

УДК 621.391.837: 681.3

© Б. В. Бардин, В. В. Манойлов, И. В. Чубинский-Надеждин,
Е. К. Васильева, И. В. Заруцкий

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРОВ ЛОКАЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ ИХ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Рассмотрен метод определения размеров локальных объектов изображения, малых по сравнению с полным размером кадра. Первым шагом является поиск контура объекта. Размер объекта изображения может быть найден с помощью фурье-преобразования сигнатуры контура. Приведены экспериментальные результаты автоматизированного определения распределений размеров лейкоцитов на микроскопических изображениях. Данные свидетельствуют о возможности идентификации лимфоцитов и гранулоцитов.

Кл. сл.: цифровые изображения, размеры объектов изображений, сигнатура контура объекта, преобразование Фурье, распределение размеров лейкоцитов

ВВЕДЕНИЕ

Исследование ансамблей локальных объектов на регистрируемых цифровых изображениях является основой принципа действия некоторых современных аналитических приборов, например анализатора субпопуляций клеток [1]. Под локальными объектами здесь понимаются объекты, в данном случае микроскопические изображения клеток, геометрические размеры которых существенно меньше размеров полного кадра изображения. Задача начального этапа анализа заключается в различении и идентификации предварительно обнаруженных объектов [1] на основе совокупности нескольких параметров их изображений. Необходимо также отделить объекты от шумов и дефектов изображения. Эта задача решается путем математической обработки численных значений сигналов изображения, зарегистрированного в цифровой форме.

Параметры, на основании которых производится идентификация видеообъектов, можно разделить на три группы: а) геометрические параметры (например, размеры и форма); б) оптические параметры; в) структурные параметры. Объекты могут быть как однородными, так и имеющими внутреннюю структуру (рис. 1). Например, гранулоциты (одна из субпопуляций лейкоцитов крови) содержат внутри себя явно выраженные фрагменты — гранулы. Характеристики изображений клеток описываются следующим образом:

- 1) отношение сигнал / фон 0.1–0.5;
- 2) отношение сигнал / шум в пикселе — порядка 100;
- 3) размер объекта — от 5 до 20 мкм (от 3–

5 пикселей до 10–20 пикселей) при типичной разрешающей способности микрообъектива не хуже 1 мкм.

В большинстве рассматриваемых задач анализа из геометрических параметров для идентификации клеток используется только размер, погрешность определения которого не должна превышать 0.5–1 мкм. Объект представляется круглым, т. е. контур идеализированного объекта представляется окружностью. Для дальнейшего исследования необходимо определить также координаты центров объектов в пределах кадра изображения или уточнить результаты предварительного определения координат [1].

Геометрические параметры объекта полностью определяются его контуром. Оптические и структурные параметры также определяются внутри границ (контура) объекта. Поэтому измерение параметров, как правило, начинается с построения контура объекта.

ПОСТРОЕНИЕ КОНТУРА ОБЪЕКТА

Построение контура объекта играет важную, если не ключевую, роль в задачах распознавания изображений [2–4]. Однако, как отмечается в [4], "до сих пор нет сколько-нибудь удовлетворительной модели краев областей цифровых изображений, хотя она была бы очень полезна при построении оптимальных операторов обнаружения границ", поэтому большинство существующих подходов к решению данной задачи основывается на сугубо эвристических соображениях.

Построение контура основано на обнаружении перепадов яркости изображения на границе объекта,

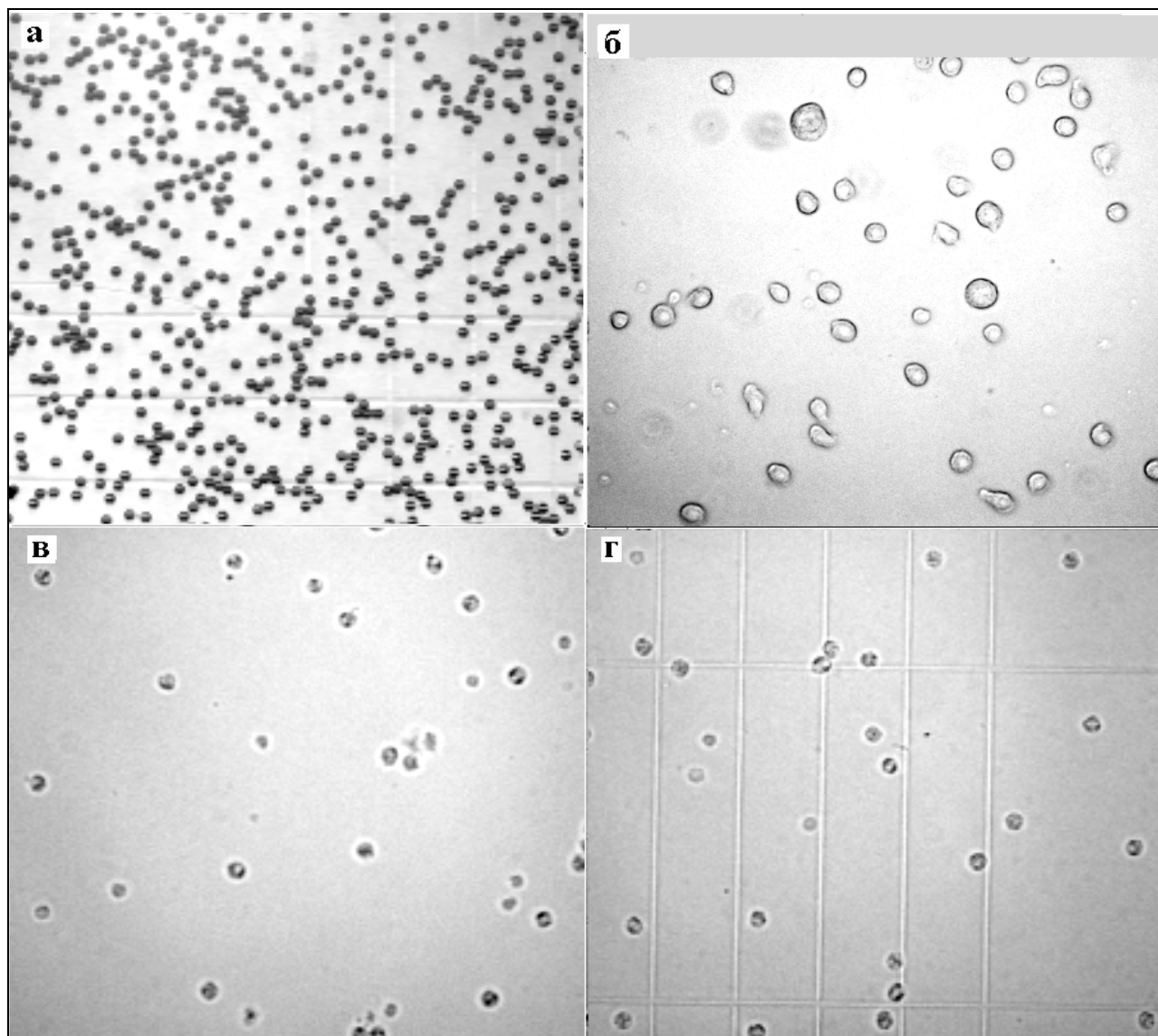


Рис. 1. Изображения объектов.

а — тестовые микросферы диаметром 6 мкм; б — суспензия относительно крупных клеток; в, г — суспензии клеток крови (лимфоцитов и гранулоцитов)

и все существующие методы решения данной задачи можно разделить на две группы. Методы первой группы используют для выявления перепадов видеосигнала различные операторы дифференцирования [2, 4]. Методы второй группы основаны на алгоритмах вычисления локальных гистограмм распределения видеосигнала в наборе (последовательности) окон — участков изображения, включающих точки контура [3, 4].

В интересующих нас задачах могут присутствовать подлежащие идентификации объекты малых размеров — от 3–5 пикселей в диаметре. Это исключает использование для построения контура методов второй группы в связи с совершенно не-

достаточной статистикой данных изображения.

Способ определения точки контура при помощи производной видеосигнала вдоль направления, пересекающего контур, иллюстрируется на рис. 2 и 3. На рис. 2 приведены профили видеосигнала для двух типов изображения объекта: а) одномерное изображение, как на рис. 1, а, и б) изображение объекта в виде кольца, как на рис. 1, б. Как видно, для объектов обоих типов точке контура соответствует максимум производной.

Поскольку рассматриваемые нами объекты являются выпуклыми, то подобный способ построения контура может быть реализован при

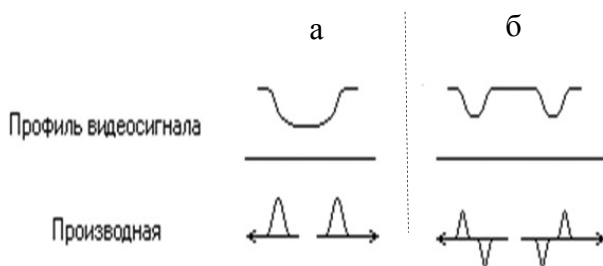


Рис. 2. Профили видеосигнала и его первой производной для двух типов изображения объекта.
а — для объектов типа рис. 1, а; б — для объектов в виде кольца, как на рис. 1, б

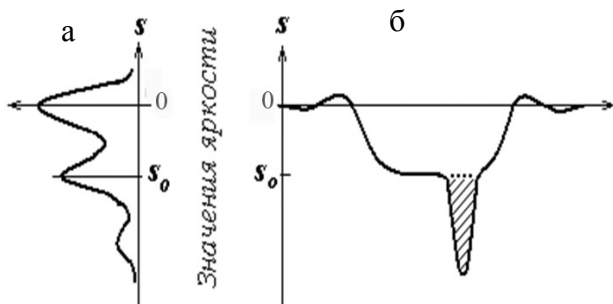


Рис. 4. Гистограмма яркости (а) и профиль сигнала яркости (б) гранулярного объекта

дифференцировании по радиусу в полярной системе координат с центром внутри объекта, как это показано на рис. 3. Здесь C — контур рассматриваемого в настоящий момент объекта; C_1 — контур соседнего объекта; θ_c — центр объекта; r_c — радиус объекта; θ_p — центр полярной системы координат; r — радиус точки контура в полярной системе координат. Развертка процесса по углу φ дает последовательность точек контура. В качестве начала координат θ_p может быть использована оценка координат центра объекта (x_o, y_o) , полученная на этапе обнаружения объектов [1].

Изображения объектов в интересующих нас за-

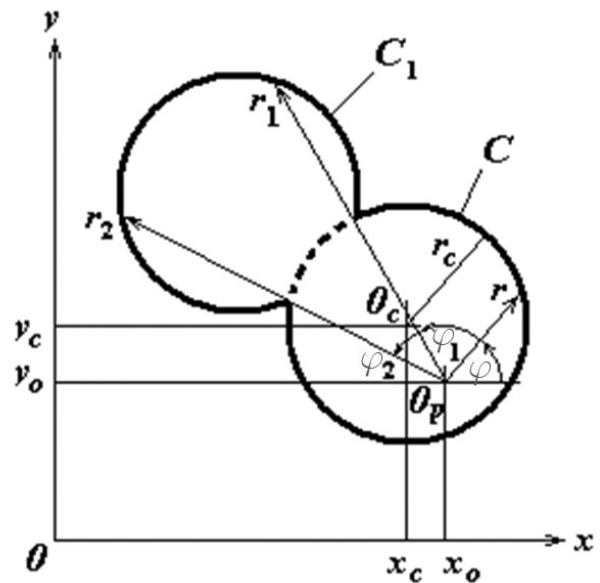


Рис. 3. Построение контура объекта при дифференцировании по радиусу в полярной системе координат (пояснения в тексте)

дачах могут иметь ряд особенностей, которые осложняют построение контура. Так, объекты пробы на рис. 1, б, имеют разрывы контура. Подобный же эффект разрыва контура возникает при слипании объектов, которое имеет место в пробе на рис. 1, а, и иллюстрируется пунктирной линией на рис. 3. Точнее, в этом случае получаются завышенные значения полярного радиуса ($r_1, \dots, r_2$) в диапазоне углов $\varphi_1 < \varphi < \varphi_2$. Отмеченные обстоятельства вызывают необходимость в процессе определения точек контура анализировать результаты расчетов на основе имеющейся априорной информации. Такой информацией является максимальный размер объектов, присутствующих в данном эксперименте. Поэтому, если величина полярного радиуса точки контура оказывается больше (с некоторым запасом), чем заданный максимальный диаметр, то этот результат необходимо браковать. Возникающие при этом разрывы контура требуется восстанавливать, например, способом линейной интерполяции r по φ .

Другая особенность рассматриваемых задач — объекты могут иметь малый размер — исключает применение сложных операторов дифференцирования для нахождения точек контура и вынуждает использование в качестве оценки производной первой разности видеосигнала.

Дополнительные трудности возникают при построении контура объекта со сложной структурой, обладающего гранулярностью. В этом случае про-

изводная видеосигнала внутри объекта, как правило, оказывается больше, чем на границе объекта (рис. 4, б). Для построения контура подобного объекта его изображение необходимо некоторым образом преобразовать с целью сглаживания гранул, не искажая при этом изображения границ. Для этого можно использовать априорную информацию, заключающуюся в том, что гранулы являются более темными, чем объект в целом. На рис. 4, а, приведена локальная гистограмма видеосигнала по области, включающей рассматриваемый объект. Здесь уровень 0 соответствует фоновой яркости изображения или нулю, если фон предварительно устранен. В соответствии с априорными представлениями уровень первого после фона максимума гистограммы s_o является уровнем яркости объекта. Приравняв к этому уровню значения сигнала, меньшие s_o (см. пунктирную линию на рис. 4, б), получим требуемое преобразование. Отметим, что при построении контура по изображению негранулированного объекта данное преобразование не приводит к ошибкам, поэтому его целесообразно всегда включать в общий алгоритм обработки, если в конкретном эксперименте присутствуют объекты разных типов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ОБЪЕКТОВ

Существуют мощные методы анализа контуров видеоизображений [4]. Однако они имеют разумный смысл только для приложений, где анализируются сложные контуры. В рассматриваемых нами задачах неискаженные контуры объектов являются выпуклыми, и применение таких методов является избыточным и нежелательным в связи с их трудоемкостью. В тех же случаях, когда выпуклость контуров реальных изображений нарушается, производится ее восстановление соответствующей обработкой, как изложено выше.

Математическим выражением для выпуклого контура в системе координат (φ, r) (см. рис. 3) является функция $r = f(\varphi)$, которая называется сигнатурой контура [2]. Сигнатуру можно исследовать стандартными методами математического анализа.

Для "идеального", круглого, объекта получение выражения для $r = f(\varphi)$ основывается на следующих уравнениях:

$$(x - x_c)^2 + (y - y_c)^2 = r_c^2 \quad \text{— уравнение окружности, и}$$

$$x = r \cdot \cos \varphi + x_o, \quad y = r \cdot \sin \varphi + y_o.$$

Обозначив $d_x = x_c - x_o$ и $d_y = y_c - y_o$, после обычных алгебраических и тригонометрических

преобразований получаем

$$r = (d_x \cdot \cos \varphi + d_y \cdot \sin \varphi) + \sqrt{(d_x \cdot \cos \varphi + d_y \cdot \sin \varphi)^2 - d_x^2 - d_y^2 + r_c^2}. \quad (1)$$

При малых значениях d_x/r_c и d_y/r_c выражение (1) принимает вид

$$r = r_c + (d_x \cdot \cos \varphi + d_y \cdot \sin \varphi). \quad (2)$$

Из выражения (2) видно, что при оговоренных условиях преобразование Фурье функции $r = f(\varphi)$ даст следующие результаты: нулевая гармоника — постоянная составляющая, представляет радиус объекта, а первая гармоника дает корректировку положения центра объекта, а именно: вещественная часть представляет корректировку по оси x , мнимая — по оси y .

При заметных исходных отклонениях положения центра объекта от истинного можно выполнить несколько итераций расчетов с последовательным уточнением положения центра. При этом в каждую итерацию целесообразно включать построение контура объекта заново, т. к. качество построения контура и особенно восстановления разрывов контура зависит от положения центра полярной системы координат. Последнее обусловлено тем, что при точном расположении центра системы координат в центре объекта достаточно отбраковывать только те точки контура, координата r которых больше максимального радиуса объекта, заданного априорно, а не двух радиусов (диаметра), как предусмотрено выше. Вместе с тем отметим, что процесс поиска и обнаружения объектов, предложенный в работе [1], дает достаточно точные положения центров объектов, и поэтому, как показали наши эксперименты с изображениями реальных объектов, для определения требуемых геометрических параметров оказывается вполне достаточным двух итераций расчетов.

Следует отметить, что, после того как найден контур объекта, искомые геометрические параметры можно получить функционально проще, чем изложено выше. Так, размер объекта можно определить как диаметр круга, равный по площади поверхности, ограниченной контуром, а центр объекта как центр тяжести этой поверхности. Однако вычисление одномерного преобразования Фурье небольшой размерности (в наших экспериментах 32 или 64 точки) менее трудоемко, чем вычисление площади и центра тяжести, и, кроме того, и это самое главное, преобразование Фурье сигнатуры контура дает дополнительные возможности для анализа и оценки результатов расчетов. Так, анализируемое изображение кроме исследуемых объектов и шумов может иметь посторонние детали. К примеру, на рис. 1, г, видны штрихи ко-

ординатной сетки камеры Горяева, которая используется для размещения анализируемого образца. При определенном сочетании фокусировки и параметров обнаружения отдельные участки штрихов координатной сетки могут ложно обнаруживаться как объекты. Тогда рассмотренная выше методика сформирует ложный вытянутый контур. Вытянут он будет на величину заданного априорно максимального размера. Нетрудно убедиться, что преобразование Фурье сигнатуры такого контура будет иметь большую величину 2-й гармоники. Это можно использовать для отбраковки ложных объектов. Аналогично выявление перекрестья штрихов координатной сетки как об-

екта приведет к большой величине 4-й гармоники, и т. п. В общем анализ фурье-спектра сигнатуры контура позволяет контролировать и идентифицировать форму объекта, в нашем же случае — отбраковывать ложные результаты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основе предложенных подходов были разработаны алгоритмы определения размеров локальных объектов цифровых изображений, реализованные в программном обеспечении детектора

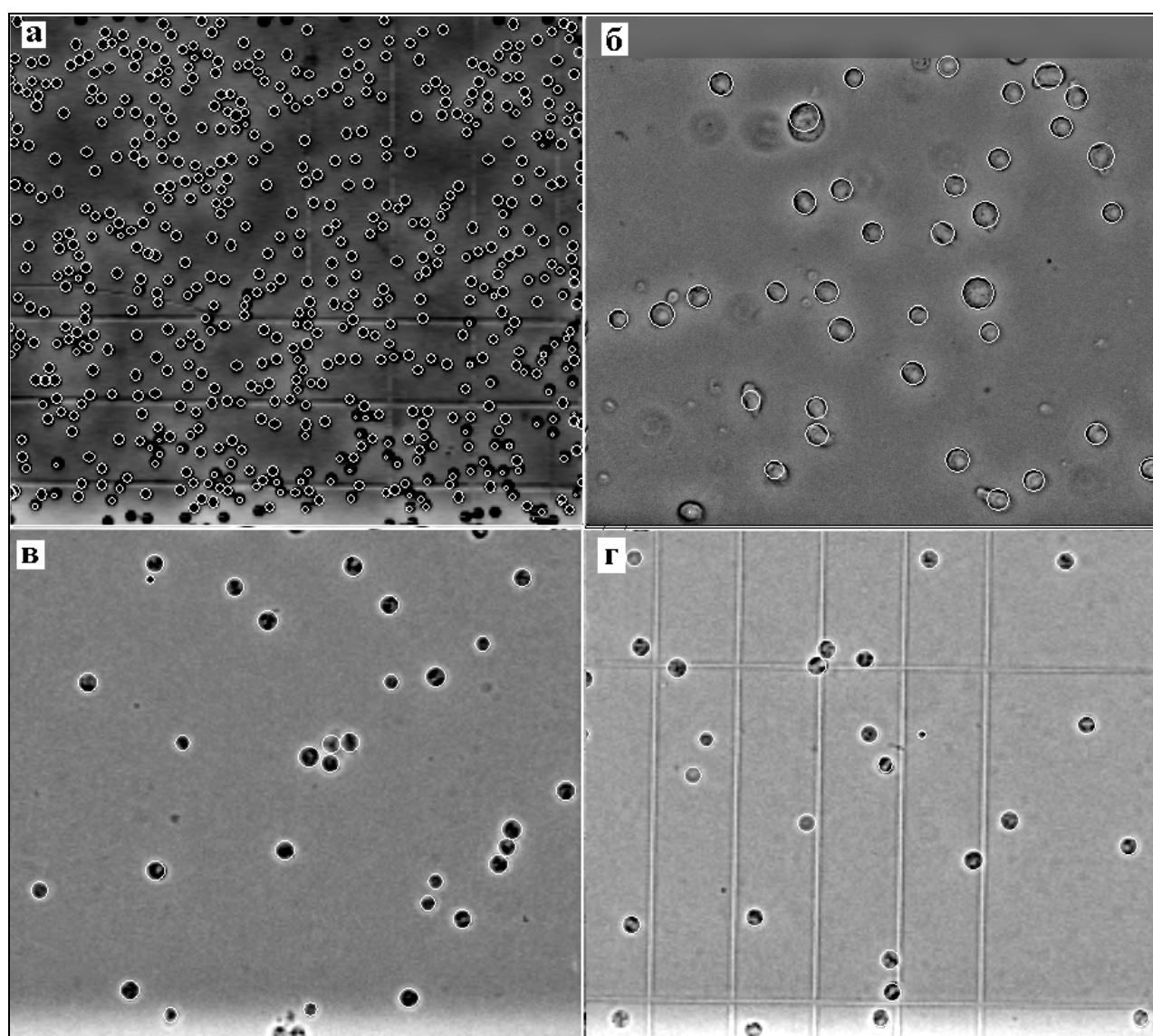


Рис. 5. Результаты определения контуров объектов, представленных на рис. 1

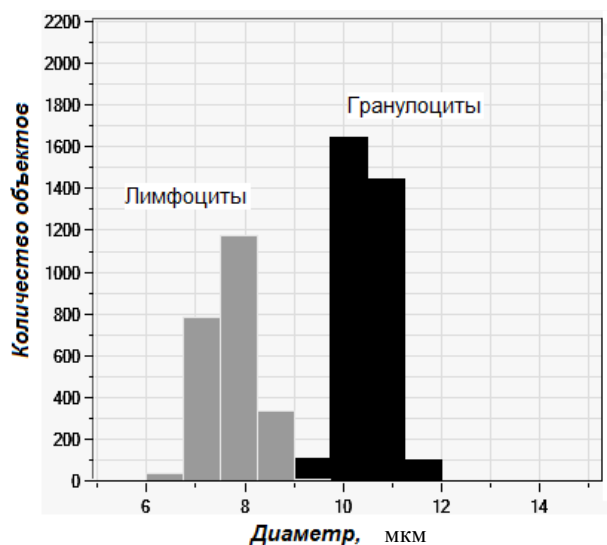


Рис. 6. Результаты определения размеров клеток крови в реальном образце

субпопуляций клеток. На рис. 5 отображены результаты определения контуров и координат объектов, приведенных на рис. 1. Они представлены белыми окружностями с диаметром, равным рассчитанному размеру объекта. Как видно из рисунка, размеры объектов и их положение вполне соответствуют реальным. Обработка экспериментальных данных анализов различных тестовых объектов (микросфер) фиксированного диаметра (6, 8.4, 11 мкм) показывает, что случайная составляющая погрешности (СКО) определения размеров не превышает 0.4 мкм.

На рис. 6 показано распределение размеров лейкоцитов реального образца крови, полученное на детекторе субпопуляций клеток. Средние значения диаметров клеток составляют соответственно 7.7 мкм (лимфоциты) и 10.4 мкм (гранулоциты). Видно, что эти две субпопуляции лейкоцитов

могут быть выделены и идентифицированы. Данные получены при обработке более 300 полей зрения, типа показанных на рис. 1, в, г.

Рассмотренные выше методы измерения размеров локальных видео-объектов в задачах аналитического приборостроения для медико-биологических исследований позволяют не только адекватно оценивать геометрические параметры и координаты, но также производить идентификацию объектов, идеализированный контур которых представляется окружностью. Достоинством рассмотренных методов является их универсальность для работы с различными объектами в биологии и медицине.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бардин Б.В., Чубинский-Надеждин И.В. Обнаружение локальных объектов на цифровых микроскопических изображениях // Научное приборостроение. 2009. Т. 19, № 4. С. 96–102.
2. Гонсалес Р., Вудс Р. Цифровая обработка изображений. Пер. с англ. М.: Техносфера, 2005. 1070 с.
3. Ярославский Л.П. Цифровая обработка сигналов в оптике и голографии. М.: Радио и связь, 1987. 296 с.
4. Фурман Я.А. и др. Введение в контурный анализ / Ред. Я.А. Фурман. М.: Физматлит, 2003. 592 с.

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург

Контакты: Манойлов Владимир Владимирович,
manoilov_vv@mail.ru

Материал поступил в редакцию 25.05.2010.

DETERMINATION OF SIZES OF LOCAL IMAGE OBJECTS FOR THEIR IDENTIFICATION

**B. V. Bardin, V. V. Manoylov, I. V. Chubinskiy-Nadezhdin,
E. K. Vasilyeva, I. V. Zarutskiy**

Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg

A method of determination of sizes of local image objects small in comparison with full image size is considered. The first step is search of an object contour. The size of an image object can be found by Fourier

transformation of contour signature. Experimental results of an automated determination of leukocyte size distribution on microscopic images are presented. The data show the possibility of identification of lymphocytes and granulocytes.

Keywords: digital imaging, size of image object, contour signature of an object, Fourier transform, leukocyte size distribution