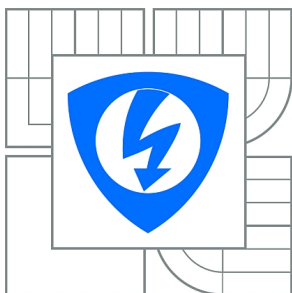


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ**

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

DETEKCE KREVNÍCH ELEMENTŮ

DETECTION OF BLOOD ELEMENTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

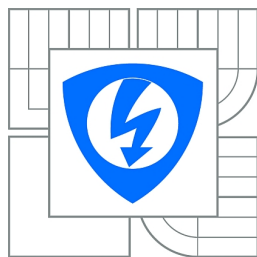
VÁCLAV KADLČEK

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. MARTIN LAMOŠ

BRNO 2012



**VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ**

**Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií**

Ústav biomedicínského inženýrství

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor

Biomedicínská technika a bioinformatika

Student: Václav Kadlček

ID: 125035

Ročník: 3

Akademický rok: 2011/2012

NÁZEV TÉMATU:

Detekce krevních elementů

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Seznamte se se základními metodami číslicového zpracování mikroskopických obrazů a zaměřte se zejména na předzpracování obrazových dat, následnou detekci a klasifikaci krevních elementů ve snímcích krevních nátěrů. 2) Dále se prakticky seznámte s prostředky, které poskytuje knihovna Image Processing Toolbox v prostředí MATLAB. 3) Navrhňte koncepci programu, který bude realizovat vybrané metody detekce a klasifikace jednotlivých krevních elementů. 4) Program realizujte v programovém prostředí MATLAB a ověřte jeho správnost. Program musí být vybaven grafickým uživatelským prostředím. 5) Provedte diskusi získaných výsledků a interpretně rozdílů výstupů u souměřitelných metod. 6) Dosažené výsledky porovnejte s výsledky metod používaných v praxi na pracovištích hematologie.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] JAN, J. Medical Image Processing, Reconstruction and Restoration: Concepts and Methods. Boca Raton, FL, USA : Taylor & Francis CRC Press, 2006.

[2] ZAPLATÍLEK, K.; DOŇAR, B. MATLAB - tvorba uživatelských aplikací. Praha : BEN - technická literatura, 2005.

Termín zadání: 6.2.2012

Termín odevzdání: 25.5.2012

Vedoucí práce: Ing. Martin Lamoš

Konzultanti bakalářské práce:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt

Práce se zabývá detekcí a následnou klasifikací krevních elementů. Krevní elementy jsou zde popsány z hlediska vlastností, které jsou využity při digitálním zpracování obrazu. Dále jsou rozebrány dostupné teorie předzpracování, analýzy obrazu a metody klasifikace. Získané poznatky jsou aplikovány v programovém prostředí MATLAB. V rámci tohoto programového prostředí je pilířem pro uvedenou práci Image Processing Toolbox. Součástí je i uživatelské rozhraní, čímž je komunikace s programem usnadněna. Program byl otestován na snímcích krevních nátěrů a dosažené výsledky zhodnoceny.

Klíčová slova

Krevní elementy, erytrocyty, leukocyty, digitální zpracování obrazu, detekce hrany, segmentace, prahování, watershed, eroze, klasifikace, grafické uživatelské rozhraní (GUI)

Abstract

Thesis deals with the detection and subsequent blood elements classification. Blood elements are described mainly in terms of optical features, that is used for digital image processing. Furthermore, available pre-processing theory, image analysis and methods of classification are discussed. Acquired knowledges are applied in MATLAB. Image Processing Toolbox is a pillar for that work within this programming environment. The program includes user interface, thus facilitating communication with the program. The program was tested on blood smear images and the results were evaluated.

Keywords

Blood elements, erythrocytes, leucocytes, DIP(digital image processing), edge detection, segmentation, treshhold, watershed, erosion, classification, GUI (Graphical User Interface)

KADLČEK, V. *Detekce krevních elementů: bakalářská práce*. Brno: FEKT VUT v Brně, 2012. 40 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Martin Lamoš.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci na téma Detekce krevních elementů jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením tohoto projektu jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 25. května 2012

.....
podpis autora

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu bakalářské práce Ing. Martinu Lamošovi za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce. Dále děkuji hematologickému oddělení fakultní nemocnice v Bohunicích v Brně za poskytnutí snímků krevních nátěrů.

V Brně dne 25. května 2012

.....
podpis autora

Obsah

Obsah.....	4
Seznam obrázků.....	5
Úvod.....	6
1 Krev	7
1.1 Krevní plazma.....	7
1.2 Vznik krevních elementů.....	7
1.3 Erytrocyt (červená krvinka).....	7
1.4 Leukocyt (bílá krvinka).....	8
1.4.1 Neutrofilní segment.....	8
1.4.2 Eozinofilní segment.....	8
1.4.3 Basofilní segment.....	9
1.4.4 Malý lymfocyt.....	9
1.4.5 Velký lymfocyt.....	9
1.4.6 Monocyt.....	10
1.5 Trombocyt (krevní destička).....	10
2 Předzpracování obrazu.....	12
2.1 Obraz.....	12
2.2 Mediánová filtrace.....	12
2.3 Zvýraznění obrazu.....	13
3 Analýza obrazu.....	14
3.1 Detekce hrany.....	14
3.2 Segmentace	15
3.2.1 Prahování.....	15
3.2.2 Segmentace založená na regionech.....	16
3.3 Morfologické operátory.....	17
3.3.1 Propojení elementů.....	17
3.3.2 Vyplňování děr.....	17
3.3.3 Odstranění hraničních objektů.....	18
3.3.4 Eroze.....	18
4 Klasifikace.....	18
4.1 Neuronové sítě.....	19
4.1.1 Asociativní paměti.....	19
4.1.2 Klasifikátory.....	19
4.1.3 Aproximátory.....	19
4.1.4 Neuronové sítě s učitelem a bez učitele.....	19
4.1.5 Jednotlivý neuron.....	20

4.2 Shluková analýza.....	20
5 Provedení v MATLABu.....	22
5.1 Detekce erytrocytů.....	22
5.1.1 Prahování.....	22
5.1.2 Watershed.....	22
5.1.3 Prahování s erozí.....	23
5.2 Leukocyty.....	23
5.2.1 Detekce.....	23
5.2.2 Klasifikace.....	23
5.3 Uživatelské rozhraní.....	25
6 Hodnocení.....	26
6.1 Erytrocyty.....	26
6.2 Leukocyty.....	28
6.2.1 Detekce.....	28
6.2.2 Klasifikace.....	29
Závěr.....	35
Použitá literatura.....	36
Seznam zkratk.....	37

Seznam obrázků

Obrázek 1 Ukázky krevních elementů	11
Obrázek 2 Transformační křivka.....	13
Obrázek 3 Propojení komponentů.....	17
Obrázek 4 Uživatelské rozhraní.....	25
Obrázek 5 Prahování.....	27
Obrázek 6 Watershed.....	27
Obrázek 7 Eroze.....	27
Obrázek 8 Detekce leukocytů.....	28
Obrázek 9 Úspěšnost klasifikace.....	30
Obrázek 10 Délky leukocytů.....	31
Obrázek 11 Šířky leukocytů.....	31
Obrázek 12 Plochy leukocytů.....	32
Obrázek 13 Střední intenzity leukocytů.....	32
Obrázek 10 Délky leukocytů.....	33
Obrázek 11 Šířky leukocytů.....	33
Obrázek 12 Plochy leukocytů.....	34
Obrázek 13 Střední intenzity leukocytů.....	34

Úvod

Vyšetření krevního obrazu patří k základním vyšetřovacím metodám v hematologii. V současné době se žádná hematologická laboratoř již neobejde bez automatizace těchto rutinních vyšetření. V medicíně je však proces automatizace stížen skutečností, že každý pacient je originál a tudíž každý biologický prvek nabývá různých hodnot (například rozměrů, intenzity), o to obtížněji lze pro něj najít standardní kritéria. Zatím se ve zdravotnických zařízeních osvědčily přístroje, které analyzují buňky podle fyzikálních vlastností (optických, impedančních). V této práci se budu zabývat detekcí krevních elementů z mikroskopických nátěrů, respektive z jejich fotografií.

Práce je členěna do šesti oddílů. První kapitola popisuje složení krve a podrobně se věnuje korpuskulární složce, která zahrnuje červené a bílé krvinky a krevní destičky. Uvedené charakteristiky poskytují medicínský znalostní podklad pro další kapitoly, které se věnují základům teorie zpracování digitálního obrazu s ohledem na jeho aplikaci při detekci a klasifikaci krevních elementů. Jedná se především o předzpracování a zpracování obrazu. Ve druhé kapitole je probráno předzpracování obrazu, které zahrnuje filtraci a zvýraznění obrazu. Zpracování obrazu se zabývá analýzou obrazu, která je aplikována na detekci. To je posáno v kapitole 3. Metody pro klasifikaci jsou uvedeny v kapitole 4. V 5. kapitole je zpracována praktická část, ve které je v programovém prostředí MATLAB použita zmíněná teorie na příkladu nalezení a rozlišení krevních elementů v krevním nátěru. V posledním díle jsou zhodnoceny dosažené výsledky detekce krevních elementů a klasifikace bílých krvinek.

1 Krev

Krev je základní tělní tekutina, která má červenou barvu a je neprůhledná. Dělí se na krevní plazmu a krevní elementy. [9]

1.1 Krevní plazma

Krevní plazma je světle žlutá tekutina. Skládá se z vody (80%), iontů a základních živin (proteiny, sacharidy a lipidy). Tvoří prostředí pro tyto krevní elementy: erytrocyt, leukocyt a trombocyt [9]

1.2 Vznik krevních elementů

Všechny krevní elementy, t.j. erytrocyty, leukocyty, trombocyty se tvoří v kostní dřeni. Mají společnou mateřskou bunku, což je pluripotentní kmenová buňka. Část kmenových buněk se podle potřeby diferencuje na progenitorové buňky, část zůstává kmenovými buňkami. Progenitorové buňky jsou schopny diferencovat se do jedné nebo více řad (například CFU-GEMM, CFU-E, CFU-GM). Pluripotentní a progenitorové kmenové buňky nelze morologicky rozpoznat (světelným mikroskopem), protože se podobají lymfocytům. Progenitorové buňky se dále vyvíjejí v prekurzorové buňky jednotlivých krevních řad (myeloblast, proerytroblast, megakaryoblast), které postupně dozrávají ve zralé krevní elementy. [8]

Dále jsou zde uvedeny krevní elementy, které se za fyziologických podmínek nacházejí v periferní krvi.

1.3 Erytrocyt (červená krvinka)

Tento krevní element není pravou eukaryotickou buňkou, protože nemá jádro. Nepřítomnost jádra u buněk obvykle znamená buď jejich evoluční nedokonalost, nebo vysoký stupeň specializace. V případě červené krvinky jde právě o její specializaci, její hlavní funkci, a tou je transport dýchacích plynů. Molekuly plynu se vážou na hemoglobin (červené krevní barvivo) a pro organismus je výhodné, aby se vyměnil co největší objem plynů.

Tyto krevní částice vykazují bikonkávní tvar. Je to proto, že jejich povrch je o 1/3 větší než koule stejného objemu. Když sečteme povrch všech červených krvinek, dostaneme 3820m². Za červenou barvu odpovídá krevní barvivo hemoglobin. Průměr erytrocytu činí přibližně 7,4, a tloušťka je 2,1 μm. Na 1mm³ krve připadá asi 5 milionů erytrocytů. Červená krvinka žije asi 120 dní. Tvorba červených krvinek, stejně jako všech ostatních krevních elementů, probíhá v kostní dřeni. Vznikají z původně nezralých velkých buněk, které mají jádro. [9]

1.4 Leukocyt (bílá krvinka)

Tyto patří mezi pravé buňky, neboť obsahují jádro. Dělíme je na granulocyty a agranulocyty.

Granulocyty mají segmentovaná jádra(segmenty), v základní cytoplazmě mají granule a podle barvitelnosti zrněk(granul) se dále rozdělují na neutrofilní, bazofilní a eozinofilní.

Mezi agranulocyty patří lymfocyty a monocyty.

Lymfocyty se dále dělí na T-lymfocyty a B-lymfocyty. T- jako Thymus (Brzlík – žláza s vnitřní sekrecí, ve které se T-lymfocyty dotvářejí). B a T lymfocyty se nedají odlišit ve světelném mikroskopu, to dokáže jen flowcytometr, v minulosti se k odlišení B a T lymfocytů používaly barvení erytrocyty. T – lymfocyty vytvářeli kolem barvených krvinek růžice(rozety), které potom bylo možné počítat ve světelném mikroskopu. [7]

V krvi se za fyziologických okolností nachází 4 až 10 000 leukocytů na mm^3 a počet je proměnlivý během dne. Funkce bílých krvinek spočívá hlavně v obraně organismu proti infekci. Granulocyty a velké agranulocyty mají schopnost měnit svůj tvar pohybovat se a prostupovat stěnou vlásečnic. Tento jev se označuje jako měňavkovitý(ameboidní pohyb). S tím souvisí i fagocytóza. To znamená, že bílá krvinka je schopná svými výběžky obklopit a pohltnout cizorodou částici. [9]

Následují jednotlivé druhy bílých krvinek, které se nalézají za fyziologických podmínek v periferní krvi.

1.4.1 Neutrofilní segment

Neutrofilní segment má jádro rozdělené na 2 – 5 částí (segmentů) spojených můstky (vlákny). Šířka spojovacích vláken nepřesahuje 1/3 největší šířky jádra, což je důležitým rozlišovacím znakem neutrofilního segmentu od neutrofilní tyče). Chromatin jádra je shluklý, hutný, seskupený v hručkách hlavně na obvodu jádra. Průměr této buňky se pohybuje od 10 do 14-ti μm . Základní cytoplazma této krvinky bývá obvykle růžová s jemnou nařezalovitou granulací. Je nejpočetnějším typem leukocytů v periferní krvi. Zastoupení v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek obvodové krve je 54 – 62%. Jejich počet se zvyšuje při bakteriálních onemocněních nebo po námaze. [7]

1.4.2 Eozinofilní segment

Eozinofilní segment je o něco větší než neutrofilní segment, v průměru 10 až 16 μm . Jádro je členěné na dvě části spojené nitkovitým můstkem, má tvar přesípacích hodin nebo brýlí. Chromatin jádra je o něco chudší než u neutrofilního segmentu. Cytoplazma je velmi světlá až bezbarvá, obsahuje eozinofilní granule, která se barví oranžově a při pohybu

v mikroskopu se žlutě lesknou. Zastoupení v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek periferní krve je 1 – 3%. Jejich počet se zvyšuje u kožních, alergických a parazitárních onemocnění. Eozinofilní leukocyty obsahují histaminové látky, které se uvolňují při jejich rozpadu a jsou příčinou některých kožních a celkových projevů alergických reakcí. [7]

1.4.3 Basofilní segment

Basofilní segment je menší než neutrofilní a eozinofilní granulocyty, v průměru měří 10 až 12 μm . Jádru je laločnaté, tvarem připomíná jetelový list, bývá překryto purporovými nebo modročernými granuly, tato granula jsou ve vodě rozpustná a mohou se při barvení nátěru vyplavit a cytoplazma má pak plástvaovitou strukturu. Cytoplazma je růžová se zvláštním hnědým odstínem. Zastoupení v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek periferní krve je 0,00 – 0,75%. Bazofilní segmenty obsahují histaminové látky a heparin, které mají různé biologické účinky a projevují se při alergických stavech. [7]

1.4.4 Malý lymfocyt

Tato buňka má poměrně velké kulaté, oválné nebo na jedné straně vpáčené zřídka ledvinovité jádro, které je jasně ohraničené od cytoplazmy. Nebývá uloženo přesně ve středu buňky, ale lehce excentricky, takže cytoplazmatický lem na okrajích je nestejně široký. Chromatin jádra je hutný a bohatý, většinou stočený v hustou spleť vláken a uzlů. Někdy nacházíme zřetelné hrudky chromatinu a jádro pak vyhlíží jako rozryté, svrnité a hrubě políčkovité. Jadérko bývá obvykle nečitelné. Cytoplazma je světle modrá, sklovitá a může se v ní vyskytovat menší počet azurofilních granul. Vytváří úzký lem kolem jádra takže je pro tento typ buňky nápadný velký nukleocytoplazmatický poměr. Rozměr malého lymfocytu se pohybuje mezi 8 a 10 μm , to znamená, že je jen o něco málo větší než erytrocyt, jak lze vidět na obrázku. [7]

1.4.5 Velký lymfocyt

Velký lymfocyt vykazuje obvykle kulaté jádro je kulaté, někdy může být i vkleslé, s řidším chromatinem, může obsahovat i dobře čitelná jadérka. Cytoplazma je bohatší, nukleocytoplazmatický poměr je nižší než u malého lymfocytu. V cytoplazmě se také může nalézat malé množství hrubších granulí. Buňka dosahuje velikosti 12 až 16 μm . Zastoupení velkých i malých lymfocytů v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek periferní krve je 20 – 51%. Množství lymfocytů se zvyšuje u virových infekcí. Produkci kostní dřeně a modifikací v thymu (brzlík – žláza s vnitřní sekrecí) vznikají tyto lymfocyty B-lymfocyty, které mají na starosti specifickou protilátkovou imunitu, T-lymfocyty, které zodpovídají za specifickou buněčnou imunitu a NK-buňky kterým náleží funkce ve specifické buněčné a protinádorové imunitě. [7]

1.4.6 Monocyt

Jedná se o největší buňku v obvodové krvi, je většinou nepravidelného tvaru. Dosahuje velikosti 18 až 22 μm . Jádro je podkovovité, fazolovité, nebo laločnaté, někdy oválné, poměrně velké, uložené excentricky. Chromatin je řídký, vláknitý, uspořádaný do stuh. Stuhý tvoří síťovitá oka s uzlovitými zesílenými až hrudkami. Někdy se kříží se a tvoří „hvězdičky“. Zesílení chromatinu nejsou tak hrubá a zřetelná jako u lymfocytu. Cytoplazma je bohatá, šedomodrá, nebo kouřově zbarvená. Může obsahovat vakuoly. Někdy obsahuje spoustu jemných azurofilních granul uložených nestjnoměrně v podobě jemného poprašku. Na rozdíl od azurofilních granul v lymfocytech jsou tato zrnka lehce nafialovělá. Okraj cytoplazmy bývá nepravidelný, místy jako vykousaný. V monocytech je možné někdy pozorovat fygocytované částice. Zastoupení v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek periferní krve je 1,7 až 11%. V počátečním stádiu infekce se nejdříve zvyšuje počet monocytů až poté elevují ostatní druhy bílých krvinek. Monocyt patří mezi makrofágy. Chrání organismus proti mikroorganismům, odstraňují staré a poškozené buňky. [7]

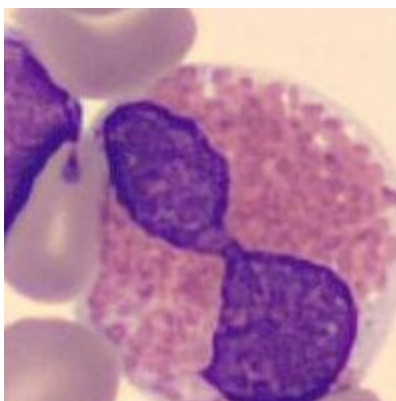
1.5 Trombocyt (krevní destička)

Krevní destička je tělíčko o velikosti 2 až 5 μm . V krvi se jich vyskytuje 200 až 300 tisíc v 1mm^3 krve. Jsou nezbytné pro zástavu krvácení. Vznikají odštěpováním cytoplazmy megakaryocytu. [7]

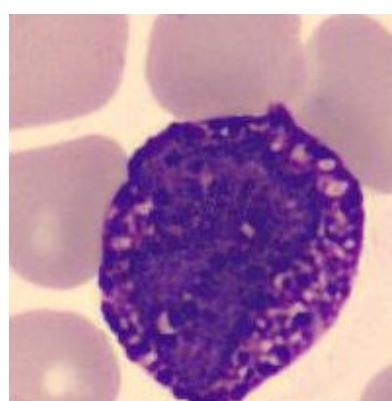
Při detekci analyzátozem může dojít k tzv. Pseudotrombocytopenii, což je falešné snížení počtu trombocytů stanovený in vitro hematologickým analyzátozem, který neodpovídá skutečnému počtu trombocytů v krvi. V přítomnosti protisrážlivého činidla EDTA dochází k odhalení skrytých epitopů na trombocytu, které reagují s protilátkami typu IgG, IgM nebo cirkulujícími imunokomplexy. Výsledkem je destičkový satelitismus, kdy analyzátoz tyto destičky vůbec „nevidí“ nebo jsou to shluky trombocytů, což znamená, že analyzátoz je zahrne mezi granulocyty. [11]



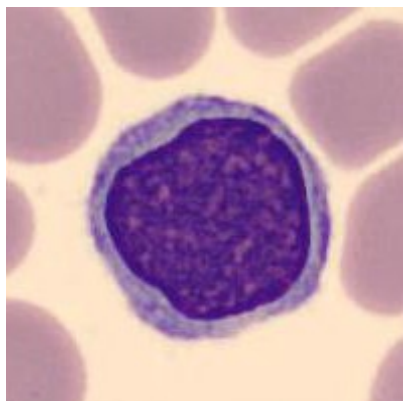
Obrázek: 1a



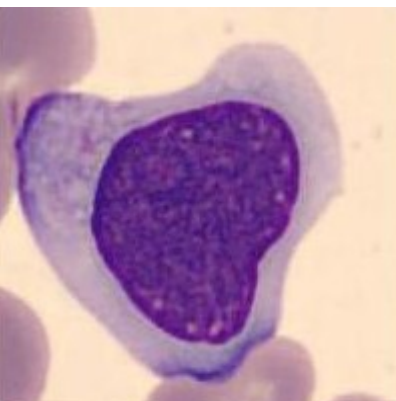
Obrázek: 1b



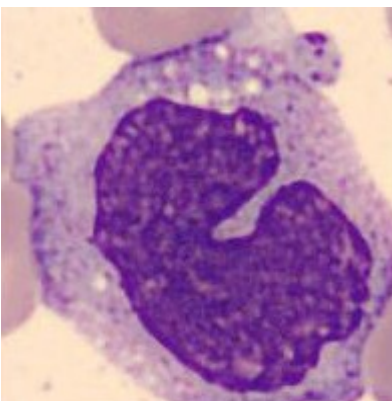
Obrázek: 1c



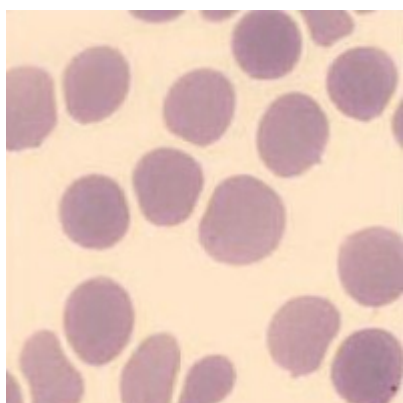
Obrázek: 1d



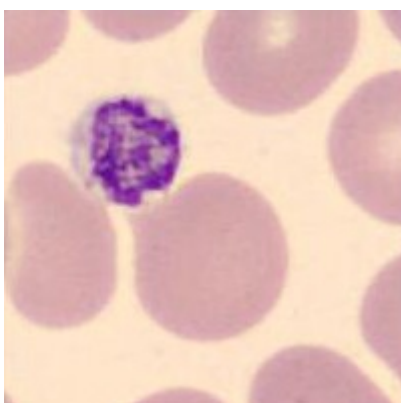
Obrázek: 1e



Obrázek: 1f



Obrázek: 1g



Obrázek: 1h

Obrázek 1: Ukázky krevních elementů: a) neutrofilní segment, b) eosinofilní segment, c) basofilní segment, d) malý lymfocyt, e) velký lymfocyt, f) monocyt, g) erythrocyty, h) trombocyt

2 Předzpracování obrazu

2.1 Obraz

Při počítačovém zpracování krevního obrazu se v této práci vychází z obecných postupů vypracovaných pro rozpoznávání obrazů reálného světa. Vstupní obraz je uvažován jako dvoudimenzionální signál definovaný funkcí dvou proměnných x, y . Tato funkce $f(x, y)$ je většinou interpretována jako prostorově proměnný jas nebo stupeň šedi, kde x, y určují pozici v obrazu. Barevný obraz je reprezentovaný vektorovou funkcí se třemi barevnými složkami (R -červená, G -zelená, B -modrá) [1]

$$f(x, y) = [f_R(x, y), f_G(x, y), f_B(x, y)]^T. \quad (1)$$

V medicíně se barva používá většinou jen k vyjádření kontrastu, ale u krevního obrazu může sloužit přímo k odlišení druhů bílých krvinek. Při zpracování obrazu používáme dvourozměrnou Furierovu transformaci FT, která převede zobrazení z originální roviny (x, y) do roviny prostorových kmitočtů (u, v) . Pro počítačové zpracování obrazu musí být obraz digitalizován, což znamená diskretizace dvou druhů, prostorové vzorkování a amplitudové kvantování. Digitální obraz je pak matice čísel popisujících obraz. Prvky obrazové matice se nazývají pixely. U obrazu ve škále šedi vyjadřuje hodnota pixelu úroveň intezity šedi. [1].

Po digitalizaci obrazu se musí obraz předzpracovat a dále pak rozdělit pomocí metod segmentace na oblasti, které nás zajímají z hlediska detekce krevních elementů.

U zpracovávaného obrazu je vhodné nejdříve předzpracováním obrazu potlačit šum a zkreslení, které vzniklo při pořízení a digitalizaci obrazu. K tomu lze použít filtrace, jež se dá realizovat různými způsoby. Pro naše účely se ukazuje jako vhodné použít mediánovou filtraci. Můžeme ale také zvýraznit určité podstatné rysy obrazu, např. hrany metodami pro detekci hran.

2.2 Mediánová filtrace

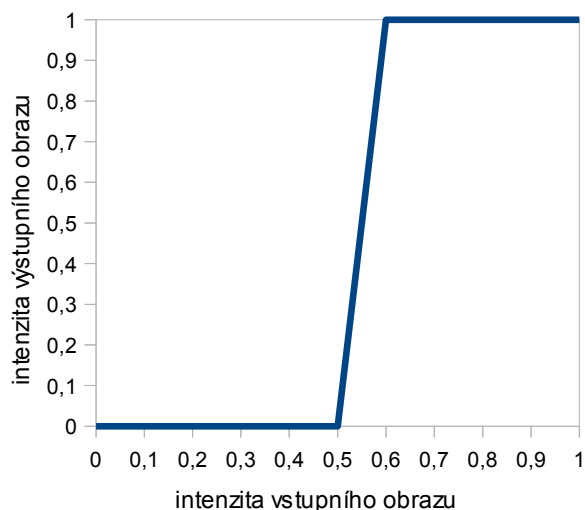
Obrazy, u kterých se bude provádět detekce, jsou datového formátu JPEG (Joint Photographic Experts Group). Tento formát vlivem ztrátové komprese vnáší do dat chyby. Některé metody analýzy mohou být na tyto chyby citlivé, a proto je vhodné využít při předzpracování dat mediánovou filtraci, jež odstraní přechody mezi oblastmi obrazu vzniklé při jeho kompresi (dělení na oblasti 8x8 pixelů pro kosinovou transformaci a redukce barev).

Mediánová filtrace je nelineární operace, která se obtížně analyzuje vzhledem k vlastnostem filtru, které jsou proměnné a závisí na konkrétních vstupních hodnotách v každém kroku. Mediánový filtr se používá pro potlačení šumu pepř a sůl kvůli jeho velmi dobré vlastnosti zachování ostrých hran, a tak nedojde k rozmazání, což je výrazný rozdíl

oproti lineárním vyhlazovacím filtrům. Mediánová filtrace úplně odstraní objekty z obrazu, které jsou menší než maska (tenké čáry), zatímco velké zůstávají nedotčeny. Bylo zjištěno, že objekty velikosti srovnatelné s maskou jsou chráněny lépe, když mají tvar podobný masce. I když metoda vypadá koncepčně jednoduše, tak náročný krok výpočtu je třídění, které musí být opakováno pro všechny pozice masky. Pro každou polohu masky se vytvoří uspořádaná posloupnost hodnot pixelů. Z této posloupnosti se vybere medián, to je pixel s hodnotou uprostřed posloupnosti. [1]

2.3 Zvýraznění obrazu

Zdůraznění obrazu stejně jako možnosti rozpoznání diagnostických rysů závisí výrazně na kontrastu obrazu. Takto zvýrazněný obraz může být lépe podroben rozpoznávání pro diagnostické informace. Transformace kontrastu je typicky bodová operace. Transformace kontrastu je nejčastěji izoplanární, to znamená, že stejná transformace je použita na všechny pixely. Tato funkce mapuje hodnoty f vstupního obrazu na nové hodnoty výstupního obrazu g . Takovým způsobem, že hodnoty intervalu intenzity pixelů vstupního obrazu mezi dolní a horní mezí se mapují do hodnot intenzity pixelů výstupního obrazu mezi dolní a horní mezí. To znamená, že intenzity výstupního obrazu jsou pod dolní a nad horní mezí odfiltrovány; to je hodnoty intenzity pixelů pod dolní mezí vstupního obrazu se mapují do hodnot intenzity pixelů výstupního obrazu. Existují různé tvary křivek, které jsou určeny veličinou γ , například když $\gamma = 1$, tak je průběh lineární. [3]



Obrázek. 2: Transformační křivka

3 Analýza obrazu

Je to metoda, jejíž výsledkem je popis obrazu, nikoli jeho změna. Analýzu lze provést na lokálních jednotlivých pixelech a jejich sousedech nebo na celých oblastech. Do analýzy patří segmentace obrazu, která ho rozděluje podle daných požadavků.[1]

3.1 Detekce hrany

Patří do lokální analýzy charakteristik. V předzpracovaném obraze zatím není žádná informace o objektech, které se v obraze nacházejí. Detekce hrany patří mezi nejdůležitější úrovně zpracování obrazu. Hrana je důležitá lokální vlastnost, která je určena pixely. Hrana v obraze je definována jako dostatečně důrazná a rychlá změna intenzity v blízkém okolí. Bohužel docela často jsou změny lokální intenzity způsobeny šumem, a tedy chybně detekovány jako hrany. Tyto mohou být následným procesem vyloučeny, přičemž na druhou stranu může být ztracena informace o hraně. Globální detekce hrany použitá na obraz poskytne parametrický binární obraz reprezentovaný bílými pixely představující hranu na černém pozadí. Většina detektorů hran je založena na diferenčních operátorech. Diferenční operátory jsou citlivé na šum v obraze. Ten může být částečně potlačen průměrováním, případně váhováním. Takový operátor je směrový. Rozhodnutí, zda pixel náleží hraně, je dáno srovnáním gradientu v daném místě s hodnotou zadanou. [1]

Pokud hranu definujeme jako velkou změnu jasové funkce, bude v místě hrany velká hodnota derivace jasové funkce. Maximální hodnota derivace bude ve směru kolmo na hranu. Existují metody, které jsou založeny na první nebo druhé derivaci. První derivace využívá průchodu funkce extrémem, přičemž druhá derivace sleduje průchod nulou. Ve druhém případě je detekce jednoznačnější. Kvůli jednoduššímu výpočtu se ale hrany detekují jen ve dvou, resp. ve čtyř směrech. Detekce je provedena prahováním. Výsledný obraz vstupního obrazu a masky je vytvořen pomocí konvoluce. [5]

3.1.1.1 Konvoluce

Patří mezi základní matematické operace, které se využívají při zpracování obrazu, tj. při zvýraznění hran nebo i při filtraci od šumu. Konvoluce dvou dvoudimenzionálních spojitých funkcí f a g je definována jako [1]

$$f(x, y) * g(x, y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(s, t) g(x-s, y-t) ds dt, \quad (2)$$

kde $g(x, y)$ je konvoluční jádro a platí pro prostorově variantní systémy.

Pro zpracování digitálního obrazu se využívá diskrétní konvoluce. Diskrétní konvoluce může být realizována přímo podle vzorce, kde výstupní obraz g je vyjádřen v závislosti na vstupním obraze f a na matici h lokálního operátoru[1]

$$g(i, k) = \sum_{m=-intL/2}^{L/2} \sum_{n=L/2}^{L/2} f(i-m, k-n) h(-m, -n) \quad , \quad (3)$$

což se týká izoplanárních systémů. Konvoluční jádro h může být tvořeno konvoluční maskou, která je obecně vyjádřena jako matice $L \times L$, ve které jsou souřadnice prvků značeny m, n . Konvoluce může být počítána i pomocí DFT, což je výhodné pro $L > 10$. [1]

Určité matice jsou označovány jako ustálené operátory. Mezi nejpoužívanější patří Robertsův operátor, Previttův operátor, Sobelův operátor, Robinsonův operátor, Kirschův operátor.

3.2 Segmentace

Je důležitá složka při analýze obrazu. Úkolem segmentace je rozdělit obraz na části, které odpovídají příslušným objektům v obraze. Konkrétní objekt je vymezen pixely o stejném indexu. V našem případě jde o detekci přítomnosti krevního elementu nebo jejich nalezení a detekce. Formálně konkrétní segmentace může být popsána jako rozdělení kompletní plochy obrazu R do množiny částečných oblastí (segmentů) $\{R1, R2, \dots, Rs\}$ které nemají žádný společný pixel. $R_i \cap R_j = \emptyset$, $i \neq j$ a kompletně pokrývají celou plochu obrazu.

$R = \cup_{i=1}^s R_i$ R_i neexistuje žádný jednotný přístup jak dosáhnout nejlepší segmentace, což je důsledek velké variability úloh v analýze obrazů. [1]

3.2.1 Prahování

Rozdělení úrovní šedi v obraze může pomoci určit práh pro převod obrazu do černobílé reprezentace objektů na pozadí. Jedná se o nejjednodušší metodu, která je založena na srovnání hodnoty šedi vůči stanovenému prahu. Hodnota, která je menší než práh, je přepsána na nulu, hodnota větší než práh, je přepsána na jedničku, takže vznikne binární obraz. Cílem je v tomto binárním obraze identifikovat objekty, o kterých víme, jaké vlastnosti mají splňovat (rozměry, tvar, struktura).

Při zpracování obrazu je důležité vybrat adekvátní práh úrovně šedi, tak aby se daly extrahovat objekty z jejich pozadí. Informace o počtu pixelů s konkrétní hodnotou šedi v obraze graficky popisuje histogram. Ten má v ideálním případě mezi dvěma vrcholy hluboké a ostré údolí. Pro většinu reálných obrazů je často těžké přesně detekovat údolí. Zvláště v případě, kdy údolí je ploché a široké. Existují metody, které tyto problémy řeší. Jsou to například metoda zostření údolí, která omezuje histogram na pixely s velkou absolutní

hodnotou derivace. Například Laplacian nebo gradient. Metoda diferenčního histogramu vybírá práh úrovně šedi pro maximální hodnotu difference. Tyto metody používají informace o sousedních pixelech nebo hranách k tomu, aby modifikovaly histogram tak, aby byl vhodný k prahování. Jiné metody využívají statistických postupů pro zpracování histogramu, který může být například aproximován metodou nejmenších čtverců pro Gaussovské rozdělení. V mnoha případech u těchto metod není vypočtena správná hodnota prahu. Metodou, která umí najít vhodný práh, je metoda Nobuyuki Otsu[4], která je schopná určit vhodnou hodnotu prahu bez dalších apriorních znalostí o obrazu. Tato metoda umožňuje automatický výběr prahu a je založena na analýze histogramu z hlediska teorie pravděpodobnosti výskytu tříd a středních hodnot. [1]

3.2.2 Segmentace založená na regionech

Segmentace založena na představě regionů – obrazových prostorách určitých společných vlastností – také přibližuje pojetí homogenity, i když může být použita spíše lokálně, tak poskytuje vyšší přizpůsobivost v definici segmentu. Vysvětlení všech těchto metod se zakládá na představě parameterických obrazů. Můžeme použít tento přístup a hodnoty parameterických obrazů nemusí být nutně předzpracovány; často jsou zpracovány segmentací (nebo jsou apriorně dostupné jako parametr intenzita pixelu). [1]

Mezi tyto operace patří segmentace narůstáním, spojováním nebo oblastí a také watershed.

3.2.2.1 Watershed

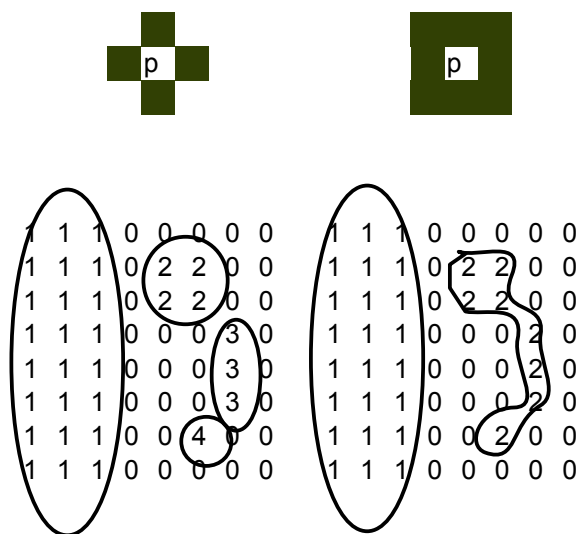
Pro pochopení metody watershed si představme obraz jako topologický povrch, kde hodnoty $f(x,y)$ jsou vyloženy jako vrcholy. Jednoduchý obraz může být zobrazen jako trojrozměrný povrch. Když si představíme, že by na daný povrch přšelo, tak je jasné, že voda by se shromáždila v prostorech označených jako záchytné nádrže. Pokud kapky deště dopadají přesně na hřeben, tak je pravděpodobné, že obě nádrže budou stejně naplněny. Metoda rozvodí uvažuje záchytné nádrže a hřebeny v šedotónovém obraze. Z hlediska řešení problému segmentace obrazu je klíčovým pojetím změnit vstupní obraz na jiný, jehož záchytné nádrže představuje objekty oblastí, které chceme rozeznávat. Pro účely segmentace jsou používány pro výpočet rozvodí gradienty obrazu. Použitím gradientových obrazů hranice regionu v původní šedé škále obrazu korespondují s příslušným povodím. Vyšší hodnota odpovídá hřebenu, nižší hodnota odpovídá údolí. V místech, kde by se voda ze dvou povodí mohla slít, jsou vytvořeny hráze. Výsledkem metody Watershed je obraz rozdělený do regionů oddělených hrázemi. [3]

Nevýhodou je, že metoda vytváří vysoký počet regionů, a tak vzniká velký počet segmentů. Řešením je spojování regionů po transformaci.[1]

3.3 Morfologické operátory

3.3.1 Propojení elementů

Možnosti propojení 4 nebo 8 dotyků, z toho se odvíjí počet obrazů z toho jaká varianta dotyku je zvolena.[3]



Obrázek. 3: Propojení komponentů

3.3.2 Vyplňování děr

Tato morfologická operace má rozsáhlé spektrum praktického využití. Každé využití je určeno výběrem markovacích a maskovacích obrazů. Například předpokládejme markovací obraz f_m , pro který je 0 všude kromě hranice obrazu, kde je nastaveno 1-f [3]

$$f_m(x, y) = \begin{cases} 1 - f(x, y) & \text{jestliže } (x, y) \text{ je na hraně } f \\ 0 & \text{jinak} \end{cases}$$

(4)

Potom $g = [R_f^c(f_m)]^c$ vytvoří obraz bez děr.

3.3.3 Odstranění hraničních objektů

Jedná se o odstranění objektů, které leží na hranici obrazu. Klíčovou úlohou je vybrat vhodné značící a maskovací obrazy aby bylo dosaženo žádaného efektu. V tomto případě se použije originální obraz jako maska a značící obraz f_m je definován jako [3]

$$f_m(x, y) = f(x, y) \text{ jestliže } (x, y) \text{ je na hraně } f \\ 0 \text{ jinak}$$

(5)

Výsledný obraz bez hraničních objektů se získá odečtením původního obrazu od obrazu .

3.3.4 Eroze

Eroze patří mezi všeobecné morfologické transformace, které se používají na binární obrazy. Jsou to nelineární operátory. Operace je založena na použití maticové masky běžně menší než je obraz. Matice je postupně posouvána nad obrazem stejně jako u lokálních operátorů. Binární eroze poskytne pro každou pozici (i, k) odpověď na otázku, jestli pod všemi jedničkami v masce jsou jedničky i v obraze. Pokud ano, pak operátor eroze zapíše na pozici (i, k) jedničku. Vyjádříme operátor eroze použitím masky H jako $E_H(\dots)$, vstupní obraz X , výstupní obraz Y , pozice (i, k) jako x a masku posunutou na pozici x jako H_x , potom výstupní obraz je [1]

$$Y = E_H(X) = \{x \mid H_x \subseteq X\} \quad . \quad (6)$$

Když označíme vektor vedoucí z počátku masky do jednoho z jeho aktivních elementů jako h a vstupní sada posunutá vektorem $-h$ jako X_{-h} , výsledek eroze se může vyjádřit ekvivalentně jako průnik vzájemně posunutých verzí obrazů X . [1]

$$Y = E_H(X) = \bigcap_{h \in H} X_{-h} \quad . \quad (7)$$

Binární eroze (černobílá), jak název naznačuje, eroduje vstupní set (obrazec) – některé hraniční pixely obvykle jsou nastaveny na nulu, čímž se zmenší velikost setu. Tato změna je nevratná, jako malé objekty a tenké výčnělky (protruze), které nemůžou zaostřit strukturní element, tak jsou úplně odstraněny. Tak může eroze způsobit potlačení šumu a někdy nežádoucí nespojitost za cenu zmešení obvodů objektu. [1]

4 Klasifikace

Je to proces, kdy dochází k rozdělování nalezených objektů do jednotlivých tříd podle zvoleného kritéria. Klasifikaci je možno uskutečnit různými metodami. Jednou z nich je

příznaková metoda. Jedná se o kvantitativní ocenění významných vlastností objektu, který je prezentován obrazem. Vlastnostmi objektu mohou být například rozměry nebo jas. Příznakovou metodu lze zpracovávat různými metodami. Jednou z nich jsou neuronové sítě.

4.1 Neuronové sítě

Neuronové sítě se používají ke zpracování obrazu díky mnoha zajímavých vlastností, jednou z nich je schopnost učit se. Můžou měnit své parametry a tím vyhovět daným požadavkům. Své parametry mění na základě zpětné vazby. Neuronové sítě jsou schopny zpracovávat informaci paralelně podobně jako lidský mozek, což zvyšuje jejich rychlost. Neuronové sítě se dělí na tyto tři skupiny: asociativní paměti, klasifikátory a aproximátory. [2]

4.1.1 Asociativní paměti

Výstupní vzor těchto sítí je logicky spojen (asociován) se vstupním vzorem. Paměti se dále dělí na autoasociativní, kdy je výstupní vzor podobný se vstupním vzorem, nebo heteroasociativní, kdy na výstupu se vybaví něco jiného než je vstup. Příkladem asociativní paměti je Hopfieldova síť. [2]

4.1.2 Klasifikátory

Klasifikátory rozliší vstupní vzory a začlení je do určité třídy, která je reprezentována logickou jedničkou, zbývající výstupy jsou rovny nulám. Klasifikátory rozdělují vzory podle podobnosti. Nejznámějším systémem je Hamingova síť. [2]

4.1.3 Aproximátory

V těchto sítích se vytvoří vlastní vnitřní model podle vstupních informací, který se přibližuje skutečnému systému, díky čemuž je síť schopna předpovídat děje. Aproximátory se nepoužívají jako klasifikátory. Typickým aproximátorem je vícevrstvá perceptronová síť, v některých případech je identifikována síť BP, což v anglickém jazyce znamená back propagation, tedy zpětné šíření chyby. [2]

4.1.4 Neuronové sítě s učitelem a bez učitele

Neuronová síť se může učit s učitelem nebo bez něj. Síť s učitelem je taková, která se učí podle příkladů vzorů a je realizována například Hopfieldovou sítí. Síť bez učitele se poučuje z chyb pouze ze vstupních dat. Tato síť vytváří model, který simuluje skutečný systém, z čehož vyplývá možnost predikce. K takovým sítím patří Kohonenova síť. [2]

Aplikace neuronových sítí:

- klasifikace – zařazení vstupního (příznakového) vektoru do jedné z daných tříd

- shlukování – vytváření skupin podobných vstupních vektorů
- vektorová kvanifikace – přiřazení vstupu nejbližšímu vzoru
- funkční aproximace
- predikce
- identifikace systémů – aproximace chování systémů
- optimalizace

Neuronová síť vytváří zobrazení ze vstupního vektorového prostoru do vektorového prostoru výstupního:[2]

$$\{\bar{x}\} \rightarrow \{\bar{y}\} \quad (8)$$

a rozměry těchto prostor mohou být různé.[2]

4.1.5 Jednotlivý neuron

Pod pojmem neuron se rozumí prvek s N vstupy a jedním výstupem. Je popsán rovnicí[2]

$$y = f\left[\sum_{i=1}^N w_i x_i - \square\right] = f\left[\sum_{i=0}^N w_i x_i\right], \text{ kde } x_0 = 1, w_0 = -\square, \quad (9)$$

kde:

$\bar{x} = [x_1, x_2, \dots, x_N]^T$ je vstupní vektor,

$\bar{w} = [w_1, w_2, \dots, w_N]^T$ je vektor aktuálních vah,

$\square$ je aktuální práh neuronu.

Neuron se označuje také jako perceptron.[2]

4.2 Shluková analýza

Jedná se o seskupování objektů podobných vlastností. Máme soubor objektů, ve kterém je každému připsána množina znaků(příznaků) a je pro každý objekt shodná. Výstupem jsou shluky objektů, ve kterých si jsou objekty shluku podobní a zároveň nepodobní se členy mimo daný shluk.

Postup při shlukové analýze:

1. Změření vlastností objektů (v podobě vektoru nebo matice)

2. Vhodnou úpravou dat je matice standardizována
3. Výpočet matice podobností (vzdáleností mezi objekty)
4. Realizace shlukové metody
5. Přeskupení dat a matice podobností
6. Výpočet koeficientu korelace

Shlukování pixelů podobných vlastností závisí na měření, která jsou realizována pro každý pixel. Každý pixel je definován vektorem $\mathbf{x} = [x_1, x_2, \dots, x_N]^T$, který reprezentuje výsledky jednotlivých měření pro určitý pixel. Měří se barva pixelu, okolní vlastnosti pixelu, to znamená střední hodnota pixelů okolí, rozptyl a jiné. Návrhy měření vycházejí ze skutečnosti, že pixely z jednoho segmentu mají být hodnocené podobně a pixely z různých segmentů rozdílně. [2]

5 Provedení v MATLABu

Detekce krevních elementů je zpracována v programovém prostředí MATLAB R2009b s využitím knihovny Image Processing Toolbox.

Detekce erytrocytů je zhotovena třemi různými metodami, a to prahováním, Watershedem a prahováním s erozí. Detekce leukocytů je realizovaná pomocí zvýraznění kontrastu jader. Klasifikace leukocytů pracuje na principu geometrických a jasových parametrů. Program je vybaven uživatelským rozhraním.

5.1 Detekce erytrocytů

5.1.1 Prahování

Tento způsob spočívá v oddělení objektů od pozadí pomocí prahu tak, aby byly získány objekty, které jsou očíslovány a z těchto objektů jsou získány jejich geometrické vlastnosti. Nejdůležitější činností je najít správnou hodnotu prahu. Ta byla zjištěna pomocí metody Otsu. Podle nalezeného prahu byl obraz převeden na binární. To znamená, co je nad hodnotou prahu bude bílé, co je pod hodnotou prahu se stane černým. Výsledkem jsou bílé objekty na černém pozadí. Pro další proces je obraz invertován. Aby byly zkoumány jen celé objekty, tak dojde k odstranění objektů, které leží na hranici obrazu, protože není zjistitelné, jakých délkových charakteristik nabývají. K tomu byla použita následující jednoduchá metoda. Hodnotě pixelu, který přiléhá k hranici, byla přiřazena jednička (bílá barva), čímž se z něho stane světlé pozadí. Všechny černé pixely, které spolu hranově sousedí a aspoň jeden z těchto pixelů leží na hranici se změni na bílé. Vznikl černobílý obraz, na kterém na bílém pozadí jsou černé objekty a aby tyto objekty bylo možné identifikovat, tak jsem je nejprve očísloval a nyní mohu vypočítat vlastnosti jednotlivých očíslovaných segmentů. Následuje znalostní rozhodovací kritérium. Nejjednodušším kritériem je porovnat rozměry délkové a šířkové a vybrat jen ty objekty, které splňují mnou zadané kritérium. Takto získané objekty jsou prohlášeny za hledané.

5.1.2 Watershed

Metoda vyžaduje předzpracování. Nejprve je potřeba zamezit splnutí segmentů. K tomu se je použita detekce hran pomocí Sobelova operátoru. Toto je realizováno konvolucí obrazu se Sobelovou maskou v horizontálním a vertikálním směru. Obraz f_s je výsledkem

$$f_s = \sqrt{f_x^2 + f_y^2} \quad , \quad (10)$$

kde f_x je částečná hrana v ose x a f_y je částečná hrana v ose y . Metoda Watershed ze surového obrazu vybere velké množství hranic. Proto je na místě použít vícenásobné prahování neboli kvantování jasu. Nízký počet vrstev způsobí, že hranice vymizí, protože splynou s pozadím.

Naopak při vysokém počtu hranic vznikne mnoho segmentů, které nelze od sebe oddělit. Bylo zjištěno, že optimální hodnotou je 7. Samotná metoda Watershed oddělí segmenty od sebe a od pozadí a očísluje je.

5.1.3 Prahování s erozí

Předzpracování je totožné jako u Watershed, s tím rozdílem, že nejlepší detekce bylo dosaženo s počtem kvant jasu 6. Dále se pro erozi se musí vytvořit maska, pomocí které se eroduje. Maska má tvar disku, což je strukturní element o poloměru 3. Při erodování obrazu se vrcholy (červené krvinky) zužují, údolí (pozadí) se rozšiřuje. Při tom vznikne mnoho mezioblastí, které se odfiltrují, podle intenzity pozadí. Detekované obvody jsou značně členité.

5.2 Leukocyty

5.2.1 Detekce

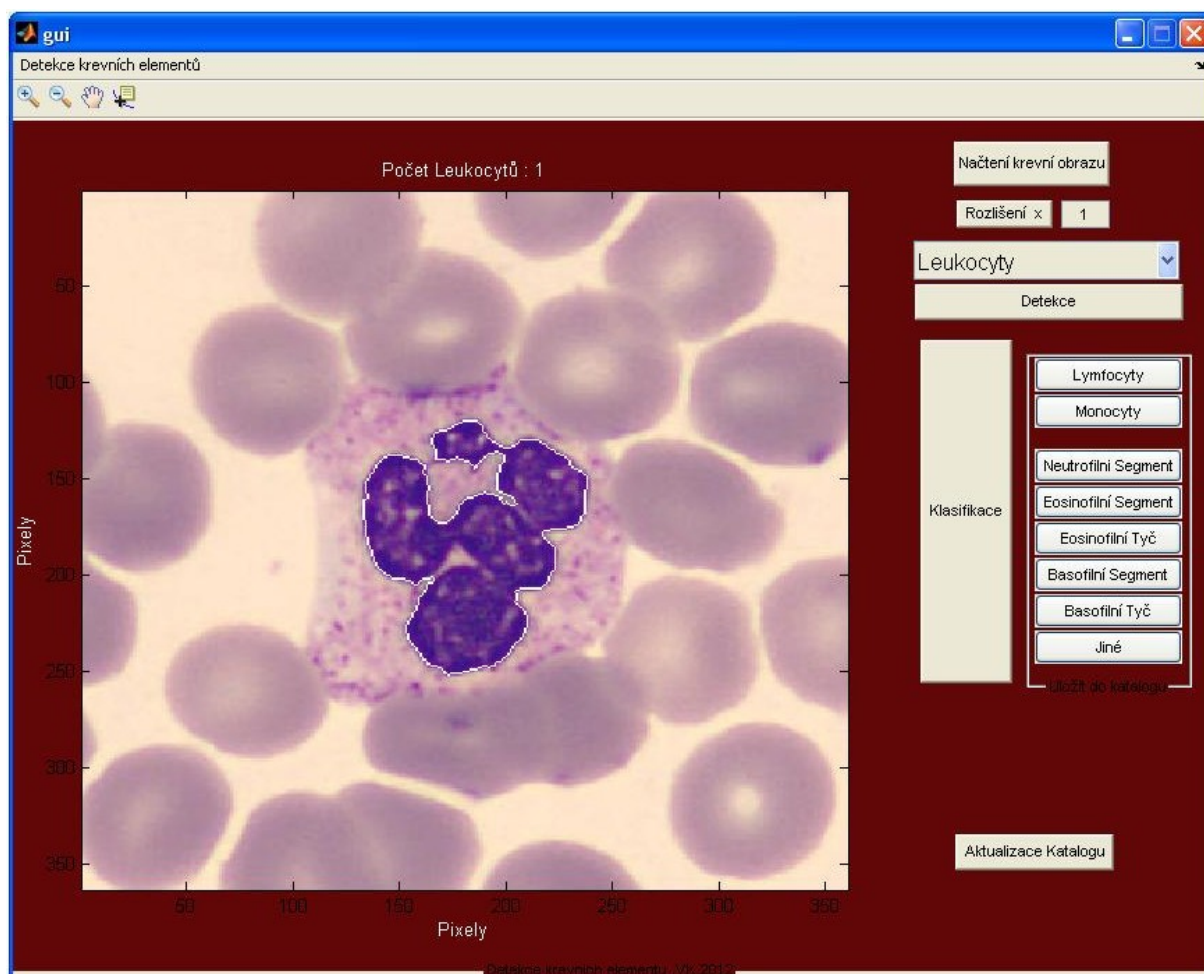
Pro detekci leukocytů slouží program *bk_kontrast.m*. Najde obraz bílých krvinek a jejich počty. Využívá vlastnosti zvýraznění obrazu pomocí kontrastu a pro každou barvu z RGB spektra je použita jiná kontrastní transformace. Po této transformaci dojde k zvýraznění jader. Metoda prahování rozdělí obraz tak, že na světlém pozadí vyniknou tmavé objekty, což jsou jádra bílých krvinek. Případné díry v jádrech jsou vyplněny, takže jádra tvoří celistvé celky. Díra je množina pixelů s intenzitou pozadí, které nemůže být dosaženo kontinuálním vyplňováním skrz hranu objektu (od hrany obrazu). Po vyplnění děr dostaneme reálné hodnoty geometrických a jasových hodnot objektů. Za jádra považujeme objekty propojené ve čtyřech směrech, které označíme komponenty v binárním obraze. Pixely označené jedničkou představují 1. objekt, pixely označené 2 určují 2. objekt atd. Pixely pro pozadí jsou označeny nulou. K odfiltrování krevních destiček jsou jako kritéria použity délkové rozměry (hlavní a vedlejší poloosa). Takto získáme jádra uložené v poli elementů. Očíslováním elementů tohoto pole se získají očíslovaná jádra detekovaných bílých krvinek. Dále je potřeba získat binární obraz obsahující pouze obvodové pixely jader. Takto vytvořený obrys je možno zobrazit v načteném obraze během detekce bílých krvinek.

5.2.2 Klasifikace

K vlastní klasifikaci lze přistoupit až po důsledné detekci. Klasifikace je založena na srovnávání neznámých vzorků krevního obrazu se známými vzory krevního obrazu. Známé vzory jsou nejprve katalogizovány programem *ns_vzory.m*. Programem *ns_vzory.m* pomocí funkce *bk_parametry.m* odečteme geometrické a jasové hodnoty jader krevního obrazu. Jedná se o hlavní, vedlejší osu objektu, jeho plochu a střední hodnotu intenzity pixelů. Tyto parametry jsou statisticky zpracovány a uloženy jako průměrná hodnota, standardní odchylka,

relativní odchylka, minimální a maximální hodnota. Hodnoty jsou uloženy podle jednotlivých druhů bílých krvinek do souborů parametrů vzorů krevního obrazu. Samotná klasifikace zkoumaných vzorků je realizovaná funkcí *rozpoznani.m.*, která rozhoduje, jestli parametry vzorků leží v intervalu parametrů vzorů a jednotlivým shodám přiřazuje určité váhy. Pro klasifikování neznámého leukocytu musí daná buňka mít součet vah větší než předem zvolená prahová hodnota a zároveň z nadprahových součtů vah musí mít ten největší.

5.3 Uživatelské rozhraní



Obrázek 4: Uživatelské rozhraní

Grafické uživatelské rozhraní GUI (*Graphical User Interface*) je uživatelské rozhraní, které je sestaveno z grafických objektů (komponent) jako jsou tlačítka, textová pole, posuvné seznamy, nabídky apod. Poskytuje rozhraní mezi uživatelem a aplikací podřízeným kódem.

Soubor `gui.m` je hlavní soubor, kterým se spouští celý program. Tento soubor volá přidružené ostatní funkce pro nalezení a rozlišení krevních elementů. Vstupem je násobek rozlišení a obraz, který vybere uživatel a tento obraz je dále zpracováván.

6 Hodnocení

6.1 Erytrocyty

Výsledky detekcí jednotlivých metod jsou uvedeny v tabulce. Pro optickou kontrolu detekce byly vybrány dva výřezy výřez A = (1600:1900,1200:1600), výřez B = (1000:1300,600:1000), ve kterých jsou porovnány detekované krvinky jednotlivými metodami se skutečností.

Tabulka 1: Hodnocení metod

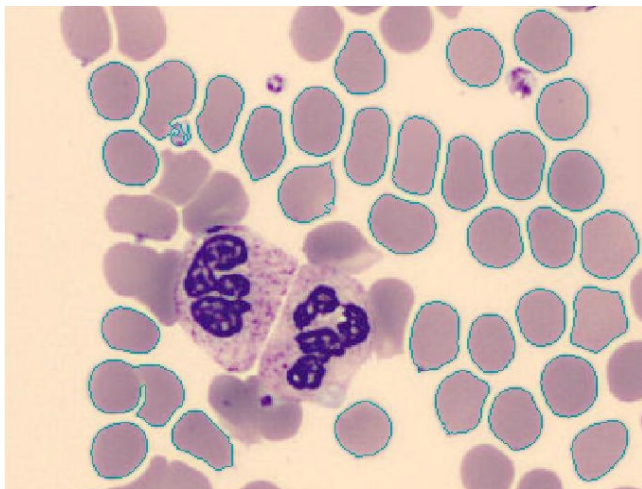
	Obraz : A00450LA9A_001.jpg/ 2955x2920pixelů					
Detekované erytrocyty	Prahování		Watershed		Eroze	
Celkem v obraze	2975		3307		3384	
Výřez	A	B	A	B	A	B
Celkem ve výřezu 301x401	33	38	41	40	41	40
Správně	31	38	39	40	41	40
Dva spojené	1	0	0	0	0	0
Spojený s jiným elementem	1	0	1	0	0	0
Chybně	0	0	1	0	0	0
Nedetkováno	8	2	0	0	0	0

Pro celý krevní obraz pak výsledky vypadají následovně.

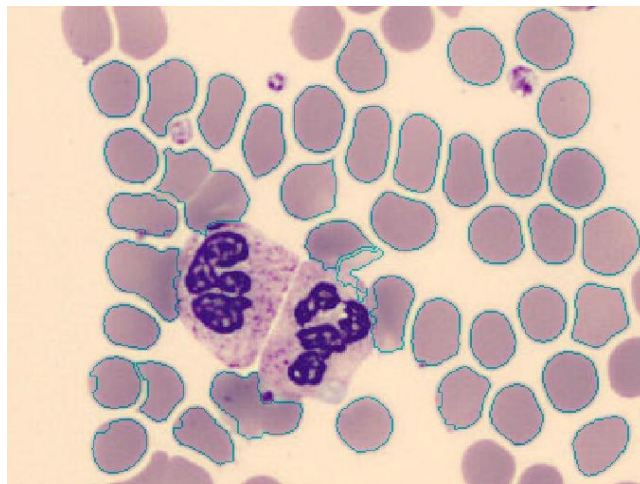
Výsledkem prahování je 2975 objektů. Chyby jsou způsobeny pospojováním objektů do větších celků. Může se stát, že krvinka může být spojena s destičkou, když to vyjde do velikosti červené krvinky. Makrotrombocyt byl detekován místo erytrocytu.

Problémy jsem se pokusil odstranit pomocí další metody, kterou byl watershed. Délková kritéria jsou obdobná jako u předcházející metody. Počet nalezenýchrvinek byl 3307 v celém obraze. Ty objekty, které byly vybrány společně s jinými krevními elementy byly odlišeny. Hlavní nevýhody spočívají v tom, že občas byl za erytrocyt považován meziprostor, což by bylo možné odfiltrvat pomocí intenzity pozadí. Někde byly dvě krvinky považovány za jednu. Detekované obvody erytrocytů nejsou tak hladké jako po prahování, ale jsou členité.

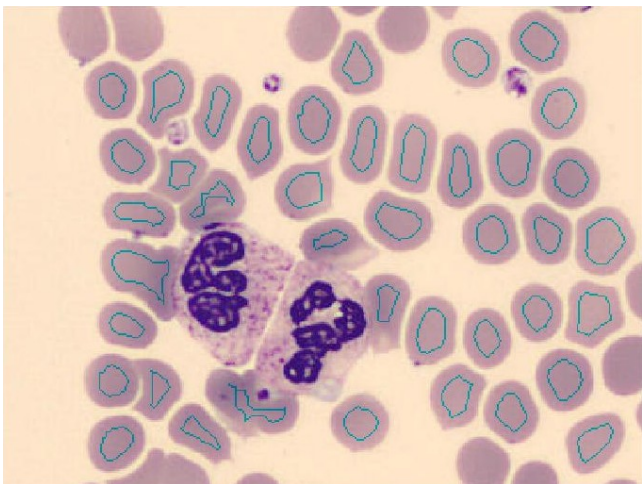
Oddělit spojené erytrocyty se podařilo až metodou erodování. Touto metodou bylo nalezeno 3384 erytrocytů, což je 100% účinnost. Nevýhodou metody je, že detekovaný obvod je oproti skutečnému značně členitý a zmenšený.



Obrázek 5: Prahování, počet identifikovaných erytrocytů: 33



Obrázek 6: Watershed, počet identifikovaných erytrocytů: 41

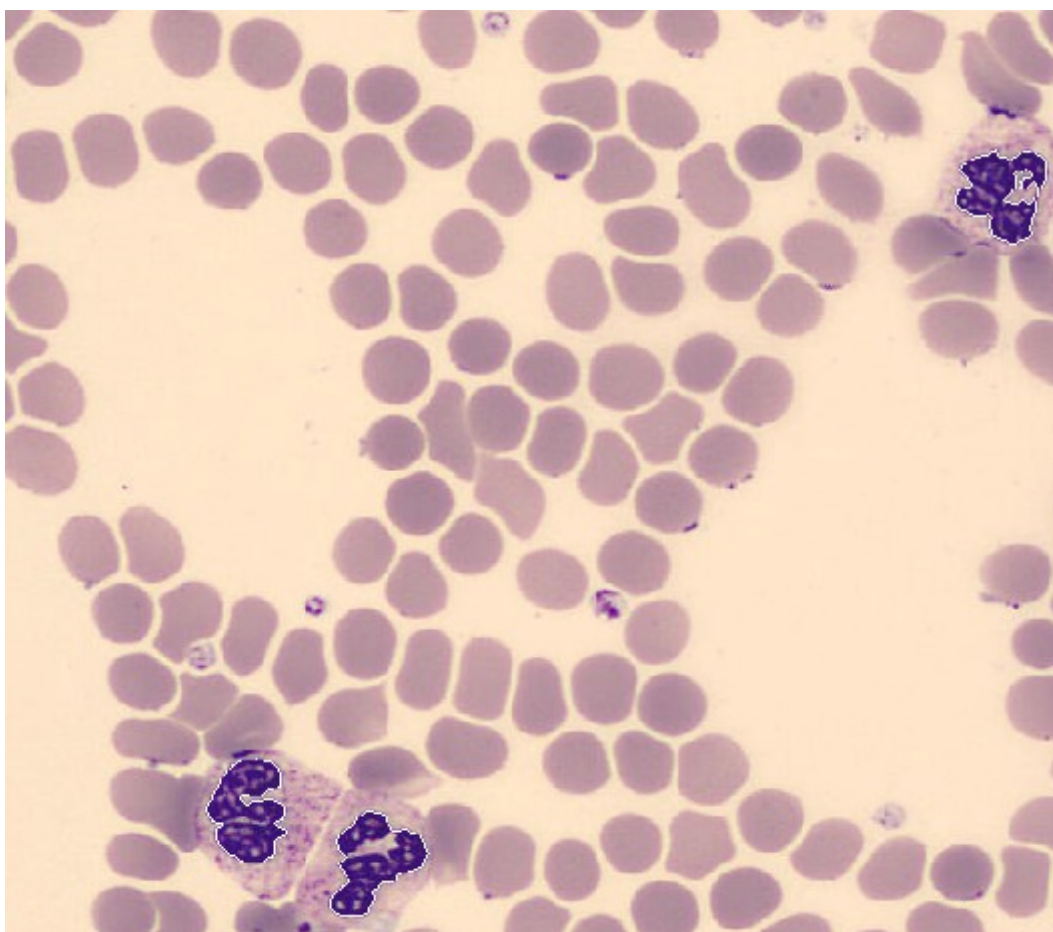


Obrázek 7: Eroze, počet identifikovaných erytrocytů: 41

6.2 Leukocyty

6.2.1 Detekce

Díky dobrému předzpracování metodou zvýraznění kontrastu byly nalezeny všechny jádra bílých krvinek, což znamená že výsledek leží v toleranci $\pm 20\%$, což je chybovost přípustná pro detekci v praxi. Přitom se vychází z fyziologických předpokladů, že jedna bílá krvinka má jedno jádro. Pro úspěšnou detekci u jiných snímků krevních nátěrů je zapotřebí zadat správnou hodnotu násobku rozlišení



Obrázek 8: Detekce leukocytů

6.2.2 Klasifikace

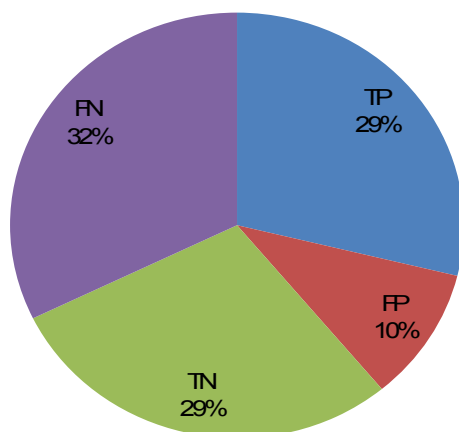
Statistické vyhodnocení klasifikace proběhlo na několika krevních nátěrech. Na obraze s více bílými krvinkami byly klasifikovány čtyři bílé krvinky ze čtyř se stoprocentní spolehlivostí. Jedná se o jeden lymfocyt a tři neutrofilní segmenty. V tomto případě se ještě nejedná o statistické zpracování z hlediska malého počtu vzorků. Statistické zpracování proběhlo na dodaných výřezích jednotlivých bílých krvinek z krevního obrazu. Výsledky z náhodně detekovaných a klasifikovaných bílých krvinek jsou uvedeny v tabulce. Zaměření je především na dvě skupiny a to na agranulocyty, jejichž hlavními představiteli jsou lymfocyty, a na granulocyty jejichž hlavními představiteli jsou neutrofilní segmenty.

Tabulka 2: Spolehlivost klasifikace

BK	TP	FP	TN	FN	SUMA
ns	17	6	17	19	59
lymfo	5	9	36	9	59
jiné	5	17	35	2	59
SUMA	27	32	88	30	177

Výpočet senzitivity: $TPR = \frac{TP}{TP + FN} = \frac{27}{27 + 30} = 0,47$

Výpočet senzitivity: $TNR = \frac{TN}{TN + FP} = \frac{88}{88 + 32} = 0,73$



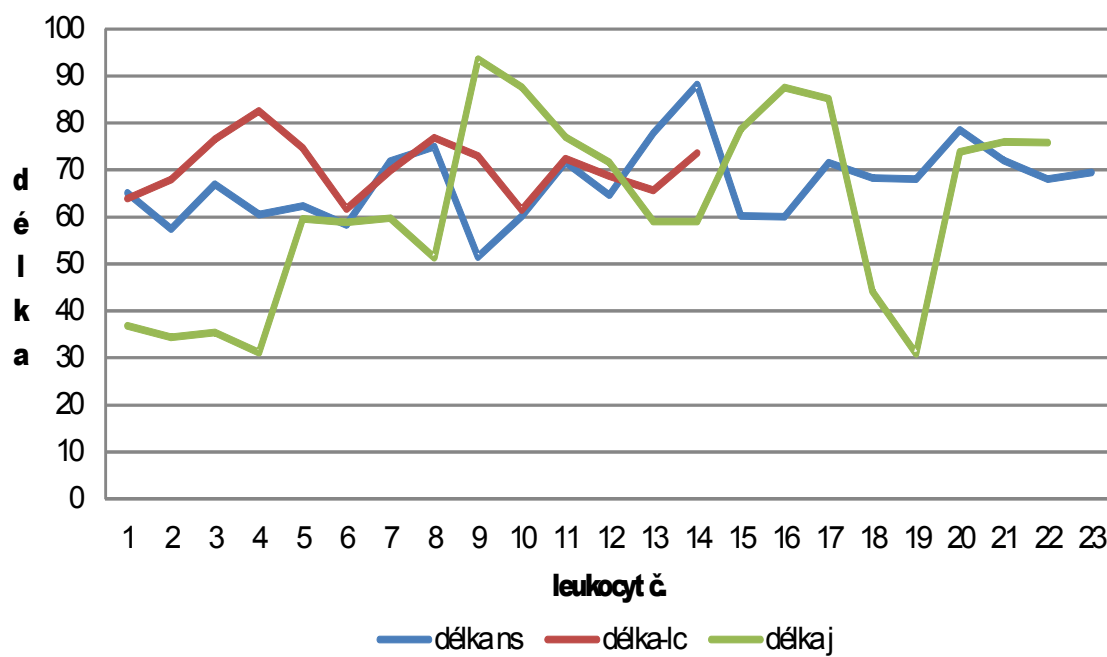
Obrázek 9: Úspěšnost klasifikace

Zjištěné vlastnosti jednotlivých bílých krvinek jsou popsány v následujících grafech.

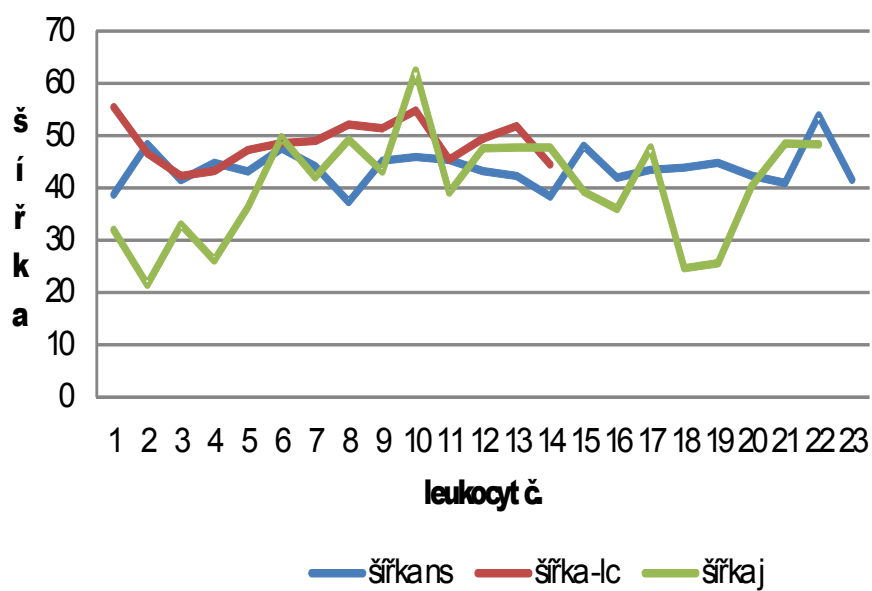
Křivky určují rozložení vlastností(délka, šířka, intenzita) přes spektrum testovaných elementů jednotlivých tříd vlastností.

Grafy na obrázcích 10 – 13 ukazují hodnoty, kterých dosahují leukocyty zařazené programem do tříd. Modrá křivka představuje vzory neutrofilních segmentů (ns), zelená křivka značí lymfocyty(lc) a červená reprezentuje jiné(j).

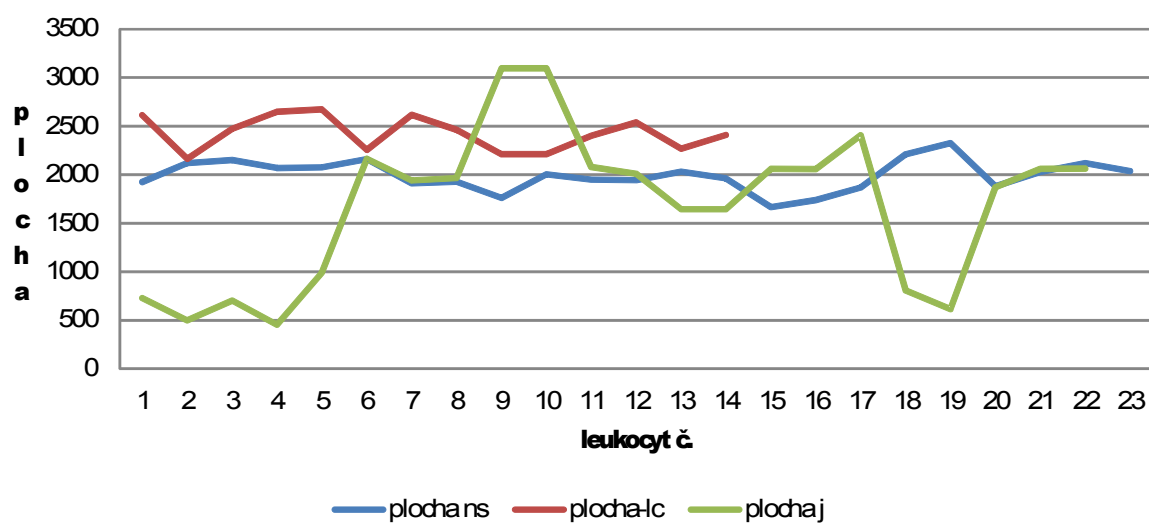
V grafech na obrázcích 14 – 17 jsou leukocyty, po proběhnutí programu, zařazeny do tříd ručně. Průběhy hodnot neutrofilních segmentů jsou značeny modře, lymfocytů zeleně, monocytů červeně a jiných elementů žlutě. Světle modré čáry vymezují interval daný dolní a horní mezí hodnot vzorů lymfocytů, zelené vodorovné čáry vytyčují interval mezi vzory neutrofilních segmentů. Průběh grafu je vzestupný, protože krevní elementy jsou seřazeny podle jejich stoupajících hodnot.



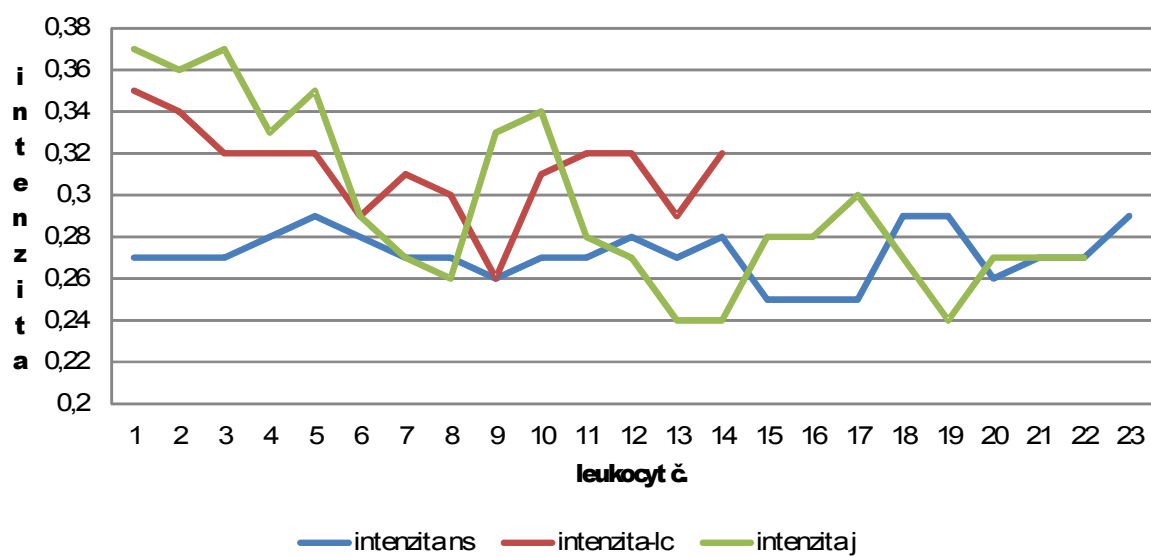
Obrázek 10: Délky leukocytů



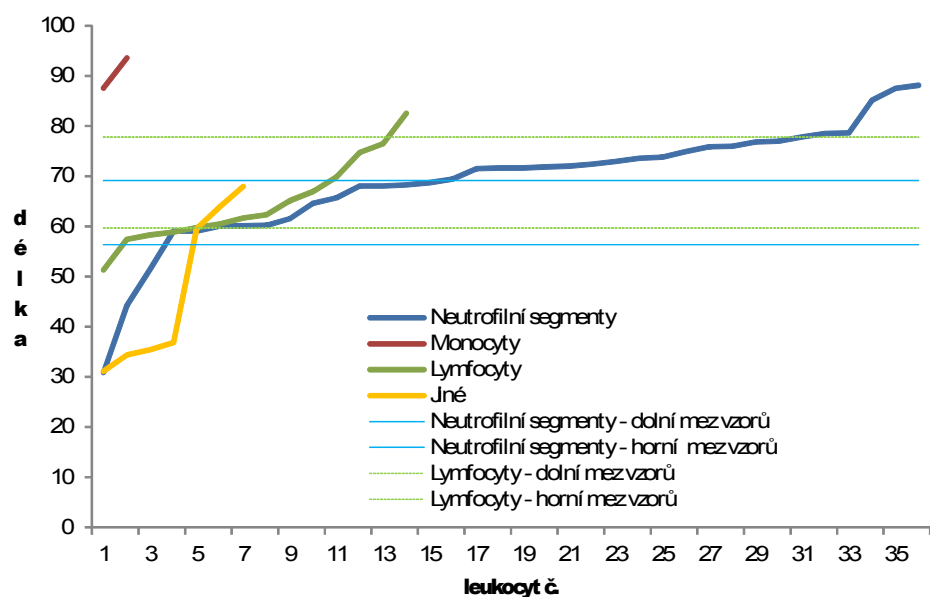
Obrázek 11: Šířky leukocytů



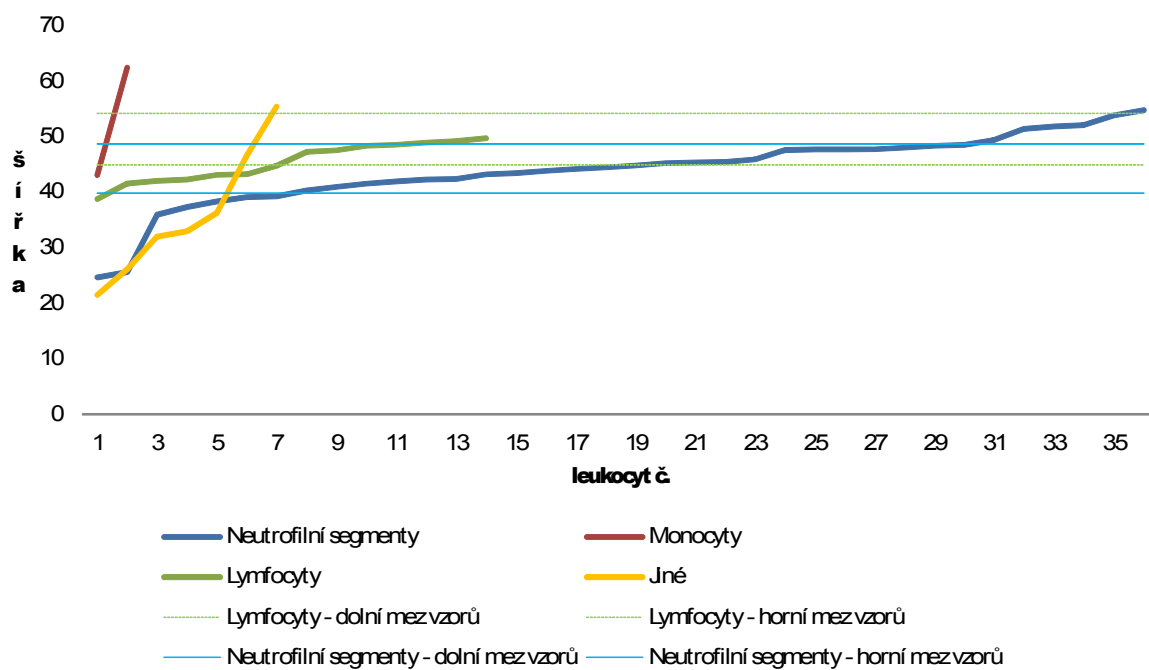
Obrázek 12: Plochy leukocytů



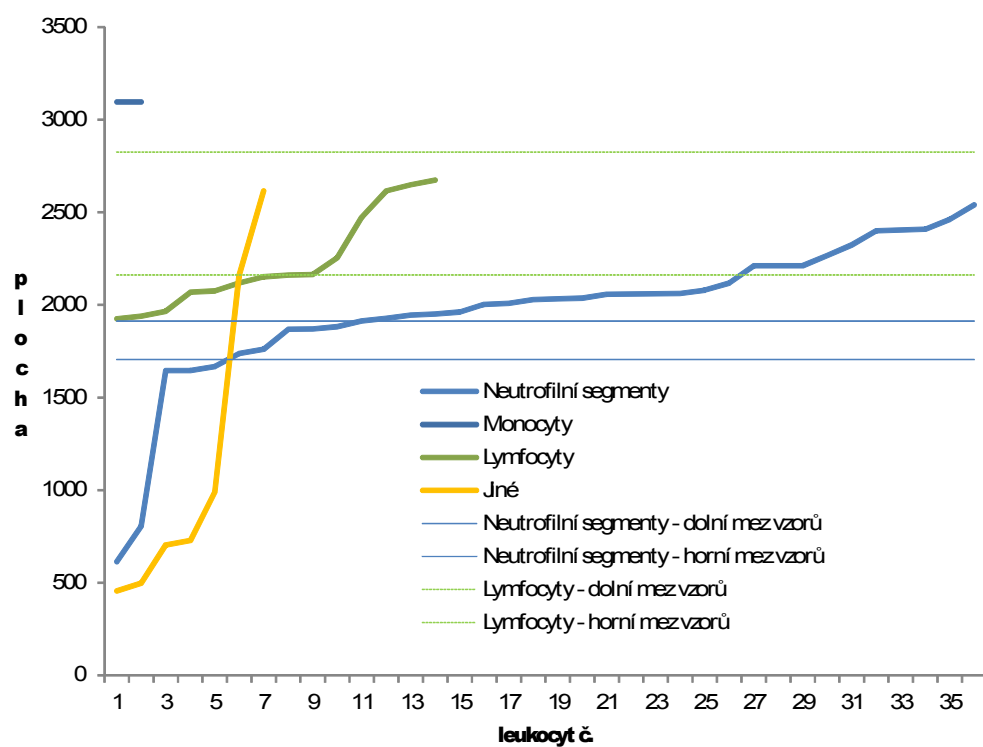
Obrázek 13: Střední intenzity leukocytů



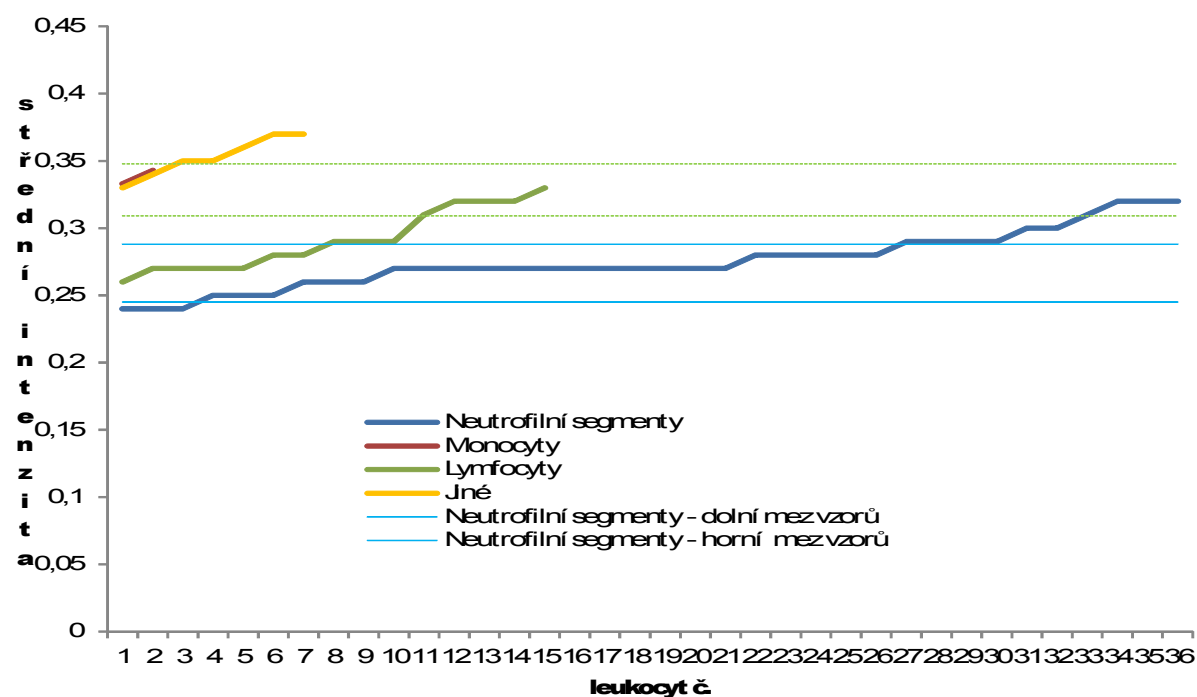
Obrázek 14: Délky leukocytů



Obrázek 15: Šířky leukocytů



Obrázek 16: Plochy krevních elementů



Obrázek 17: Střední intenzity leukocytů

Závěr

V této práci byla popsána charakteristika jednotlivých krevních elementů, které se za fyziologických okolností vyskytují v panopticky obarvených nátěrech periferní krve člověka. Od těchto charakteristik se pak odvíjí zásady pro jejich počítačovou detekci. Druhá část popisuje metody, které byly odzkoušeny při detekci erytrocytů. V práci jsou vyhodnoceny metody na detekci erytrocytů. Metodou prahování bylo nalezeno nejméně červených krvinek, ale jejich nalezené obrysy nejlépe odpovídají skutečnosti. U této metody bylo problematické jen určení kritických rozměrů. Metoda watershed byla v detekci úspěšnější. Obrysy červených krvinek jsou méně hladké. Problematické bylo určení optimálního počtu kvant jasu a kritických rozměrů. Navíc bylo třeba odfiltrovat meziprostory mezi krvinkami. Pokud je hodnocena funkčnost programu z hlediska počtu nalezených erytrocytů, tak nejlepší metoda se ukázala detekce červených krvinek erodováním. V uvedeném snímku krevního nátěru se podařilo nalézt všechny erytrocyty. Obrysy jsou hodně ostře vyřezané, ale tím se úplně minimalizuje problém splnutí erytrocytů.

V případě bílých krvinek se jako nejlepší u detekce projevila skutečnost, že základem je dobré předzpracování obrazu, což bylo provedeno pomocí transformace jasu ve všech barevných kanálech. Práhováním a použitím rozměrového kritéria byly získány objekty, které díky svému kontrastu odpovídaly jádrům bílých krvinek a tyto objekty byly všechny nalezeny ve všech snímcích krevních nátěrů. Tyto elementy byly dále podrobeny klasifikaci. Klasifikace byla provedena na základě geometrických a jasových kritérií. Program je navržen tak, že je možné přidávat další příznaky a tím výsledky klasifikace zlepšovat, která je náročná vzhledem k velké variabilitě v rámci jednoho druhu leukocytů a zároveň malé odlišnosti mezi jednotlivými druhy leukocytů.

Použitá literatura

- [1] JAN, Jiří. *Medical image processing, reconstruction and restoration: concepts and methods*. Boca Raton: Taylor, 2006, 730 s. ISBN 08-247-5849-8.
- [2] KOZUMPLÍK, Jiří; PROVAZNÍK, Ivo. *Umělá inteligence v medicíně*. Brno, 2007. 91s.
- [3] GONZALES, Rafael C. *Digital image processing: using MATLAB*. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2004. 609 s. ISBN 01-300-8519-7
- [4] OTSU, Nobuyuki. A Treshhold Selection Metod from Gray-Level Histograms. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics. a publication of the IEEE Systems, Man, and Cybernetics Society. Part B, Cybernetics*. 1979, SMC-9, č.1, 62 - 66.
ISSN 1083-4419. Dostupné z WWW:
<http://web.ics.purdue.edu/~kim497/ece661/OTSU_paper>
- [5] ŠPANĚL, Michal; Beran Vítězslav. *Obrazové segmentační techniky. Přehled existujících metod*. 2005. Dostupné z: WWW:
< <http://www.fit.vutbr.cz/~spanel/segmentace/> >
- [6] PECKA, Miroslav. *Přehled laboratorní hematologie 1: Krvetvorba. Červená krevní řada*. 1. vydání. Praha: Galén, c1995, 141 s. ISBN 80-858-2428-0.
- [7] PECKA, Miroslav. *Přehled laboratorní hematologie 2: Bílá krevní řada. Krevní destička*. 1. vydání. Praha: Galén, 1996, 132 s., obr. ISBN 80-858-2443-4.
- [8] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu: buňka a krvetvorba*. 1. vyd. Český Těšín: FINIDR, 2002, 160 s. ISBN 80-866-8201-3.
- [9] JÍLEK, Lubor a jiní. *Biologie člověka*. 6.nezměněné vydání. Praha: SPN, 1982, 268s.
- [10] HRUBIŠKO, Mikuláš a jiní. *Hematologie a krevní transfúze: Hematologie* 1.vydání. Praha: Avicentrum, 1983, 274s.
- [11] PENKA, Miroslav; BULIKOVÁ Alena. *Neonkologická hematologie*. 2., doplněné a zcela přepracované. vydání. Praha: Grada, 2009, 240 s. ISBN 978-802-4722-993.

Seznam zkratek

CFU	Colony forming unit – progenitorové buňky, které vyjádřejí kolonie
CFU – GEMM	Colony forming unit – progenitorové buňky, které vyjádřejí kolonie pro erytrocyty, granulocyty, monocyty
CFU – GM	Colony forming unit – progenitorové buňky, které vyjádřejí kolonie pro granulocyty, monocyty
CFU – E	Colony forming unit – progenitorové buňky, které vyjádřejí kolonie pro erytrocyty
NK	Natural killers – přirození zabíječi
EDTA	Ethylendiaminová kyselina
JPEG	Joint Photographic Experts Group
FT	Furierova transformace
DIP	Digital image processing
GUI	Graphical user interface

Seznam příloh na CD

Vlastní text BP

- *vaclav_kadlcek_BP.pdf*

Obrazy_ručně_zařazené_do_katalogu_a_Vypočtené_parametry

Obrazy_zařazené_programem_do_tříd_po_klasifikaci

PROGRAMY

Návod.pdf

KO_PROGRAMY

- bk_kontrast.m
- bk_parametry.m
- ck_eroze.m
- ck_prahovani.m
- ck_watershed.m
- gui.fig
- gui.m
- nacti_ko.m
- ns_vzory.m
- rozpoznani.m
- vyrez.m

KO_VZORY

Testovací_obrazy_pro_detekci_a_klasifikaci

Zadané_Testovací_obrazy_k_vyhodnoceni