

DISS. ETH No. 19559

Machine Learning Approaches for Neuron Geometry Extraction and Synapse Detection in Electron Microscopy Images

A dissertation submitted to
ETH ZURICH

for the degree of
DOCTOR OF SCIENCES

presented by
VERENA SABINE KAYNIG-FITTKAU
Dipl. Inf., University of Hamburg
born 29 September 1979
citizen of Germany

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Joachim M. Buhmann, examiner
Prof. Dr. Pascal Fua, co-examiner
Prof. Dr. Kevan Martin, co-examiner

2011

Abstract

In this thesis we investigate the whole image processing pipeline for neuronal geometry extraction and synapse detection in electron microscopy images. Advancements in automated sample preparation and image acquisition for electron microscopy enable recording of large data sets. This process is especially important for the field of computational neuroanatomy and connectomics, as the analysis of neuronal connections requires imaging of large volumes with a resolution sufficient for synapse detection. Manual processing of electron microscopy data is time-consuming and becoming the main bottleneck in gaining new insights into the functional structure of the brain. Automated processing of biological electron microscopy images is challenging due to the rich texture, low signal to noise ratio and the great variability of image characteristics depending on sample preparation and animal type. To enable quantitative evaluation of the data, the images are corrected against lens distortions, stitched, and aligned. Structures of interest are then segmented and grouped across serial sections to extract the 3d geometry. The proposed registration methods employ unsupervised approaches to identify artifact signals like non-linear distortions, cracks, or staining blurs. We demonstrate that identification of these signals leads to superior registration results compared to state-of-the-art methods. The distortion correction enables structure preserving mosaicing with sub-pixel precision. The non-linear distortion field is estimated from overlapping image areas and does not require special calibration samples.

To solve for correspondences between adjacent images we propose a non-linear warping with anomaly detection. Correspondences are not fixed beforehand, but estimated as latent variables in an expectation maximization framework, which assigns image anomalies to an outlier class. Our approaches to membrane segmentation and geometry extraction combine the output of a trained random forest classifier with biologically inspired smoothness constraints. We demonstrate that the proposed feature sets capture the relevant statistics with very little training data. Thus, the framework can be adapted to data sets of varying animal types and staining protocols with minimal effort. For the segmentation of thin elongated structure we propose a sub-modular binary energy term which enforces gap completion by good continuation. An additional term incorporates membrane detections from adjacent sections. The resulting energy function can be globally optimized using graph cut and significantly outperforms state-of-the-art segmentation using gradient flux. Geometry extraction requires grouping of the segmented regions to 3d objects. The output of a classifier trained for region similarity based on shape and texture features is combined with geometrical consistency constraints to obtain a weighted connectivity matrix. Agglomerative clustering is employed to find 3d groupings of correspondent regions. We demonstrate that our method yields fully automatic reconstructions of drosophila larva neurites over 30 sections. With respect to dense reconstruction and synapse classification the proposed framework can be employed for semi automatic processing, enabling the analysis of large data sets.

Zusammenfassung

Diese Dissertation behandelt den vollständigen Bildverarbeitungsprozess für die Geometrierekonstruktion von Neuronen und die Identifikation von Synapsen in Elektronenmikroskopiebildern. Durch die Fortschritte in der Elektronenmikroskopie im Bereich der automatischen Probenpräparation sowie der Bildaufnahme ist es möglich, große Datensätze zu erstellen. Diese Entwicklung ist besonders wichtig für den Bereich der rechnergestützten Neuroanatomie und der Analyse von Neuronennetzwerken. Die Analyse neuronaler Kontakte benötigt Bilddatensätze über große Volumina, deren Auflösung die Identifikation von Synapsen zulässt. Manuelle Verarbeitung von Elektronenmikroskopiedaten ist zeitaufwendig und stellt ein bedeutendes Hindernis für neue Einsichten in die funktionale Struktur des Gehirns dar. Durch die starke Texturierung der Bilder und ein geringes Signal-Rauschverhältnis sowie eine große Varianz in Bezug auf Bildcharakteristiken, abhängig von der Probenpräparation und der Tierart, ist die automatische Verarbeitung dieser Daten eine große Herausforderung. Die vorgeschlagenen Registrierungsmethoden verwenden unüberwachte Methoden, um Artefaktsignale wie nichtlineare Verzerrungen, Risse oder Färbungsflecken zu identifizieren. Wir zeigen, dass die Erkennung dieser Signale bessere Ergebnisse liefert, als aktuelle Vergleichsmethoden. Die Korrektur von Linsenverzerrungen ermöglicht die strukturerhaltende Montage von Bildern mit Subpixelpräzision. Hierzu wird das nichtlineare Verzerrungsfeld aus überlappenden Bildbereichen geschätzt, ohne auf speziellen Kalibrierungsproben zurückzugreifen. Zur

Lösung des Korrespondenzproblems zwischen benachbarten Bildern verwenden wir eine nichtlineare Registrierung, welche enthaltene Anomalien erkennt. Korrespondenzen werden nicht zuvor festgelegt, sondern während der Optimierung geschätzt. Unsere Methode verwendet Erwartungswertmaximierung, wobei Bildanomalien einer Ausreißerklasse zugewiesen werden. Für die Segmentierung von Membranen und die Extraktion von Geometrien kombinieren wir die Ausgabe eines trainierten Klassifikators mit biologisch inspirierten Glattheitsbeschränkungen. Wir zeigen, dass die vorgeschlagenen charakteristischen Merkmalsmengen die relevanten Statistiken mit einer geringen Menge von Trainingsdaten erfassen. Folglich kann das System für unterschiedliche Datensätze mit geringem Aufwand angepasst werden. Für die Segmentierung von dünnen, gerichteten Strukturen stellen wir einen submodularen, binären Energieterm vor, der Lücken nach dem Prinzip der guten Fortsetzung schließt. Ein weiterer Energieterm berücksichtigt Membranendetektionen von benachbarten Schichten. Die resultierende Energiefunktion kann durch Grafenzerlegung global optimiert werden und erzielt bessere Ergebnisse als aktuelle Segmentierungsmethoden, die das Gradientenfeld berücksichtigen. Für die Extraktion von Geometrien ist es notwendig segmentierter Regionen zu dreidimensionalen Objekten zu gruppieren. Hierzu kombinieren wir die Ausgabe eines Klassifikators, der auf der Grundlage von Form und Textur für die Erkennung von ähnlichen Regionen trainiert wurde, mit geometrischen Konsistenzbeschränkungen, um eine gewichtete Konnektivitätsmatrix zu erhalten. Hierarchische Gruppierung wird verwendet, um dreidimensionale Objekte bestehend aus korrespondierenden Regionen zu erhalten. Wir zeigen, dass unsere Methode die vollständig automatische Rekonstruktion von neuronalen Zellfortsätzen der *Drosophila* Larve über 30 Probenschnitte ermöglicht. In Bezug auf dichte Rekonstruktionen und die Klassifikation von Synapsen kann das vorgeschlagene Rahmenwerk dazu verwendet werden, Bilder halb automatisch zu verarbeiten und so die Annotierung großer Datensätze ermöglichen.