

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Симчера В.М. Методы многомерного анализа статистических данных. – М.: Финансы и статистика, 2008. – 400 с.
2. Дюк В., Эмануэль В. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. – СПб.: Питер, 2003. – 528 с.
3. Шаропин К.А., Берестнева О.Г., Шкатова Г.И. Визуализация результатов экспериментальных исследований // Известия Томского политехнического университета. – 2010. – Т. 316. – № 5. – С. 172–176.
4. Берестнева О.Г., Пеккер Я.С., Шаропин К.А., Воловоденко В.А. Выявление скрытых закономерностей в медицинских и социально-психологических исследованиях // Аппликативные вычислительные системы: Труды II Междунар. конф. по аппликативным вычислительным системам. – г. Москва, 29–31 октября 2010. – М.: Институт Актуального образования «ЮрИнфоР-МГУ», 2010. – С. 287–296.
5. Шаропин К.А., Берестнева О.Г., Воловоденко В.А., Марухина О.В. Визуализация медицинских данных на базе пакета NovoSpark // Известия Южного федерального университета. Сер. Технические науки. – 2010. – Т. 109. – № 8. – С. 242–249.
6. Воловоденко В.А., Эйдензон Д.В. Визуализация и анализ многомерных данных с использованием пакета «NovoSparkVisualiz-  
er». 2008. URL: <http://www.tsu.ru/storage/iro/k020410/s4/s4.doc> (дата обращения: 25.11.2011).
7. Марухина О.В., Берестнева О.Г., Шаропин К.А., Осадчая И.А. Когнитивная графика в социально-психологических исследованиях // Информационные и математические технологии в науке и управлении: Труды XVI Байкальской Всерос. конф. – г. Иркутск, 2011. – С. 176–181.
8. Кривоногова Т.С., Желев В.А., Тропова Т.Е., Гергет О.М. Роль раннего комплекса оздоровительных мероприятий в охране здоровья матерей и их детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – Т. 54. – № 3. – С. 14–19.
9. Гергет О.М., Берестнева О.Г. Интеллектуальная система оценки состояния здоровья беременных женщин и детей // Информатика и системы управления. – 2010. – № 2. – С. 61–64.
10. Немеров Е.В., Языков К.Г. К вопросу изучения личностных свойств в психофизиологической реактивности больных бронхиальной астмой на аудиовизуальную стимуляцию // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2011. – Вып. 6 (108). – С. 134–137.

Поступила 06.04.2012 г.

УДК 004.9

## ОЦЕНИВАНИЕ СОСТАВА ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

М.С. Тарков, Н.В. Тихонов, В.Г. Половинкин

Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, г. Новосибирск  
E-mail: [tarkov@isp.nsc.ru](mailto:tarkov@isp.nsc.ru); [niknsk@list.ru](mailto:niknsk@list.ru); [pvg@isp.nsc.ru](mailto:pvg@isp.nsc.ru)

*Предложен метод оценивания состава изображений, основанный на применении полутоновой эрозии и дилатации, преобразования «верх шляпы» и последующей пороговой сегментации. Метод реализован в виде программного продукта и используется в рамках методики цейтраферной (замедленной) компьютерной видеосъемки микроскопических объектов, разработанной для изучения барьерных свойств мембран растительных клеток. Он позволяет оценить относительную площадь наблюдаемых объектов на изображении и может быть использован в различных приложениях, когда требуется определить скорость распада клеточных структур.*

### Ключевые слова:

*Оценивание состава изображений, клеточные препараты.*

### Key words:

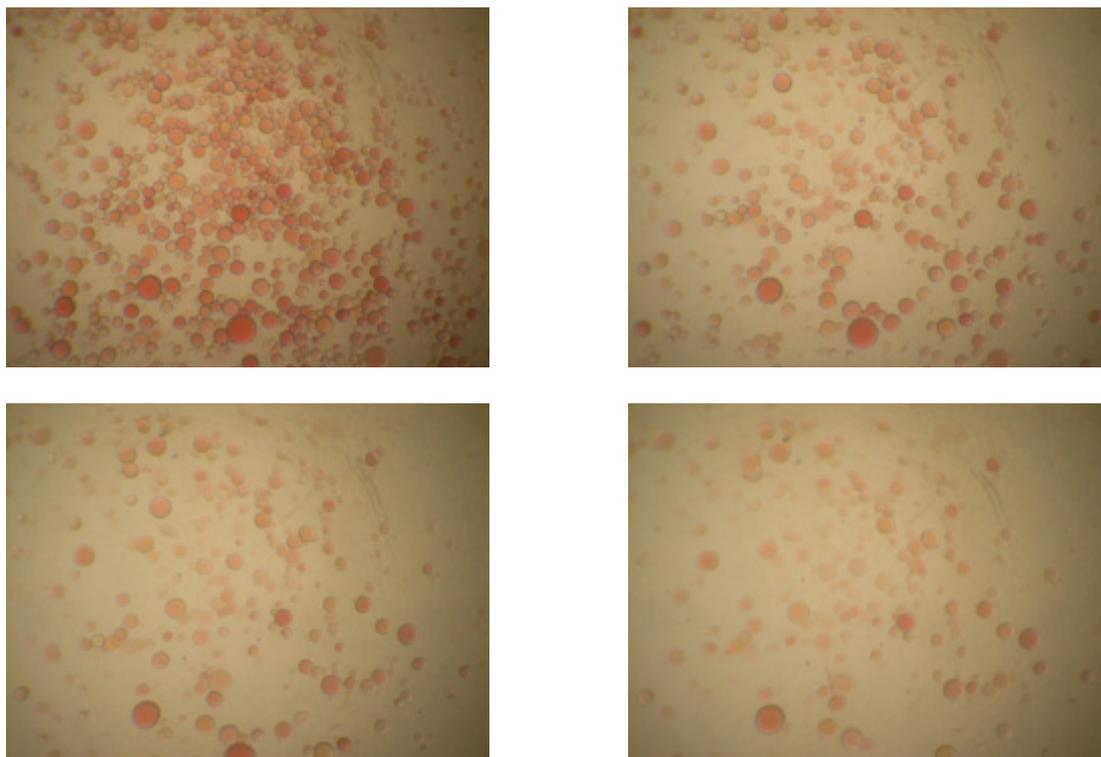
*Estimation of the image, cell preparations.*

### Введение

В настоящее время существует большое количество программных пакетов, предназначенных для анализа биомедицинских изображений, в том числе изображений цитологических препаратов [1, 2]. В то же время в используемых на практике программах анализ ряда характеристик клеток (периметр, площадь, количество) недостаточно автоматизирован. Данная работа ставит своей целью ликвидацию указанного недостатка существующих программных средств.

Изучение свойств мембран клеток в ответ на внешние воздействия – одна из ключевых задач современной биологии и медицины. Известно, что неблагоприятные условия окружающей среды со-

провожают нарушения устойчивости клеточных мембран и могут приводить к развитию различных форм стресса [3]. Вот почему важно иметь технологию для оперативной оценки барьерных свойств мембран. Один из подходов к такой оценке связан с анализом изображений клеточных препаратов. При неблагоприятных внешних воздействиях (стресс) происходит разрушение клеточных мембран и гибель клеток. В результате количество клеток на изображении уменьшается (рис. 1). По динамике изменения количества клеток на серии изображений, полученной цейтраферной (замедленной) компьютерной видеосъемкой (ЦКВ) [4], можно судить об устойчивости клеточных мембран к внешним воздействиям.



**Рис. 1.** Фрагмент последовательности изображений клеточного препарата, полученной центрифужной компьютерной видеосъемкой (разрешение съемки 1600×1200)

Известные методы автоматического анализа изображений клеточных структур [5, 6] дают хорошие результаты на препаратах крови, но сложны в применении к изображениям растительных клеток. Подсчет количества растительных клеток на изображении затруднен тем, что изображения клеток существенно перекрываются. Поэтому в данной работе в качестве приближенной количественной оценки состава изображения вычисляется относительная суммарная площадь, занимаемая клетками на изображении.

#### Метод количественного оценивания состава изображения

Предложенный ниже алгоритм выделения объектов на изображении (рис. 2, а) и оценивания его состава основан на использовании типовых операций обработки изображений [7, 8]. Алгоритм работает с монохромным изображением и включает следующие этапы:

1. Предварительная обработка (рис. 2, б). Включает медианную фильтрацию с последующим выравниванием гистограммы изображения и построением негативного изображения. Медианный фильтр заменяет значение пикселя на значение медианы распределения яркостей всех пикселей в окрестности, включая исходный. Медианная фильтрация используется для сглаживания изображения и удаления импульсных шумов.

Последующая эквализация гистограммы изображения позволяет расширить динамический ди-

апазон уровней яркости изображения, что обычно означает большую контрастность выходного изображения. Пусть  $p_r(r_j), j=1, \dots, L$  – гистограмма уровней яркости исходного изображения, тогда преобразование эквализации имеет вид

$$s_k = \sum_{j=1}^k p_r(r_j), \quad k=1, \dots, L,$$

где  $s_k$  – яркость обработанного изображения, соответствующая значению яркости  $r_k$  входного изображения.

2. Построение разомкнутого изображения (эрозия изображения с последующей дилатацией его) (рис. 2, в).

Полутонная дилатация изображения  $f$  по структурообразующему элементу  $b$  обозначается  $f \oplus b$  и определяется формулой

$$(f \oplus b)(x, y) =$$

$$= \max \{f(x - x', y - y') + b(x', y') \mid (x', y') \in D_b\},$$

где  $D_b$  обозначает область определения  $b$ , и предполагается, что  $f(x, y) = -\infty$  вне области определения  $f$ . На практике полутонная дилатация обычно выполняется с использованием плоских структурообразующих элементов, для которых  $b=0$  в каждой точке, принадлежащей  $D_b$ . В этом случае операция взятия максимума полностью определяется конфигурацией нулей и единиц двоичной матрицы  $D_b$ , а уравнения для полутонной дилатации принимают более простой вид:

$$(f \oplus b)(x, y) = \max \{f(x - x', y - y') \mid (x', y') \in D_b\}.$$

Таким образом, полутоновая дилатация является операцией взятия локального максимума, в которой максимум вычисляется по множеству пикселей окрестности, форма которой задается областью  $D_b$ .

Полутоновая эрозия изображения  $f$  по структурообразующему элементу  $b$  обозначается  $f \ominus b$  и определяется формулой:

$$(f \ominus b)(x, y) = \max \{f(x - x', y - y') - b(x', y') \mid (x', y') \in D_b\},$$

где предполагается, что  $f(x, y) = +\infty$  вне области определения  $f$ . Как и дилатация, полутоновая эрозия чаще всего использует плоские структурообразующие элементы. В этом случае уравнения для эрозии можно упростить и привести их к виду

$$(f \ominus b)(x, y) = \max \{f(x - x', y - y') \mid (x', y') \in D_b\},$$

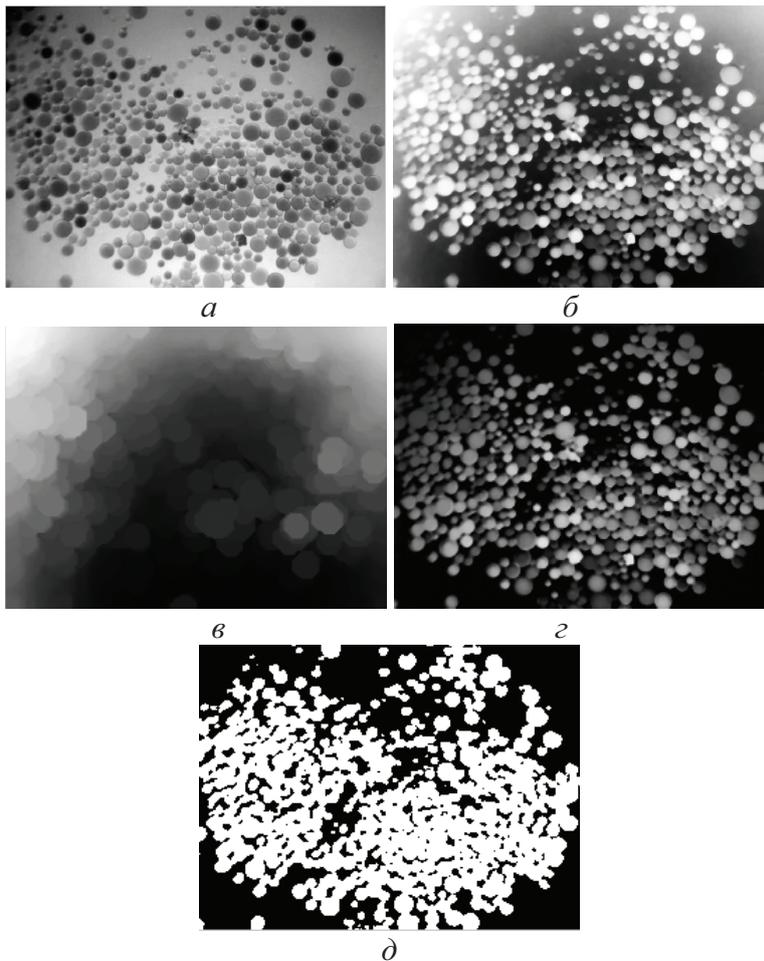
то есть полутоновая эрозия является операцией взятия локального минимума, где минимум берется по множеству пикселей окрестности, форма которой задается областью  $D_b$ .

Размыкание изображения  $f$  по элементу  $b$  обозначается  $f \circ b$  и определяется выражением

$$f \circ b = (f \ominus b) \oplus b.$$

Сначала выполняется эрозия  $f$  по  $b$ , за которой следует дилатация по  $b$ . Размыкание имеет простую геометрическую интерпретацию. Представим изображение  $f(x, y)$  в виде трехмерной поверхности, то есть значения яркости представляются высотами над координатной плоскостью. Тогда процесс размыкания  $f$  по  $b$  представляет собой перемещение (перекатывание) структурообразующего элемента строго под трехмерной поверхностью изображения  $f$ , причем поверхность размыкания получается как огибающая высшие точки, которые достигает этот элемент. В общем случае процедура размыкания используется для удаления узких всплесков яркости при сохранении среднего полутонового фона и широких областей изменения яркости относительно неизменными. В качестве структурообразующего элемента  $b$  использовался круг с радиусом 25 пикселей.

3. Преобразование «верх шляпы» (рис. 2, г), которое сводится к вычитанию разомкнутого изображения из изображения, представленного



**Рис. 2.** Алгоритм выделения клеток на изображении: а) исходное изображение; б) результат применения медианной фильтрации, эквализации гистограммы и дополнения; в) разомкнутое изображение; г) преобразование «верх шляпы»; д) результат пороговой обработки

на рис. 2, б. Результатом преобразования «верх шляпы» является изображение с выровненным фоном.

4. Пороговая сегментация изображения. Значение порога  $T$  подбирается экспериментально. Пороговое преобразование имеет вид

$$f_b(i, j) = \begin{cases} 1 & \text{при } f(x, y) \geq T, \\ 0 & \text{при } f(x, y) < T, \end{cases}$$

где  $f$  и  $f_b$  – исходное и результирующее бинарное изображение. В результате получаем бинарное изображение  $f_b$  (рис. 2, д, порог  $T=24$ ).

В качестве величины, характеризующей состав изображения, используется отношение

$$S = \frac{N}{|f_b|},$$

где  $N$  – количество пикселей переднего плана (т. е. тех пикселей, которым соответствует значение 1) бинарного изображения  $f_b$ ,  $|f_b|$  – число пикселей изображения  $f_b$ .

#### Программная реализация метода

Разработанный метод доведен до программного продукта и используется в рамках метода ЦКВ микроскопических объектов [4], разработанного для изучения барьерных свойств мембран. Он позволяет оценить относительную площадь наблюдаемых объектов на изображении (рис. 1). Программный продукт реализован в среде MATLAB [8] (программа CellsPro), а также в среде Visual Studio C++ с использованием процедур обработки изображений

библиотеки OpenCV [9, 10] (программа CellsProCV). Эксперименты показали, что переход от реализации предложенного метода в MATLAB к реализации его в Visual Studio C++ позволил сократить время обработки изображений в 6 раз. Время обработки одного изображения размером  $1600 \times 1200$  пикселей программой CellsProCV на процессоре Intel Pentium Dual-Core CPU E 52000, 2,5 ГГц составляет 37 с.

#### Заключение

Предложен простой метод оценивания состава изображений, основанный на применении полутоновой эрозии и дилатации, преобразования «верх шляпы» и последующей пороговой сегментации. Метод реализован в виде программного продукта и используется в рамках методики цейтраферной (замедленной) компьютерной видеосъемки микроскопических объектов, разработанной для изучения барьерных свойств мембран растительных клеток. Метод позволяет оценить относительную площадь наблюдаемых объектов на изображении и может быть использован в различных приложениях, когда требуется определить скорость распада клеточных структур. Разработанный метод апробирован на сериях изображений препаратов, полученных с помощью метода цейтраферной компьютерной видеосъемки, и оказался эффективным в медико-биологических исследованиях клеточных структур.

*Авторы выражают благодарность В.Н. Нурминскому за предоставленные изображения клеточных препаратов.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Программное обеспечение фирмы Micromed. 2012. URL: <http://www.micromed.ru/index15.htm> (дата обращения: 12.03.2012).
2. Тарков М.С., Полоз Т.Л., Полоз В.В. Нейросетевой анализатор изображений для цитологической диагностики фолликулярных опухолей щитовидной железы // Вестник Томского государственного университета. – 2006. – № 18. – С. 185–188.
3. Нурминский В.Н., Озолина Н.В., Нестеркина И.С., Колесникова Е.В., Корзун А.М., Чернышов М.Ю., Тихонов Н.В., Тарков М.С., Саяев Р.К. Стабильность вакуолярных мембран растений при осмотическом стрессе и воздействии редокс-агентов // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28. – № 3. – С. 224–229.
4. Нурминский В.Н., Корзун А.М., Розинов С.В., Саяев Р.К. Компьютерная цейтраферная видеосъемка фракции изолированных вакуолей // Биомедицинская химия. – 2004. – № 50 (Прилож. № 1). – С. 180–187.
5. Хлопов А.Н. Машинное зрение в задаче автоматического подсчета клеток крови человека // Электронный научный журнал «Исследовано в России». 2007. URL: <http://zhurnal.ape-re-larn.ru/articles/2007/167.pdf> (дата обращения: 12.03.2012).
6. Ковригин А.В. Применение принципов построения систем машинного зрения в задаче анализа изображений клеточных структур // Научный журнал КубГАУ. – 2007. – № 29 (5). 2007. URL: <http://ej.kubagro.ru/2007/05/pdf/03.pdf> (дата обращения: 12.03.2012).
7. Гонсалес Р., Вудс Р. Цифровая обработка изображений. – М.: Техносфера, 2005. – 1072 с.
8. Гонсалес Р., Вудс Р., Эдлинс С. Цифровая обработка изображений в среде MATLAB. – М.: Техносфера, 2006. – 616 с.
9. Bradski G., Kaehler A. Learning OpenCV. – O'Reilly Media, Inc., USA, 2008. – 576 p.
10. Библиотека программ обработки изображений OpenCV. 2012. URL: <http://sourceforge.net/projects/opencvlibrary/> (дата обращения: 12.03.2012).

*Поступила 12.03.2012 г.*