

Т. А. ШЕРЕМЕТЬЕВА, А. М. МАЛОВ, Г. Н. ФИЛИППОВ

ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ ОБЪЕКТОВ В МИКРОСКОПИИ

Представлен способ обработки медико-биологических изображений с помощью их преобразования по принципу сходства с образцом в пространстве признаков. Эффективность метода показана на примерах выделения объектов и вычисления их морфометрических и денситометрических характеристик на медицинских изображениях.

Ключевые слова: обработка изображений, медико-биологические изображения, морфометрические и денситометрические измерения, микроскопия.

Новые медицинские технологии, одной из которых является технология компьютерного анализа изображений, имеют исключительное значение в диагностике заболеваний, проведении гистологических и цитологических исследований, ведении электронного архива препаратов, результатов морфометрии и диагностики.

Основной причиной, тормозящей широкое применение автоматизации компьютерного анализа медицинских изображений в компьютерной микроскопии, является высокая вариабельность и слабая контрастность большинства таких изображений. По этой причине большинство существующих методов [1—3] обработки медицинских изображений направлено на повышение качества изображения для визуального восприятия и интерактивного способа выделения объектов интереса.

Для предварительной интерактивной обработки медицинских изображений предлагается использовать новый метод, основанный на преобразовании изображений по принципу сходства с образцом [4], который позволяет упростить и ускорить процесс выделения объектов.

Суть метода заключается в визуализации меры сходства с эталоном в пространстве признаков. Каждый пиксел обрабатываемого изображения с конкретными пространственными координатами обладает также координатами в пространстве признаков. В качестве признаков могут быть выбраны яркостные (по всем имеющимся каналам), текстурные и другие характеристики.

В результате подобной обработки получают изображение в градации серого, у которого яркость каждого пиксела характеризует его сходство с эталоном. Таким образом, получают „целенаправленное“ визуализированное изображение. Такое изображение позволяет исследователю достаточно просто под визуальным контролем, с использованием своего опыта и контекстной информации, выбрать пороговые ограничения для выделения объектов интереса. Благодаря сочетанию вычислительной мощности компьютера и знаниям исследователя использование такого алгоритма приводит к хорошим результатам.

Варьировать реализацию метода, адаптируя его к конкретной задаче, можно при помощи изменения пространства признаков, меры сходства и способа выбора эталона.

Изменение пространства признаков осуществляется изменением каналов, участвующих в синтезе итогового изображения. Дополнительные каналы могут быть получены как привлечением дополнительных измерений, так и на основе имеющихся каналов путем применения к ним известных морфологических фильтров [5].

Из множества существующих мер сходства в пространстве признаков могут быть использованы, например, такие как: евклидово расстояние в многомерном пространстве; максимальная абсолютная разность координат; угол между векторами; расстояние Махаланобиса.

Представленный интерактивный метод предварительной обработки медицинских изображений обладает следующими преимуществами:

— позволяет осуществлять визуализацию с использованием большого числа каналов, что, в частности, дает возможность проводить обработку многоспектральных изображений, полученных, например, с помощью электронного микроскопа в нескольких спектральных диапазонах;

— не требует проведения предварительной классификации;

— позволяет использовать контекстную информацию при выделении объектов интереса;

— позволяет обрабатывать множество изображений одного препарата, полученных при разных условиях;

— может быть легко адаптирован для решения конкретной задачи по обработке изображений в компьютерной микроскопии.

Рассмотренный метод внедрен в модернизированное программное обеспечение „ДиаМорф Объектив 1.6“ аппаратно-программного комплекса „ДиаМорф“, предназначенного для проведения гистологических и цитологических исследований [www.diamorph.ru].

Продемонстрируем возможности способа визуализации меры сходства с эталоном при выделении различных участков изображения на примере цветного изображения кожи (рис. 1, использовано изображение с сайта <http://www.wolf.ru>). На этом рисунке представлены *RGB*-составляющие исходного цветного изображения препарата, полученного из кожи человека, результат визуализации с использованием яркостных и текстурных признаков (рис. 1, *а*) и результаты выделения различных компонентов этого препарата (рис. 1, *б*, *в*). Видно, что без использования текстурных признаков выделить компонент, представленный на рис. 1, *в*, практически невозможно.

Исходное цветное изображение, разложенное на *RGB*-составляющие



Результаты выделения различных компонент

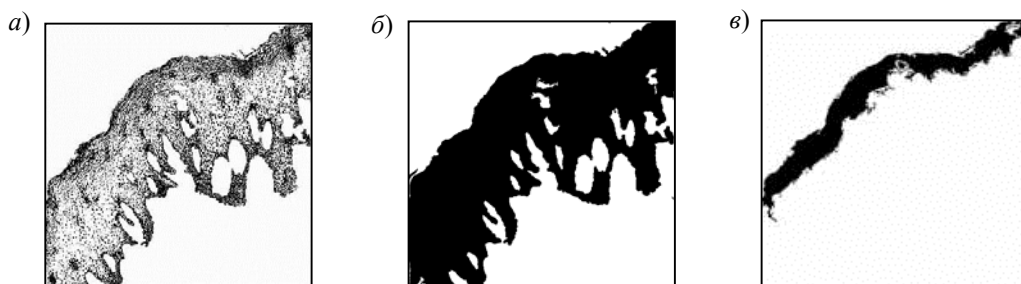


Рис. 1

Использование метода визуализации меры сходства программой „ДиаМорф Объектив 1.6“ позволило повысить достоверность обнаружения и увеличить точность измерений морфометрических параметров выделенных объектов.

Достоверность обнаружения обеспечивается возможностью использования всей доступной информации при целенаправленной визуализации. Точность морфометрических

измерений достигается за счет интерактивного выделения объектов, позволяющего исследователю использовать контекстную информацию.

В качестве морфометрических характеристик выделенных объектов в программе „ДиаМорф Объектив 1.6“ автоматически измеряются такие характеристики, как площадь, периметр; формфактор (ФФ); диаметр круга площадью, равной площади выделенного объекта; минимальный и максимальный размер; координаты „центра масс“; величина проекций на оси X и Y ; средняя интенсивность и оптическая плотность объектов.

Необходимость вычисления упомянутых выше характеристик обоснована потребностями медицины и биологии. Так, в работе [6] утверждается, что исходя из фундаментальных исследований, посвященных оценке более чем 196 качественных и количественных признаков ядра, клетки и общего фона препарата, наиболее значимы параметры, характеризующие морфологические особенности ядра. Например, с целью повышения диагностических возможностей цитологического метода при добро- и злокачественных опухолях молочной железы, при разработке прогностических критериев заболевания используются данные морфометрии и цитоспектрофотометрии. При объективизации цитологических препаратов исходят из информативности следующих признаков: диаметр, периметр и площадь ядра и цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое отношение. В работе [7] при диагностике папиллярного рака предлагается использовать такие характеристики ядер опухолевых клеток, как степень отличия от круглой формы, неровность контура ядерной мембраны, наличие в ядрах бороздок, наличие внутриядерных и цитоплазматических включений, ядерно-цитоплазматическое соотношение.

Для оценки формы объекта может быть использован такой морфометрический параметр, как ФФ, который определяется по формуле $4\pi S/P^2$, где S — площадь объекта, а P — его периметр. Хотя ФФ и является параметром, определяющим степень отличия фигуры от круга, этот параметр может быть использован как для оценки изменений формы в целом (при аппроксимации контура объекта гладкой кривой), так и для оценки локальных изменений границ объекта при обнаружении значительных неровностей границ.

Продемонстрируем способ оценки формы объекта на примере изображения, приведенного на рис. 2 (a — исходное изображение. Нормальные клетки (I и II) окружают апоптотизирующую клетку (III) с локальными изменениями границ (использовано изображение с сайта <<http://www.ccs.k12.in.us>>); b — преобразованное в бинарное изображение с выделенными объектами интереса). Нами были проведены измерения ФФ трех выделенных объектов, результаты которых приведены в таблице.

Объект	Площадь, пикселей	Периметр, у. е.	ФФ	ФФ _{ап}
I	11 692	525,91	0,50	0,97
II	11 881	562,98	0,46	0,98
III	14 881	687,31	0,39	0,75

Объекты I и II (рис. 2, a) визуально можно оценить как почти круглые. Но в силу того что их граница не является гладкой, значения ФФ оказались существенно занижены, что не позволяет судить о близости формы объектов к кругу по признаку ФФ.

Для разрешения данной проблемы предлагается вычислять ФФ_{ап} (аппроксимированный) с использованием сглаженного контура. Сглаженный контур может быть получен путем аппроксимации исходного контура сплайном, параметры которого могут регулироваться пользователем. Таким образом, становится возможным достичь визуального согласия с представлением специалиста об объекте измерения. В программе „ДиаМорф Объектив 1.6“ реализован алгоритм, в котором сглаженный контур получается путем аппроксимации исходного контура некоторым многоугольником, вершины которого лежат на исходном контуре. При этом максимальная длина сторон аппроксимирующего многоугольника определяется про-

центным отношением от значения минимального размера объекта. Это отношение принято равным 20 % от минимального размера объекта (определяется как ширина описывающего прямоугольника, ориентированного по основным осям инерции объекта).

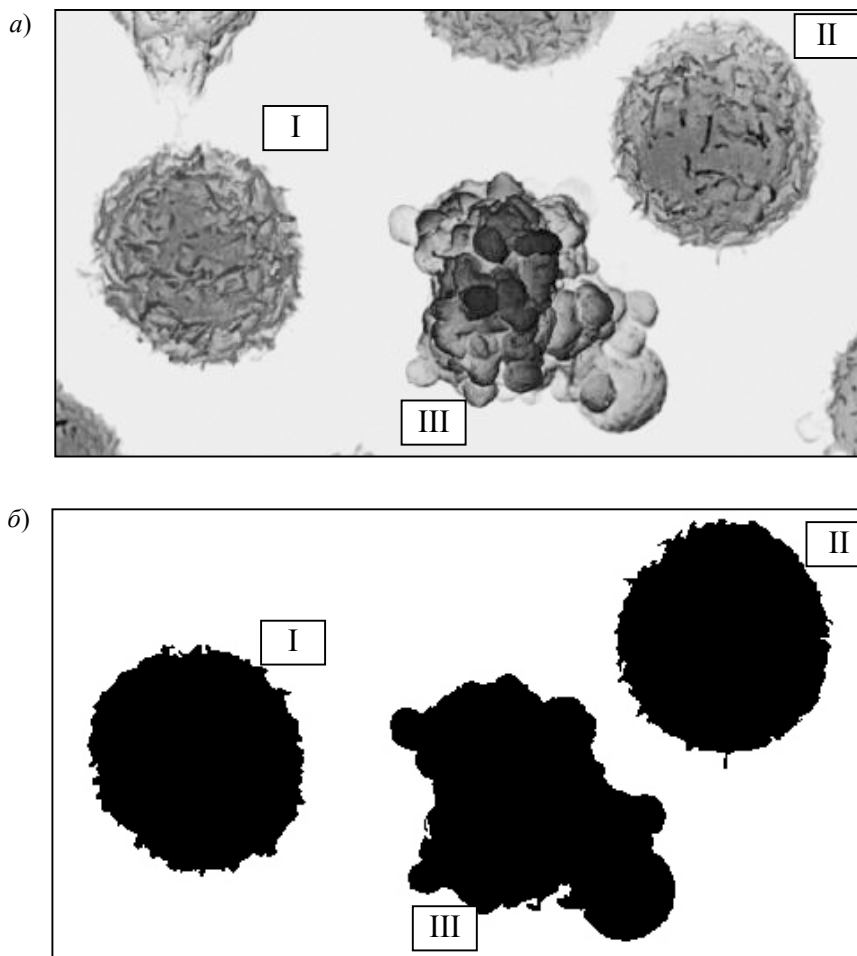


Рис. 2

Из таблицы видно, что для объектов I и II значение $\Phi\Phi_{ар}$ существенно возросло по сравнению со значением $\Phi\Phi$ и стало близким к единице, в то время как для объекта III значение $\Phi\Phi_{ар}$ увеличилось незначительно.

Результаты сравнения значений $\Phi\Phi$ и $\Phi\Phi_{ар}$ могут свидетельствовать о следующем:

— если значение $\Phi\Phi$ невелико, а значение $\Phi\Phi_{ар}$ существенно больше и близко к единице, то объект достаточно округлый, но имеет негладкую границу;

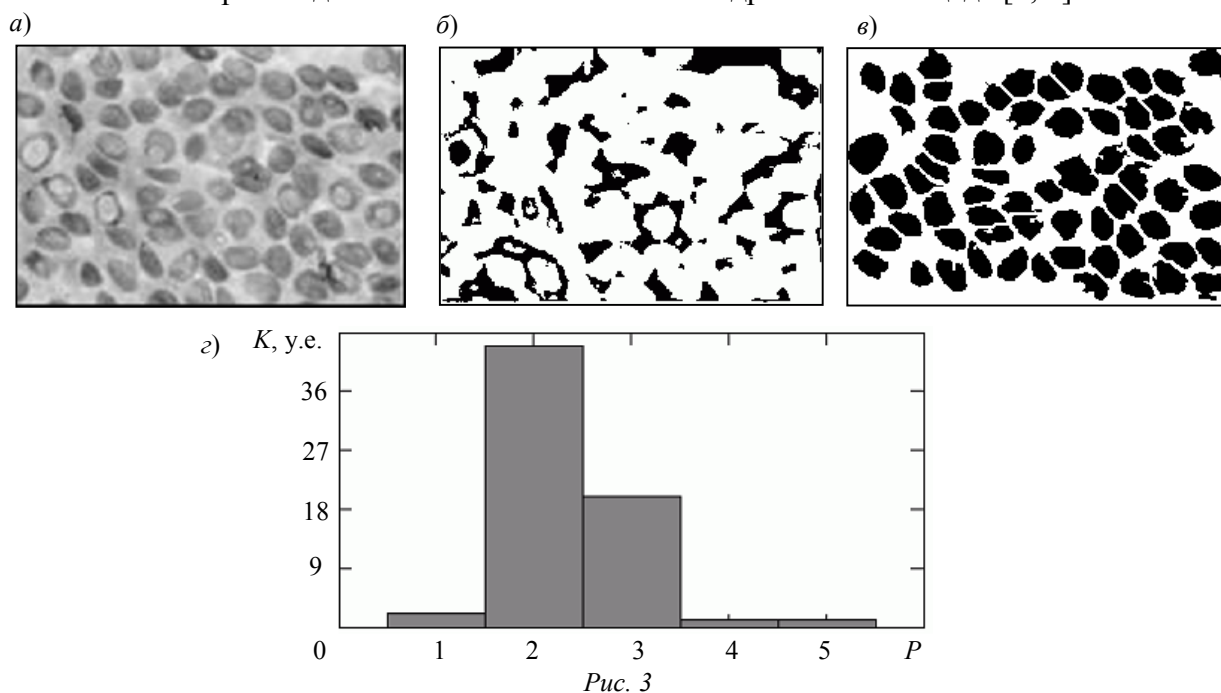
— если значение $\Phi\Phi$ невелико, а значение $\Phi\Phi_{ар}$ близко к $\Phi\Phi$, то объект не круглый, пузырчатый (в наличии признак "blebbing").

При проведении цитологических исследований анализ значений $\Phi\Phi$ и $\Phi\Phi_{ар}$ может оказаться полезным для выявления локальных изменений границ объекта.

Как было отмечено выше, помимо морфометрических параметров ПО „ДиаМорф Объектив 1.6“ позволяет вычислять и денситометрические параметры выделенных объектов, например, такие как оптическая плотность объекта. Данный параметр вычисляется как логарифм отношения средней интенсивности излучения/поглощения фона к средней интенсивности объекта. При проведении цитологических исследований на специальном образом подготовленном препарате полученные значения оптической плотности служат для определения плоидности ядра клетки — методики, перспективной для медицинской диагностики [8, 9].

На рис. 3 представлены результаты преобразования изображения для определения плоидности клеточных ядер (*a* — исходное цветное изображение препарата; *б* — бинарное

изображение с выделенными участками фона (фон обозначен черным цветом); *в* — бинарное изображение с выделенными ядрами (ядра обозначены черным цветом); *г* — гистограмма распределения клеточных ядер K по их плоидности P). При определении плоидности ядра для вычисления средней интенсивности излучения/поглощения фона производится интерактивное выделение областей, принадлежащих фону (рис. 3, *б*). По выделенным участкам подсчитывается значение средней интенсивности фона. Затем таким же образом производится выделение клеточных ядер (рис. 3, *в*) с последующим вычислением значений средней интенсивности и оптической плотности для каждого выделенного ядра. Плоидность ядра клетки вычисляется как произведение оптической плотности ядра на его площадь [8, 9].



Преимуществом способа, реализованного для вычисления плоидности ядра клетки, является более точное вычисление средней интенсивности фона за счет интерактивного его выделения с помощью описанного выше метода.

Заключение. Для предварительной интерактивной обработки изображений в компьютерной микроскопии предлагается использовать метод, основанный на преобразовании изображений по принципу сходства с образцом.

Использование метода позволяет повысить достоверность обнаружения и увеличить точность измерений морфометрических параметров выделенных объектов. Достоверность обнаружения обеспечивается возможностью использования всей доступной информации при целенаправленной визуализации. Точность морфометрических измерений достигается за счет интерактивного выделения объектов, позволяющего исследователю использовать контекстную информацию.

Эффективность метода обусловлена сочетанием вычислительной мощности компьютера с интеллектуальными возможностями человека. Метод пригоден для решения широкого круга задач в медицине и биологии и может быть легко адаптирован к конкретной задаче.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прэтт У. Цифровая обработка изображений. Т. 2. М.: Мир, 1982.
2. Шапиро Л., Стокман Дж. Компьютерное зрение. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006.
3. Попова Г. М., Степанов В. Н. Анализ и обработка изображений медико-биологических микробиологических объектов // Автоматика и телемеханика. 2004. № 1. С. 131—142.

4. Патент РФ № 2267232. Способ преобразования изображений / Т. А. Шереметьева, Г. Н. Филиппов. 2005. Б.И. № 36.
5. Филонов А. С., Гаврилко Д. Ю., Яминский И. В. Руководство пользователя пакета программного обеспечения для управления сканирующим зондовым микроскопом и обработки изображений „FemtoScan“. Версия 4.8. М.: Центр перспективных технологий. С. 90.
6. Брамберга Б. М., Зитаре И. Я., Плегере Д. П., Смитниекс Э. Х. Терминологический словарь морфологических признаков клетки для автоматизации цитологической диагностики и оценки эффективности лечения. Рига, 1970.
7. Кондратьева Т. Т., Павловская А. И., Врублевская Е. А. Морфологическая диагностика узловых образований щитовидной железы // Практическая онкология. 2007. Т. 8, № 1. С. 9—16.
8. Автандилов Г. Г. и др. Отчет о научно-исследовательской и опытно-конструкторской работе „Создание видеокомпьютерных средств анализа данных для медицинской диагностики и медикобиологических исследований“. М.: ОАО „ГФПК «Элита»“, 2002.
9. Автандилов Г. Г. Плоидометрия — новое диагностическое направление в патогистологических исследованиях // Мат. науч. конф. Тирасполь: РИО ПГУ, 2001. Вып. 3.

Сведения об авторах

- Татьяна Анатольевна Шереметьева** — канд. физ.-мат. наук; Научно-исследовательский институт комплексных испытаний оптико-электронных приборов и систем, Сосновый Бор, Ленинградская обл.; E-mail: tsher@niiki.ru
- Андрей Михайлович Малов** — аспирант; Санкт-Петербургский государственный университет информационных технологий, механики и оптики, кафедра компьютерной фотоники; E-mail: amalov@sbor.net
- Геннадий Николаевич Филиппов** — Научно-исследовательский институт комплексных испытаний оптико-электронных приборов и систем, Сосновый Бор, Ленинградская обл.; ведущий инженер; E-mail: tsher@niiki.ru

Рекомендована кафедрой
компьютерной фотоники

Поступила в редакцию
29.05.08 г.