

# ИССЛЕДОВАНИЕ АЛГОРИТМОВ РАЗДЕЛЕНИЯ СЛИВШИХСЯ ОБЪЕКТОВ

Лисица Е. В., Яцков Н. Н., Апанасович В. В. Апанасович Т. В.

Кафедра системного анализа и компьютерного моделирования, Белорусский государственный университет

Thomas Jefferson University, Jefferson Medical College

Минск, Республика Беларусь; Philadelphia, USA

E-mail: ylisitsa@gmail.com

*В работе выполнено исследование алгоритмов сегментации на основе водораздельного метода и многогранников Вороного для разделения слившихся ядер на этапе пороговой сегментации люминесцентных изображений.*

## ВВЕДЕНИЕ

В основе большинства методов исследований изображений срезов тканей и клеток лежит метод люминесцентной микроскопии [1]. В структуре клетки, цитоплазме или ядре, находится люминесцирующий на определенной длине волны биомаркер – белок связанный с изучаемым биологическим процессом. После возбуждения биомаркера регистрируется его интенсивность флуоресценции в цитоплазме и ядрах. Информативность и достоверность биомедицинских изображений определяются качеством подготовки и окрашивания биологических образцов, правильно выбранным набором экспериментальных условий регистрации изображений [2]. Для обработки биомедицинских изображений разработано множество специальных и универсальных алгоритмов, среди которых можно выделить пороговые, градиентные, водораздельные методы и методы, в основе которых лежит вычислительная геометрия [3]. Данная работа сфокусирована на конкретной проблеме – выборе наиболее эффективного метода для разделения слившихся объектов люминесцентных изображений. Целью работы является разработка метода для разделения слившихся объектов, получаемых в ходе сегментации трехканальных люминесцентных изображений, на основе метода водораздела и диаграмм Вороного.

## I. МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биологический образец – опухоль рака груди. Цитоплазма раковых клеток маркируется красителем Alexa Fluor 488 (Ипогл = 493 нм, Испл = 518 нм), ядра раковых клеток маркируются красителем Cyanine 5 (Cy5) (Ипогл = 654 нм, Испл = 673 нм), для маркировки всех ядер использовался краситель 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Ипогл = 358 нм, Испл = 461 нм). Изображения получены при помощи конфокального микроскопа компании Delta Vision Restoration, с использованием камеры Photometrix CH350L (500 kHz, 24-bit, 2048x2048 пикселей), диапазон возможных значений интенсивности от 0 до 255. В системе установлен микроскоп Nikon TE-2000, встроенный в Delta Vision System. Оптические

срезы тканей сняты последовательным фотографированием с шагом 0.5 мкм вдоль оси z с параметрами объектива - Nikon, Plan Fluor, NA 1.4. Флуоресценция регистрировалась стандартом Delta Vision для DAPI, FITC, TexasRed. Размер изображения составляет 2048 пикселей на 2048 пикселей в каждом из трех каналов, разрешающая способность: 5 пикселей на 1 мкм. На этапе предварительной обработки проводилась нормировка гистограммы интенсивностей пикселей в зависимости от времени облучения образца [4]. Пример синей компоненты изображения показан на рисунке 1А.

## II. ОПИСАНИЕ МЕТОДОВ

**Алгоритм сегментации.** В основе алгоритма сегментации лежит адаптивная пороговая сегментация объектов по синей компоненте исходного изображения (Рисунок 1А). В каждой области адаптивной сегментации пороговое значение строится по методу Оцу [5]. Детально работа алгоритма описана в работе [6]. После построения маски ядер на ней присутствуют слившиеся объекты (рисунок 1Б), для разделения которых могут быть использованы различные методы, однако наиболее оптимальными являются водораздельный метод и метод на основе диаграмм Вороного, или их комбинация [3].

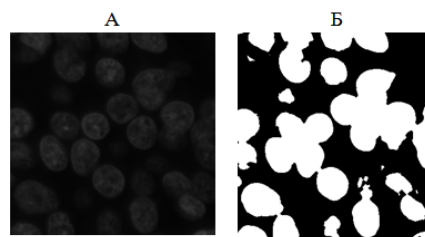


Рис. 1 – А) Синяя компонента изображения Б) Маска, полученная в результате пороговой сегментации.

**Водораздельный метод.** Изображение рассматривается как некоторая топологическая карта, где значения яркостей представляют собой значения высот относительно некоторого уровня. Если поверхность топологической местности заполнять водой, тогда образуются бас-

сейны. При дальнейшем заполнении водой бассейны объединяются. Места объединения бассейнов отмечаются как линии водораздела. Разделение соприкасающихся предметов на изображении является одной из важных задач обработки изображений. Часто для решения подобной задачи используется так называемый метод маркерного водораздела [8]. При преобразованиях с помощью данного метода необходимо определить "водосборные бассейны" и "линии водораздела" на изображении путем обработки локальных областей в зависимости от их яркостных характеристик. В работе в качестве изображения для построения яркостных характеристик используется синяя компонента исходного люминесцентного изображения. Пример сегментации изображения с использованием водораздельного метода показан на рисунке 2А [7].

**Метод на основе диаграмм Вороного.** Представляет собой такое разбиение конечного множества точек на изображении, при котором каждая область этого разбиения образует множество точек, более близких к одному из элементов исходного множества, чем к любому другому элементу множества. Для построения множества точек использовались локальные максимумы, найденные по синей компоненте исходного изображения. Пример сегментации методом на основе диаграмм Вороного представлен на рисунке 2Б [8].

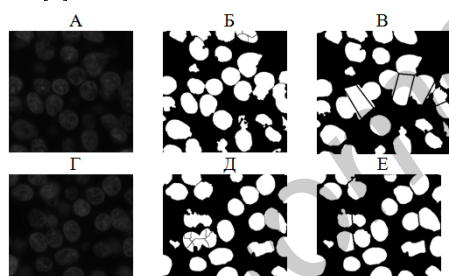


Рис. 2 – Пример разделения слившихся ядер. А,Г) Исходное изображение Б,Д) Разделение на основе водораздельного метода В,Е) Разделение диаграммами Вороного.

### III. РЕЗУЛЬТАТЫ

Для анализа точности локализации объектов в результате их разделения двумя методами произвольно выбраны 5 изображений. В таблице 1 показаны результаты сегментации для двух методов.

Таблица 1 – Результаты точности локализации. N – номер изображения, E1 – ошибка пропущенных ядер, E2 – ошибка чрезмерно разделенных ядер, E3 – ошибка слившихся ядер, E4 – ошибка ложно-сегментированных ядер.

	E1	E1	E2	E2	E3	E3	E4	E4
N	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
1	8,6	4,1	7,3	8,9	7,1	4,6	15,4	14,7
2	3,4	2,9	3,4	3,5	3,3	1,2	20,4	11,3
3	10,9	8,0	6,9	9,4	12,8	5,3	34,4	29,0
4	17,5	4,2	17,5	28,5	7,5	4,6	22,2	24,4
5	15,9	11,8	7,5	7,5	3,5	3,2	16,0	10,8
Ср.	11,3	6,2	8,5	11,5	6,8	3,78	21,7	18,4

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что метод на основе многогранников Вороного обладает повышенной устойчивостью к чрезмерной сегментации ядер и высоким качеством разделения слившихся ядер, чем водораздельный метод.

### IV. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Феофанов А. В. Спектральная лазерная сканирующая конфокальная микроскопия в биологических исследованиях. Успехи биологической химии. -2007. -№9. 47. -С. 371-410.
2. Ronneberger O., Baddeley D., Scheipl F., Verwee P. J., Burkhardt H., Cremer C., Fahrmeir L., Cremer T. and Joffe B. Spatial quantitative analysis of fluorescently labeled nuclear structures: Problems, methods, pitfalls// Chromosome Research. -2008. -№16. -С.523-562
3. Гонсалес Р., Вудс Р., Эддинс С. Обработка изображений в среде MATLAB. -М.: Техносфера. -2006. -616 с.
4. Е.В. Лисица, Н.Н. Яцков, Т.В. Апанасович, Х. Ри, В.В. Апанасович. Разработка метода оценки формы границ сегментированных объектов по люминесцентным изображениям живых клеток. Материалы конференции молодых учёных и студентов «Современные проблемы математики и вычислительной техники». Том 2. 2011 Брест.
5. Gonzalez R. C., Woods R. E., Eddins S. L. Digital Image Processing Using Matlab. / Gonzalez R. C., Woods R. E., Eddins S. L.: Pearson Education, 2004.
6. Otsu N. A. Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms // IEEE Trans. Sys. 1979. Т. 9, № 1. С. 62-66.
7. Lisitsa Y.U., Yatskou M.M., Apanasovich V.V., Rui H., Apanasovich T.V. Fully-automated segmentation of tumor nuclei in cancer tissue images// Proceedings of the 11th International Conference on Pattern Recognition and Information Processing. - 2011. - P. 116-120.
8. T. R. Jones. Voronoi-Based Segmentation of Cells on Image Manifolds. CVBIA 2005, pp.535-543.