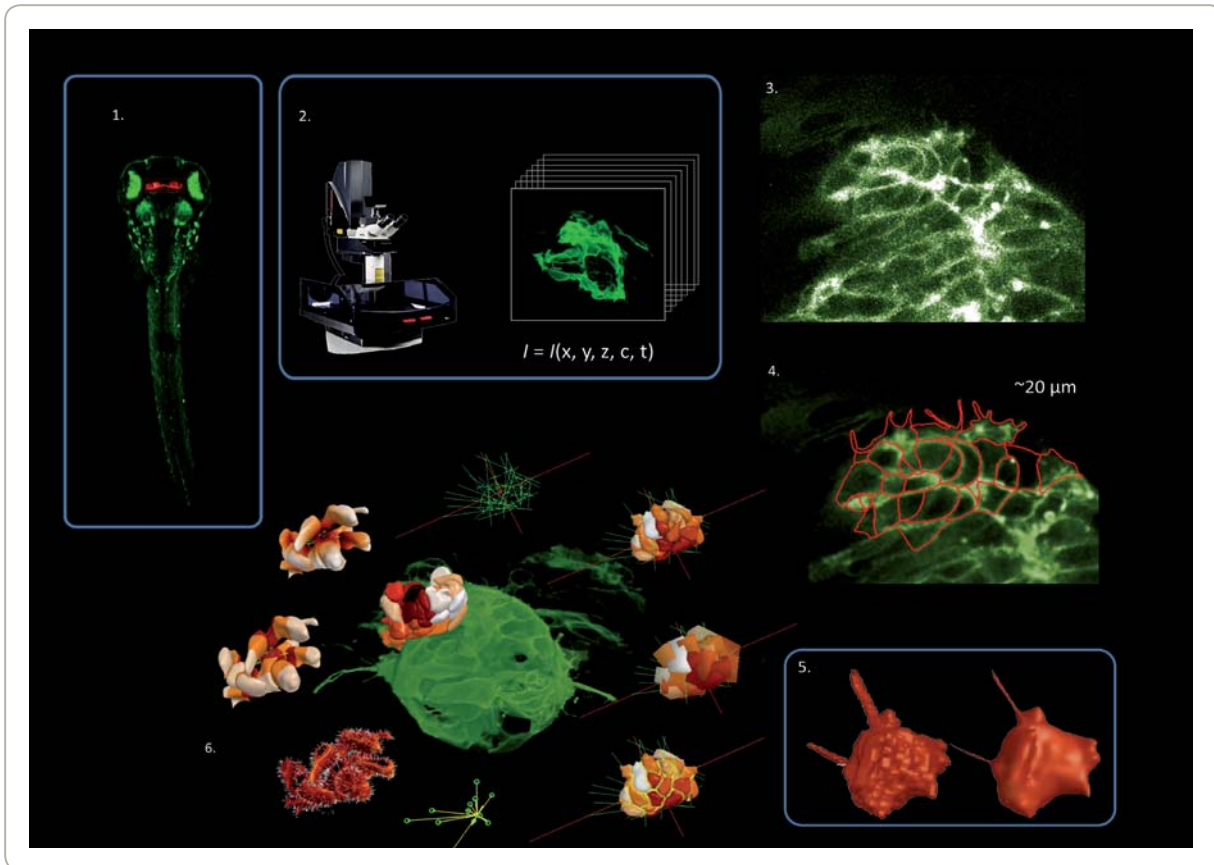
Segmentación de estructuras y caracterización de morfología, topología y organización

El análisis de imágenes, a nivel de células o de sus organelos constituyentes, complementa al uso de técnicas de biología a nivel molecular, como la genética o proteómica, ya que permite observar fenómenos a una escala mayor que la sola expresión de genes y proteínas (cientos de veces más pequeños). Por ejemplo, la organización de múltiples células en forma de rosetas o intercaladas en capas obedece no sólo a interacciones moleculares a escala de nanómetros, sino también a interacciones en el orden de

micrómetros, y características como posición relativa, tamaño y forma de las células. Para llevar a cabo caracterizaciones de este tipo resulta clave contar con algoritmos precisos para:

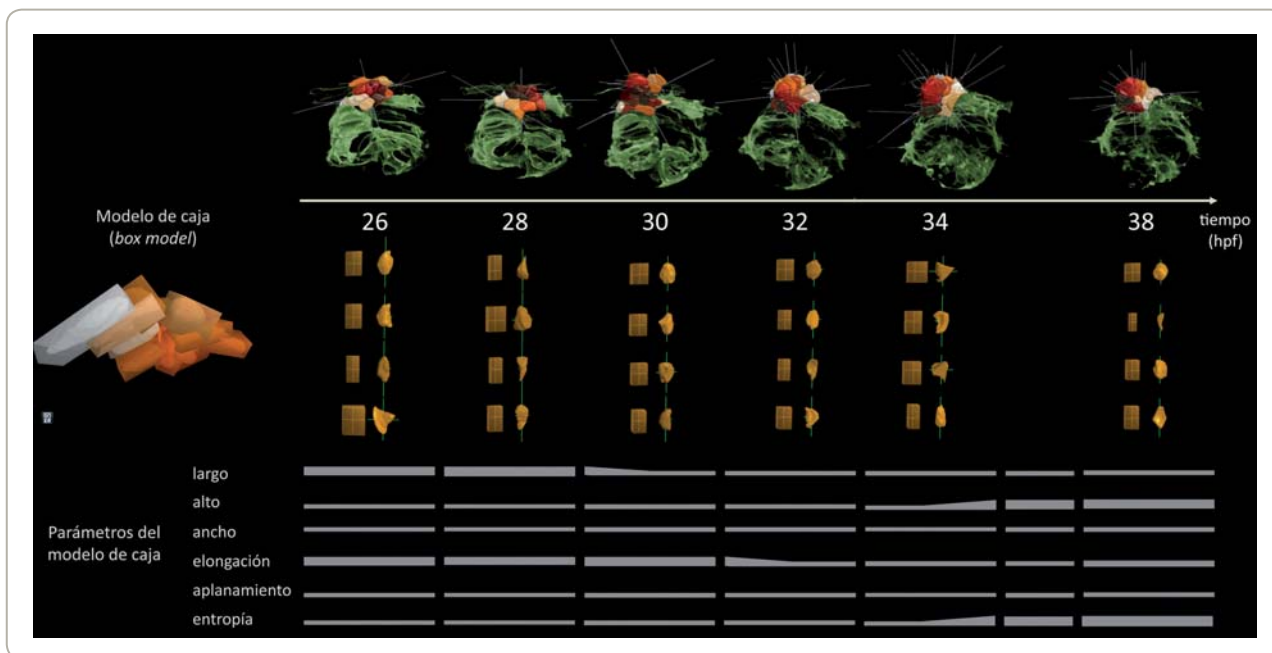
- Identificar ROIs en imágenes 2D/3D, en el llamado proceso de segmentación.
- Cuantificar características morfológicas (e.g. tamaño, orientación, curvatura del borde), topológicas (conectividad de estructuras, ramificaciones) y de organización o patrones (compactación, alineamiento, adyacencia o proximidad entre ROIs).
- Realizar análisis en series de tiempo, incluyendo estimación de movimiento y seguimiento de ROIs (*tracking*), además de los cambios de características de cada una.

Figura 1



Procesamiento de imágenes en un embrión de pez cebra. Un microscopio láser confocal permite observar embriones marcados con proteínas fluorescentes (1), generando imágenes 3D en el tiempo de estructuras cerebrales (2,3). Sobre estas imágenes se aplican algoritmos de mejora y detección de regiones de interés como membranas celulares (4), luego se construyen modelos geométricos que son optimizados (4) para obtener descriptores de forma y organización (5). Imagen: Carmen Gloria Lemus, Karina Palma, Lorena Armijo, Néstor Guerrero, Miguel Concha (LEO, Facultad de Medicina), Jorge Jara (DCC, SCIAN-Lab) y Steffen Härtel (SCIAN-Lab, Facultad de Medicina).

Figura 2



Cambios morfológicos en las células del órgano parapineal del embrión de pez cebra. Mediante una representación simplificada de modelos de caja, se observan cambios significativos en la morfología de las células del complejo parapineal, en el período de 26 a 38 horas postfertilización (hpf). Imagen: Carmen Gloria Lemus, Miguel Concha (LEO, Facultad de Medicina) y Steffen Härtel (SCIEN-Lab, Facultad de Medicina).

Para segmentar imágenes usamos modelos de contorno activo [7], que representan al borde de cada ROI mediante polígonos simples en 2D, o mallas de superficie en 3D compuestas por caras poligonales (poliedros). La idea general es definir una serie de características deseables en forma de fuerzas que deforman a cada contorno hasta alcanzar un estado de equilibrio que representa una segmentación optimizada. La acción de las fuerzas es modelada por ecuaciones diferenciales parciales discretizadas, que se resuelven en forma iterativa. Típicamente se definen *fuerzas internas* intrínsecas a la morfología del contorno, tales como su continuidad o curvatura, y *fuerzas externas* características de la imagen tales como las transiciones de color o intensidad.

En nuestro caso, el proceso de segmentación consiste en obtener primero una estimación inicial de las ROIs en cada imagen, mediante operaciones (filtros) a nivel de píxeles, tales como clasificación semiautomática [8], o bien mediante dibujos de biólogos expertos para los casos más difíciles. Las imágenes filtradas terminan en blanco y negro, con los píxeles en blanco representando a la(s)

ROI(s) y en negro al fondo. Para imágenes 3D, esto se hace de modo similar con varias imágenes 2D (plano xy) que se “apilan” en el eje z para formar un volumen compuesto por vóxeles (cubos cuyo lado es un píxel). Un algoritmo de tipo *marching cubes* [9] genera una malla de triángulos que representa la superficie de cada ROI reconocida. Las triangulaciones generadas están compuestas de hasta cientos de miles de vértices, arcos y triángulos. Debido a la complejidad de las estructuras celulares, las triangulaciones generalmente no son conformes, es decir que sus elementos constituyentes no están bien conectados, generando casos como superficies que no encierran un volumen, o cuyas caras son polígonos que se intersectan entre sí. Además, los triángulos pueden tener ángulos muy pequeños, muy grandes, o un área muy pequeña. Dado que estas triangulaciones las usamos para calcular propiedades morfo-topológicas de las estructuras, y los algoritmos que las calculan requieren que la malla sea conforme y de buena calidad, realizamos un proceso de reparación y mejoramiento de calidad. Para reparar la malla usamos implementaciones de algoritmos en librerías de software abierto [10], que detectan y

resuelven las inconsistencias. Para mejorar los ángulos mínimos manteniendo las características geométricas usamos el algoritmo de Delaunay, y para simplificar la malla eliminando triángulos de área pequeña usamos una implementación local de un algoritmo basado en el colapso de aristas [11].

Cuantificación de características morfológicas mediante skeletons

Usaremos el concepto de eje medial o esqueleto (*skeleton*) para un objeto o ROI 2D (polígono) o 3D (poliedro), como una estructura geométrica de tipo grafo formando líneas (1D) ubicadas en el interior del objeto original, y conservando varias de sus propiedades. En el caso de los sistemas biológicos, esto nos permite cuantificar, por ejemplo, el número de nodos (puntos terminales y de unión), la cantidad de bifurcaciones en cada nodo, largo de arcos y ángulo entre los nodos, entre otras propiedades, que dan cuenta de patrones arquitectónicos a nivel celular y subcelular,

tales como ramificaciones y conexiones entre neuronas, o redes de transporte de proteínas (retículo endoplasmático) y fibras estructurales (citoesqueleto) al interior de células. La Figura 3 muestra ejemplos de *skeletons* de la habénula en pez cebra, desde imágenes 3D de fluorescencia.

Existen varios algoritmos para calcular *skeletons*, pero no todos conservan las mismas propiedades del objeto original. Para representar las conexiones neuronales, nos interesa un algoritmo que mantenga el número de componentes conectados, túneles y cavidades, que sea invariante bajo transformaciones isométricas (como rotaciones o escalamiento), que esté aproximadamente centrado con respecto al objeto que representa y que sea poco sensible al ruido del borde de éste. Debido a esto elegimos trabajar con un algoritmo que recibe como entrada la triangulación que describe la superficie del objeto y le aplica (1) un proceso de contracción, (2) la transformación en líneas para generar un *skeleton*, y (3) un postproceso a las partes del *skeleton* que queden fuera o cerca del

borde del objeto original, o que sean poco representativas de la forma original [12,13]. Para esto se utiliza una representación de caras (triángulos) compuestas por aristas (segmentos de recta) y vértices (puntos).

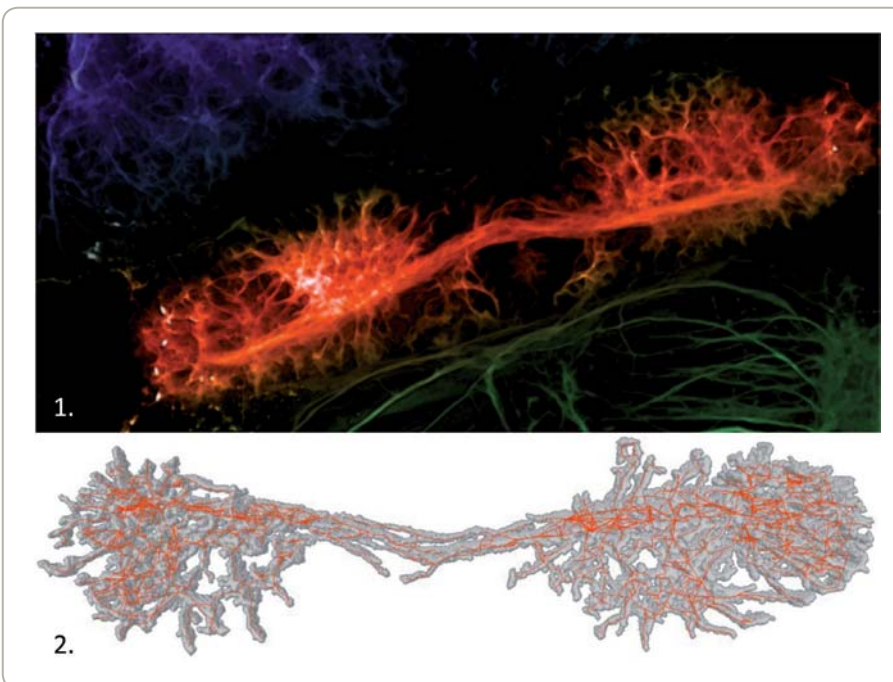
La etapa de contracción consiste en desplazar los vértices de la triangulación hacia el interior del objeto, en una dirección que se calcula en función de los vértices vecinos. Este proceso se realiza hasta que el área de la superficie contraída alcanza el 15% del área de la triangulación original aproximadamente. Si se visualiza esta malla, se asemeja a un *skeleton* (Figura 3). La etapa de transformación a un *skeleton* elimina todos los triángulos a través de un *colapso de aristas* dejando sólo aristas conectadas entre sí. Se usa un algoritmo "avaro" o *greedy*, que iterativamente calcula el costo de colapso para todas las aristas de la malla, y luego remueve la de menor costo. La función de costo incluye un término de forma y un término de muestreo. El costo de forma cuantifica la distorsión producida al colapsar una arista particular y el costo de muestreo cuantifica el largo de las

aristas (o espaciamiento entre los puntos que las unen). Finalmente, en la etapa de postprocesamiento se evalúa si existen partes del *skeleton* que necesitan centrarse y, si es así, se usa la información de los vértices originales que fueron colapsados a cada parte para centrarla.

MICROSCOPIA DE SÚPER RESOLUCIÓN SOFI

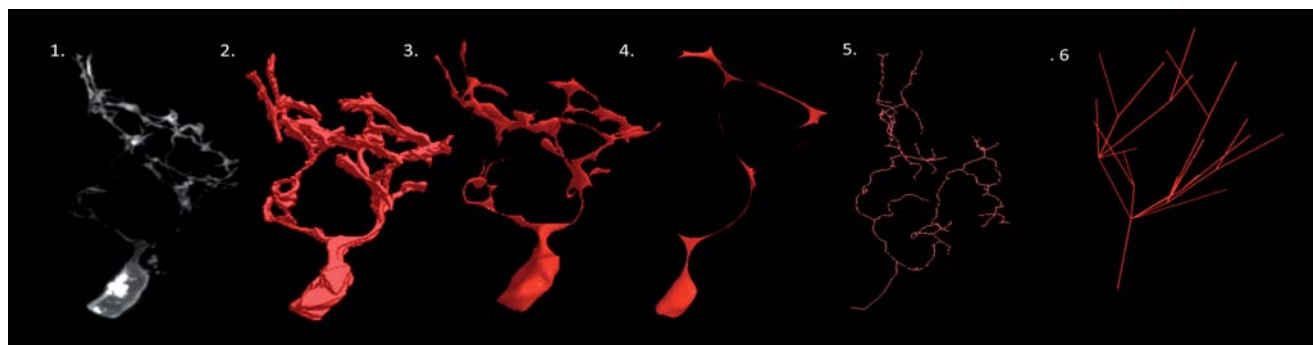
La resolución de la microscopía óptica clásica está limitada por la difracción de la luz (ley de Abbe). En la última década esta restricción ha sido superada mediante técnicas avanzadas de óptica combinadas con análisis matemático y procesamiento de imágenes. Una de ellas, SOFI (*Superresolution Optical Fluctuation Imaging*) se basa en las fluctuaciones temporales estocásticas e independientes de los emisores de fluorescencia (asociados a las estructuras de interés) y en el procesamiento estadístico postadquisición de imágenes que registran estas fluctuaciones [14]. Mediante el cálculo de correlaciones, mediante cumulantes de orden superior y análisis de Fourier, es posible "filtrar" la fluorescencia cuya fluctuación se ajusta al patrón de los marcadores, localizándola con precisión subpíxel (o subvóxel) y eliminando la fluorescencia espuria como ruido fotónico o autofluorescencia (Figura 5.1). La generación de una imagen de súper resolución requiere de miles de imágenes adquiridas a muy alta velocidad (~200-500 GBytes en 2D), y para incrementar la resolución en factor n se requieren $O(n^2)$ de memoria temporal y cantidad de cálculos. La ventaja de SOFI sobre otras técnicas similares recae en que no se necesita equipamiento electrónico o sistemas de adquisición sofisticados, lo que repercute significativamente en su costo. En colaboración con el laboratorio del Dr. Jörg Enderlein en la Universidad de Göttingen (Alemania), inventor de la técnica, hemos desarrollado algoritmos de SOFI, protocolos para tinción simultánea de dos proteínas en longitudes de onda distintas (rojo y verde), adquisición de imágenes y análisis de co-localización de receptores de neurotransmisores en neuronas de

Figura 3



Skeletons de proyecciones neuronales en la habénula de un embrión de pez cebra. A partir de la imagen de fluorescencia 3D (1), se identifican las proyecciones neuronales y se representan con modelos de superficie 3D. Un algoritmo de esqueletonización genera un modelo de líneas que representa el patrón de conectividad de las proyecciones (2). Imagen: Karina Palma (LEO, Facultad de Medicina) y Pablo Aguilar (DCC). Distinción en concurso Nikon Small World 2009.

Figura 4



Construcción del modelo de *skeleton* para una neurona de un embrión de pez cebra: imagen de fluorescencia de una neurona (1), mallas de superficie 3D detectadas (2) y optimizadas (3), y las etapas del algoritmo de *esqueletonización* (4-6). Imagen: Karina Palma (LEO/SCIAN-Lab, Facultad de Medicina), Liliana Alcayaga (DCC), Mauricio Cerda, Jorge Jara (DCC, SCIAN-Lab).

hipocampo. Utilizando un microscopio de epifluorescencia obtenemos series de diez mil imágenes por cada longitud de onda, para generar un incremento de resolución de $\sqrt{2}$ (SOFI de orden 2, Figura 5.2).

TRABAJO ACTUAL Y FUTURO

Actualmente nos encontramos desarrollando métodos para combinar la segmentación con técnicas de estimación de movimiento, para conocer, además de la posición de cada ROIs en el tiempo, qué tipo de movimiento realiza y los cambios que experimenta en relación a su entorno. La dinámica de estructuras biológicas observadas *in vivo* incluye movimientos con deformaciones de diversos tipos, como la formación y retracción de membranas con formas características, cambios de orientación en conjuntos de células y formación de adhesiones célula-célula, por nombrar algunas. En el caso del desarrollo del órgano parapineal, sus células se desacoplan del resto del complejo, para luego migrar en una dirección preferente, a la vez que se forma una especie de roseta con un punto de convergencia. Hasta ahora se conocen algunos genes y proteínas que participarían del proceso y, aunque sus patrones de expresión se han visto sincronizados con la dinámica descrita en el párrafo anterior, los mecanismos a nivel celular y supra-celular se desconocen. Un entendimiento detallado de este fenómeno permitiría acercarse a

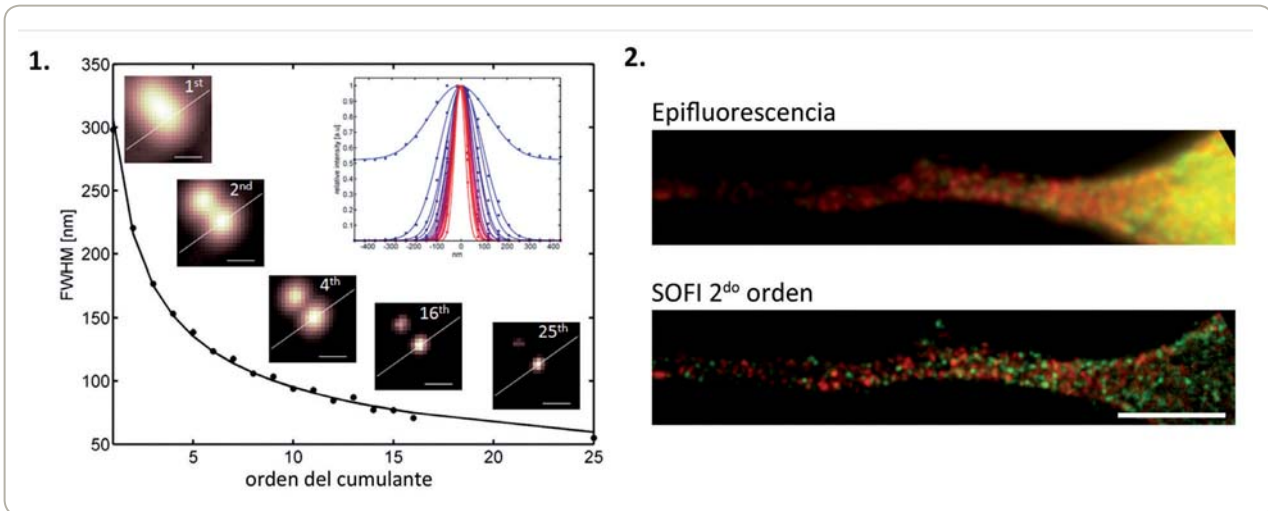
las causas de enfermedades del sistema nervioso, además de sugerir blancos y estrategias terapéuticas. Una problemática similar encontramos en otros órganos del pez cebra, además de modelos de células en cultivo sujetas a migración y deformaciones. Es por esto que nos encontramos trabajando en métodos variacionales de flujo óptico para estimación de movimiento, buscando una herramienta flexible que podamos aplicar en diversos escenarios [5,15]. En este contexto, la participación como plataforma biomatemática en el Instituto Milenio de Neurociencia Biomédica (BNI) diversifica las tareas y desafíos de nuestras colaboraciones. Aplicando una estrategia integrada y multidisciplinaria, el BNI explora la organización estructural y funcional del cerebro en condiciones normales y patológicas, tanto a nivel de organismos completos como a nivel celular; capacita una nueva generación de investigadores y clínicos; produce investigación clínica de alto nivel, y transfiere sus resultados a la sociedad mediante nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos para mejorar la calidad de vida de los pacientes neurológicos o con trastornos psiquiátricos.

En nuestra experiencia, una vez ideado o encontrado un algoritmo descrito para abordar un problema de imágenes, existe una brecha importante entre la teoría y su implementación en imágenes biomédicas. Esto se debe tanto a consideraciones numéricas y de calibración de parámetros como al tipo de imágenes, que suelen ser

más complejas y requieren márgenes de error muy acotados. Los algoritmos probados con éxito en *benchmarks* sintéticos resultan insatisfactorios en este contexto, y hemos debido desarrollar *benchmarks* sintéticos con estructuras biológicas representativas, para poder escoger los métodos numéricos a usar, los parámetros óptimos de cada algoritmo, entender sus capacidades y limitaciones en cada escenario y proponer mejoras [13,15,16]. Esto mismo nos ha servido para dar un marco de trabajo a los biólogos, que pueden ajustar las condiciones de adquisición de los microscopios de modo de optimizar la segmentación y la estimación de movimiento, con miras a automatizar procesos que aún son realizados en forma manual y/o que pueden ser propensos a error.

También consideramos importante la reproducibilidad de los resultados obtenidos, así como la disponibilidad de los algoritmos implementados. Es por esto que publicamos algoritmos en repositorios de dominio público como ImageJ (NIH), y hemos comenzado a participar de un proyecto para publicación arbitrada de algoritmos en imágenes, acompañados de implementaciones documentadas y ejemplos de uso, y de acceso abierto al público general. Se trata de la revista electrónica Image Processing Online (IPOL), iniciada en Francia. Mediante una colaboración con el Grupo de Tratamiento de Imágenes de la Universidad de la República en Uruguay, tenemos un primer algoritmo en revisión y proyectamos seguir nuestros

Figura 5



Imágenes de súper resolución con SOFI. Se muestra el aumento de resolución obtenido para: imágenes de prueba con *quantum dots* sobre un cubreobjetos (1) a distintos niveles de súper-resolución (órdenes de cumulante), y subunidades de receptores para neurotransmisores en neuronas de hipocampo (2). Barra de escala: 5 μm . Imagen: Omar Ramírez, Felipe Santibáñez (SCIAN-Lab, Facultad de Medicina).

desarrollos futuros no sólo publicando nuestros métodos en revistas de teoría y aplicación, sino también poniéndolos a disposición de la comunidad científica y general, tanto para su evaluación y crítica como para su uso y difusión.

El volumen de datos y tiempo de procesamiento de imágenes con el equipamiento actual ya sobrepasa las capacidades de un computador personal. Los algoritmos de *skeleton* para estructuras complejas pueden tardar de horas a días en calcularse. Esto nos lleva a trabajar en estrategias para cómputo de alto rendimiento, aprovechando el nuevo clúster de computación en el National Laboratory for High Performance Computing (NL-HPC) del Centro de Modelamiento Matemático (CMM). Finalmente, apuntamos a generar una infraestructura de red de alta velocidad que conecte a las instalaciones de imágenes en la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (campus norte, en Independencia) con el clúster, permitiendo el desarrollo futuro de aplicaciones en telemedicina (a través de centros de análisis remotos como el recién formado Centro de Espermogramas Digitales Asistidos por Internet (CEDAI) o el Centro de Patología Digital (CPD), biología a nivel celular y bioinformática a gran escala, contribuyendo al desarrollo de la ciencia y la salud en el país.

OTROS AUTORES DE ESTE ARTÍCULO

Carmen Gloria Lemus

Licenciada en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Actualmente realiza su tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas en la Facultad de Medicina Universidad de Chile, estudiando la morfogénesis del órgano parapineal en pez cebra (LEO, SCIAN-Lab, BNI).

Felipe Santibáñez

Ingeniero Civil Electrónico, Universidad de Concepción. Actualmente trabaja como asistente de investigación en SCIAN-Lab (BNI, Facultad de Medicina Universidad de Chile) en procesamiento de imágenes para SOFI y modelamiento de sistemas celulares mediante propiedades tensiles y de adhesión.

Omar Ramírez

Doctor en Ciencias Biomédicas Universidad de Chile. Actualmente realiza su postdoctorado en SCIAN-Lab (BNI, Facultad de Medicina U. de Chile). Estudia la relación entre estructura y procesos de transporte intracelular que se realizan en el retículo endoplasmático, en el contexto de función sináptica en neuronas.

Miguel Concha

Doctor en Ciencias Biomédicas Universidad de Chile. Profesor Titular del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina, y director del Laboratorio de Estudios Ontogénicos LEO (BNI, Facultad de Medicina U. de Chile). Su trabajo se enfoca en el estudio de la genética del desarrollo, morfogénesis celular y desarrollo neuronal, con peces teléosteos (pez cebra, anual, medaka, entre otros) como modelo de desarrollo.

ACERCA DE SCIAN-LAB

SCIAN-Lab reúne a un equipo en la interfaz de computación, matemáticas e investigación biomédica, y colabora estrechamente con laboratorios del Centro de Modelamiento Matemático (CMM) y del DCC, representado por la profesora Nancy Hitschfeld y tesis de pre y postgrado, formando la Advanced Imaging and Bioinformatics Initiative (AI-BI). En años recientes esta red se ha constituido en una iniciativa de colaboración única en Chile y América del Sur, combinando experticias en biología molecular, neurociencia, biología del desarrollo, neuropatología, reproducción humana, computación, telemedicina y análisis de imágenes in vivo para abordar problemas de ciencia básica y salud, con investigación y desarrollo de nivel internacional.^{BITS}

REFERENCIAS

- [1] C. Vonesch and F. Aguet and J-L Vonesch and M. Unser. The Colored Revolution of Bioimaging. *IEEE Signal Processing Magazine*, 23(3): 20-31, 2006.
- [2] Editorial: Microscopic Marvels. *Nature* 7247(459): 615, 2009.
- [3] Tim McInerney and Dimitri Terzopoulos. Deformable models in Medical Image Analysis: a survey. *Medical Image Analysis*, 1(2):91-108, 1996.
- [4] Proyecto FONDECYT 1090246, Partial differential equations for 3D photon denoising, optical flow and adjacent active surface models for high throughput in vivo spinning disk microscopy. 2009-2012. Investigador responsable: Steffen Härtel, co-investigador: Nancy Hitschfeld Kahler.
- [5] Proyecto FONDECYT 1120579, Fast Computational Schemes for the Analysis of Morpho-Topological Data from High Throughput Microscopy. 2012-2015. Investigador responsable: Steffen Härtel, co-investigador: Nancy Hitschfeld Kahler.
- [6] Pascal Haffter, Michael Granato, Michael Brand, Mary C. Mullins, Matthias Hammerschmidt, Donald A. Kane, Jörg Odenthal, Fredericus J. M. van Eeden, Yun-Jin Jiang, Carl-Philipp Heisenberg, Robert N. Kelsh, Makoto Furutani-Seiki, Elisabeth Vogelsang, Dirk Beuchle, Ursula Schach, Cosima Fabian, Christiane Nüsslein-Volhard. The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio*. *Development* 123, 1–36, 1996.
- [7] Jorge Jara. Contornos activos para segmentación en imágenes digitales. *Revista Bits de Ciencia* 5:68-73, 2011.
- [8] Luis Felipe Olmos. Segmentación de Objetos en Imágenes de Microscopía mediante Contornos Activos con Adaptabilidad Topológica. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil en Computación e Ingeniero Civil Matemático, F-Med/FCFM, Universidad de Chile, 2009.
- [9] William E. Lorensen, Harvey E. Cline. Marching cubes: A high resolution 3D surface construction algorithm. *SIGGRAPH Computer Graphics*, 21(4): 163-169, 1987.
- [10] Marco Attene. A lightweight approach to repairing digitized polygon meshes. *The Visual Computer*, 26(11): 1393-1406, 2010.
- [11] Nicolás Silva. Modelamiento del crecimiento de árboles usando mallas de superficie. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil en Computación. Universidad de Chile, 2007.
- [12] Oscar Kin-Chung Au, Chiew-Lan Tai, Hung-Kuo Chu, Daniel Cohen-Or, Tong-Yee Lee. Skeleton extraction by mesh contraction. *ACM SIGGRAPH 2008 papers*: 44:1-44:10, 2008.
- [13] Liliana Alcayaga. Generación de skeletons a partir de mallas de superficie. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil en Computación, F-Med/FCFM, Universidad de Chile, 2012.
- [14] Thomas Dertinger, Ryan Colyer, G. Iyer, Shimon Weiss, Jörg Enderlein. Fast, background-free, 3D super-resolution optical fluctuation imaging (SOFI). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(52):22287-22292, 2009.
- [15] José Delpiano, Jorge Jara, Jan Scheer, Omar Ramírez, Javier Ruiz del Solar, Steffen Härtel. Performance of optical flow techniques for motion analysis of fluorescent point signals in confocal microscopy. *Machine Vision and Applications*, 23(4): 675-689, 2012.
- [16] María Laura Fanani, Steffen Härtel, Luisina De Tullio, Jorge Jara, Felipe Olmos, Rafael Oliveira, Bruno Maggio. The action of sphingomyelinase in lipid monolayers as revealed by microscopic image analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1798(7): 1309-1323, 2010.

ENLACES

- Advanced Imaging and Bio-Informatics Initiative (AI-BI) www.aibi.cl
- Centro de Espermiogramas Digitales Asistidos por Internet (CEDAI SpA) www.cedai.cl
- Centro de Modelamiento Matemático (CMM) www.cmm.uchile.cl
- Centro de Patología Digital (CPD) www.microscopiavirtual.cl
- Image Processing Online (IPOL) www.ipol.im
- Instituto Milenio de Neurociencia Biomédica (BNI, Iniciativa Científica Milenio) www.bni.cl
- Laboratorio de Análisis de Imágenes Científicas (SCI-AN-Lab) www.scian.cl
- Laboratorio de Estudios Ontogénicos (LEO) www.ontogenesis.cl
- National Laboratory for High Performance Computing (NL-HPC) www.nlhpc.cl