

УДК 004.932.2

ТЕХНОЛОГИИ ЦИФРОВОЙ МИКРОСКОПИИ: МЕТОД ПОСТРОЕНИЯ ЛИНИЙ РАЗРЕЗА НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ КОНГЛОМЕРАТОВ КЛЕТОК

В. Г. Никитаев¹, Н. Н. Тупицын², А. Н. Проничев¹, В. В. Дмитриева¹,
Е. В. Поляков¹, А. Д. Самсонова¹, М. С. Григорьева^{1,3},
Е. А. Дружинина¹, А. Д. Палладина²

Статья посвящена технологии разделения конгломератов клеток лейкоцитов на изображениях препаратов костного мозга в цифровой микроскопии в световом диапазоне для определения количества клеток и автоматической постановки диагноза. Особенностью предложенного метода является использование принципа разделения конгломератов клеток на основании аномальных точек. Ключевые положения метода: определение контура конгломератов клеток, выявление аномальных точек, разрез изображения конгломерата клеток по биссектрисе угла, вершиной которого является аномальная точка. Определены параметры, обеспечивающие необходимую точность разделения конгломератов клеток. Под точностью здесь понимается доля правильно разделенных клеток на изображениях препаратов костного мозга по отношению к общему числу клеток на изображениях, использованных в эксперименте. Рассматривались изображения, содержащие конгломераты клеток, образующих цепочки. Проведенный эксперимент подтвердил эффективность предложенного метода. Точность разделения соприкасающихся клеток 95%.

Ключевые слова: распознавание изображений клеток крови, разделение соприкасающихся клеток, цифровая микроскопия.

¹ НИЯУ «МИФИ», 115409 Россия, Москва, Каширское ш., 31.

² Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина.

³ ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53.

Введение. В современных междисциплинарных задачах диагностики состояния объектов использование методов анализа биологических образцов в видимом диапазоне электромагнитного излучения позволяет выявить важные признаки онкологических заболеваний. Здесь необходим комплексный подход с применением физических, кибернетических, биологических и др. методов исследований.

В частности, при автоматизации диагностики острых лейкозов с применением компьютерной микроскопии возникает целый ряд проблемных вопросов, одним из которых является задача разделения соприкасающихся клеток на микроскопических изображениях костного мозга.

В рамках вышеуказанного направления используются различные подходы [1–10]. В публикациях на эту тему отсутствуют сведения о качестве выборки изображений препаратов костного мозга, что затрудняет сравнительные оценки предлагаемых методов и выбор метода для клинической практики. В нашей работе использовались препараты костного мозга, изготовленные в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н. Н. Блохина.

Целью настоящей работы является разработка метода разделения соприкасающихся клеток на изображениях препаратов костного мозга в цифровой микроскопии видимого диапазона электромагнитного излучения для компьютерного определения количества клеток и автоматической постановки диагноза.

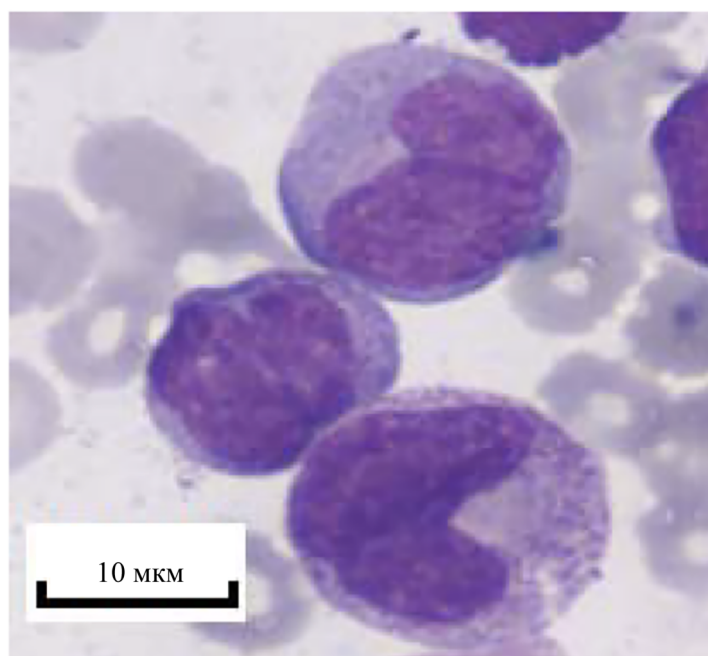


Рис. 1: Пример микроскопического изображения соприкасающихся лейкоцитов.

В данной работе используется понятие аномальной точки, под которой понимается точка (пиксель цифрового изображения) на границе между клеткой и фоном в месте пересечения контуров клеток, образующих конгломерат. Пример микроскопического изображения соприкасающихся лейкоцитов, образующих конгломерат, приведено на рис. 1.

В норме границы лейкоцитарных клеток не имеют острых углов, клетки обладают округлой формой или близкой к ней.

Предлагаемый метод реализуется с помощью следующих этапов.

Преобразование исходного цветного в полутонное изображение выполняется по формуле:

$$I(x, y) = 0.299 \cdot R(x, y) + 0.587 \cdot G(x, y) + 0.114B(x, y).$$

Здесь $I(x, y)$ – яркость цифрового изображения в градациях серого цвета в пикселе с координатами x, y ; $R(x, y)$, $G(x, y)$, $B(x, y)$ – яркости красной, зеленой и синей цветовых компонент в пикселе исходного изображения с координатами x, y .

Бинаризация полутонного изображения в черно-белое выполняется путем усреднения локальных максимумов, найденных по гистограмме (за исключением гистограммных пиков со значениями яркости 0 и 255).

Определение контура соприкасающихся клеток. На бинаризованном изображении программно выбирается произвольный пиксель на границе между фоном и объектом (граничная точка). Этот пиксель обозначается как стартовая точка контура и одновременно становится рассматриваемой точкой контура. Для поиска следующей точки контура определяется ближайшая к рассматриваемой точке контура граничная точка. Этот процесс продолжается пока формируемый контур не замкнется.

Выявление аномальных точек. Под аномальными точками контура понимаются точки, соответствующие пересечению границ клеток. В этих точках линия контура резко изменяет направление, образуя угол, “вогнутый” внутрь объекта. Пример аномальной точки T_0 представлен на рис. 2(а).

Все точки контура проверяются на аномальность. Это выполняется следующим образом. Для каждой точки контура устанавливаются две опорные точки, отстоящие от неё на некоторое заданное расстояние по контуру. На рис. 2(б) показаны две опорные точки T_1 и T_2 для точки T_0 . Расстояние от оцениваемой точки до опорных точек контура в примере на рис. 2(б) равно 20 пикселям. Через опорные и оцениваемую точки проводятся две прямые линии, пример таких линий для точки T_0 и соответствующих ей опорных точек T_1 и T_2 показан на рис. 2(в). Затем определяется угол между прямыми, проведенными из оцениваемой точки в опорные точки контура. Оцениваемая точка признается потенциально аномальной при условии, что острый угол, образованный построенными прямыми, находится в заданном диапазоне значений (напр., $< 90^\circ$), а середина отрезка, соединяющего опорные точки T_1 и T_2 принадлежит

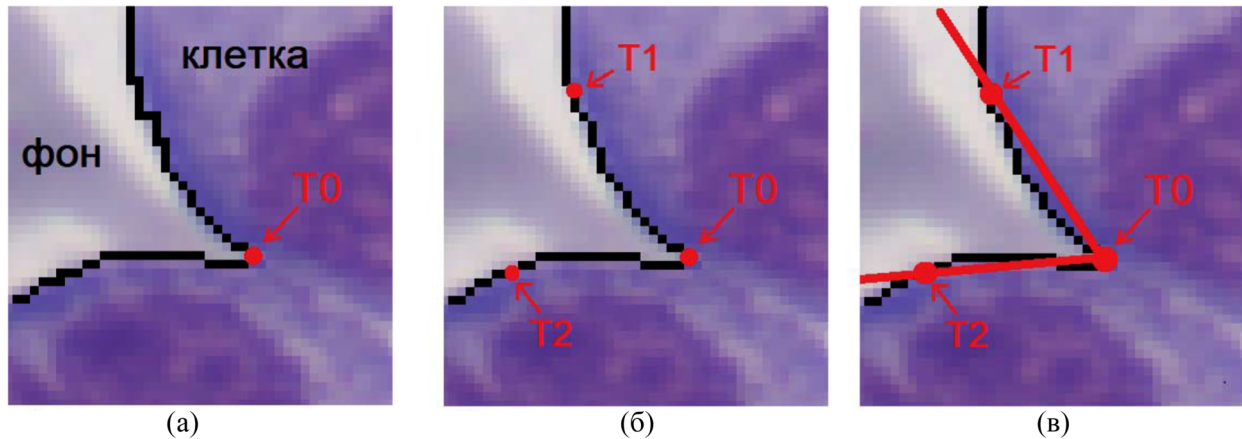


Рис. 2: Пример поиска аномальной точки. Пояснения в тексте.

области фона. Границы диапазона углов, соответствующих аномальным точкам, и расстояние от оцениваемой точки до опорных точек контура определяются по результатам экспериментов.

Выделение в скоплении потенциально аномальных точек одной аномальной. Найденные на предыдущем этапе потенциально аномальные точки образуют скопления, из которых необходимо выделить одну как вершину вогнутости контура. В качестве аномальной выбирается такая точка из скопления потенциально аномальных точек, которой соответствует наименьшее значение угла.

Разделение конгломерата соприкасающихся клеток производится на бинаризованном изображении по прямой линии, соединяющей противостоящие аномальные точки. На рис. 3(а) представлено бинаризованное изображение, соответствующее рис. 1. На рис. 3(б) показаны пары противостоящих аномальных точек – $T1$ и $T2$, $T3$ и $T4$, $T5$ и $T6$. С целью их нахождения последовательно рассматриваются все найденные на предыдущем этапе аномальные точки. Для рассматриваемой аномальной точки проводится линия по биссектрисе угла, найденного для рассматриваемой аномальной точки, в сторону клетки до первой точки фона. Процедура построения биссектрисы: строится отрезок между опорными точками, определяется точка середины отрезка, строится прямая (биссектриса), проходящая через рассматриваемую аномальную точку и точку середины отрезка. В окрестности точки пересечения биссектрисы с контуром ищется ближайшая по контуру аномальная точка, которая принимается как противостоящая рассматриваемой аномальной точке. При этом найденная противостоящая точка исключается из списка рассматриваемых аномальных точек. Линия, соединяющая найденную противостоящую аномальную точку с рассматриваемой аномальной точкой, является искомой линией разреза конгломерата. Результат разреза конгломерата клеток показан на рис. 3(в).

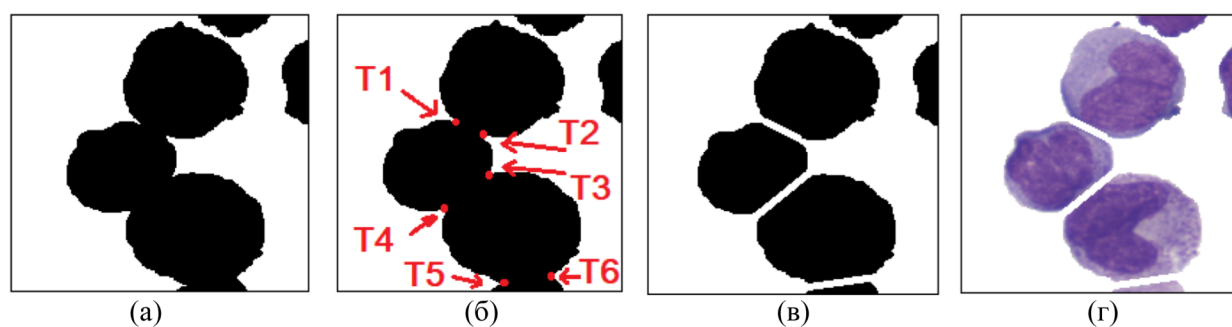


Рис. 3: Пример результата работы алгоритма разделения соприкасающихся клеток на цифровых изображениях препаратов костного мозга.

Выходное изображение формируется в результате выполнения вышеописанных операций. На заключительном этапе на исходное изображение в качестве шаблона накладывается бинаризованное изображение (пример на рис. 3(в)), “вырезая” отдельные клетки в конгломерате клеток. Пример результата работы алгоритма разделения соприкасающихся клеток на цифровых изображениях препаратов костного мозга представлен на рис. 3(г).

Экспериментальные исследования. В эксперименте оценивалась точность разделения лейкоцитов на изображениях препаратов костного мозга. Препараты были предоставлены Лабораторией гемопоэза Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н. Н. Блохина. Окраска препаратов проводилась по методу Май–Грюнвальд–Романовского. Исследования осуществлялись на роботизированном микроскопе Olympus BX43, оцифровка изображений – камерой Imrex IPX-4M15T-GCFB.

Съемка изображений клеток выполнялась серией из 200 и более кадров, представляющих непересекающиеся области на препарате, в каждом из кадров присутствовало от одной до 30 клеток.

Для поиска аномальных точек определены следующие параметры, обеспечивающие необходимую для клинической практики точность разделения конгломератов клеток:

- расстояние от оцениваемой точки до опорных точек контура 40 точек в каждую сторону;
- значение тангенса угла между прямыми из оцениваемой точки и опорными точками контура от 0.4 до 2.

Оценка точности разделения клеток выполнялась путем определения доли правильно разделенных клеток на изображениях препаратов костного мозга к общему числу клеток, использованных в эксперименте.

Экспериментальные изображения были представлены соприкасающимися клетками, выстраивающимися в линии. Выборка содержала свыше 90 изображений конгломератов клеток.

Итог эксперимента: удовлетворительное разделение клеток на изображениях препаратов костного мозга наблюдалось в 95% случаев.

Заключение. Предложен метод построения линий разреза на изображениях конгломератов клеток в цифровой микроскопии видимого диапазона электромагнитного излучения. Метод основан на поиске аномальных точек контура конгломерата клеток. Экспериментальная выборка содержала более 90 микроскопических изображений конгломератов клеток на препаратах костного мозга. По результатам эксперимента получена 95%-ая точность разделения конгломератов клеток, образующих линию.

Итоги проведенного исследования могут быть применены в междисциплинарных исследованиях (физических, медико-биологических, кибернетических и др.) в процессе создания компьютерных систем диагностики острых лейкозов и минимальной остаточной болезни.

Работа выполнена при поддержке РФФИ по проекту № 18-29-09115.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] K. G. Dhal, J. Gálvez, S. Ray, et al., *Multimedia Tools and Applications* **79**, 12227 (2020). DOI:10.1007/s11042-019-08417-z.
- [2] Е. В. Поляков, *Системный анализ и управление в биомедицинских системах* **17**(2), 407 (2018).
- [3] S. Mohapatra, D. Patra, S. Kumar, and S. Satpathy, *Biomedical Engineering Letters* **2**(2), 100 (2012). DOI: 10.1007/s13534-012-0056-9.
- [4] V. G. Nikitaev, E. V. Polyakov, I. I. Matveeva, and V. N. Blindar, *Journal of Physics: Conference Series* **798**(1), 012129 (2017). DOI:10.1088/1742-6596/798/1/012129.
- [5] L. Putzu and C. Di Ruberto, *International journal of medical, health, biomedical, bioengineering and Pharm.* **7**(1), 20 (2013). DOI: org/10.5281/zenodo.1327859.
- [6] Haichao Cao, Hong Liu, and Enmin Song, *Journal of Medical Systems* **43**, 82 (2019). DOI: 10.1007/s10916-019-1185-9.
- [7] L. Yang, O. Tuzel, P. Meer, and D. J. Foran, (2008) Automatic Image Analysis of Histopathology Specimens Using Concave Vertex Graph. In: D. Metaxas, L. Axel, G. Fichtinger, G. Székely. (eds) *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2008*. Lecture Notes in Computer Science, vol. 5241, pp. 833-841. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-85988-8_99.
- [8] Muhammad Farhan n, Olli Yi-Harja, AnttiNiemi. *Pattern Recognition* **46**(3), 741 (2013). DOI:org/10.1016/j.patcog.2012.09.008.
- [9] E. Cuevas, D. Oliva, M. Díaz, et al., *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. 2013. Article ID:395071, 15 pages. DOI: 10.1155/2013/395071.

- [10] S. H. Rezaiofighi and H. Soltanian-Zadeha, Computerized Medical Imaging and Graphics **35**(4), 333 (2011). DOI: [org/10.1016/j.compmedimag.2011.01.003](https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2011.01.003).

Поступила в редакцию 31 августа 2020 г.

После доработки 19 сентября 2020 г.

Принята к публикации 21 сентября 2020 г.