

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

Автоматическое определение интенсивности деления клеток по снимкам с микроскопа

К. В. Некрасов, Д. А. Лаптев, Д. П. Ветров

МГУ, ВМиК, каф. ММП

27 октября 2010

Содержание

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- 1 Постановка задачи
- 2 Бинаризация
 - Laplacian of Gaussian (LoG)
 - Закрытие разрывных контуров
 - Фильтрация
- 3 Классификация областей
 - Вписываем круги
 - Разделение кругов на классы
 - Объединение соседних кругов в группы
- 4 Финальный подсчет
- 5 Результаты

Постановка задачи

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- Дано: набор снимков клеточной культуры дрожжей
- Требуется: для каждого снимка за короткий срок автоматически определить на нём почкующиеся и обычные клетки, а так же радиусы клеток и почек.

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

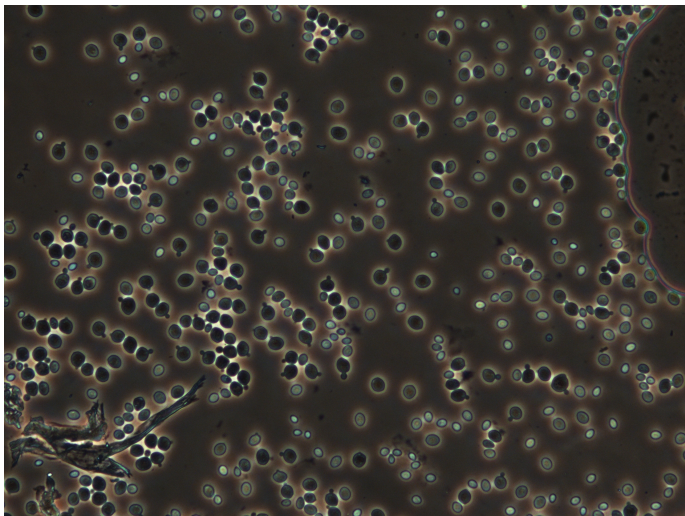
Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты



Особенности задачи

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- снимки высокого разрешения (2560x1920)
- на снимках присутствует шум
- почки представляют собой очень маленькие объекты
- клетки подсвечены
- фон освещен равномерно
- интенсивность и цвет подсветки могут меняться
- иногда биологи сами не могут точно определить класс клетки

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

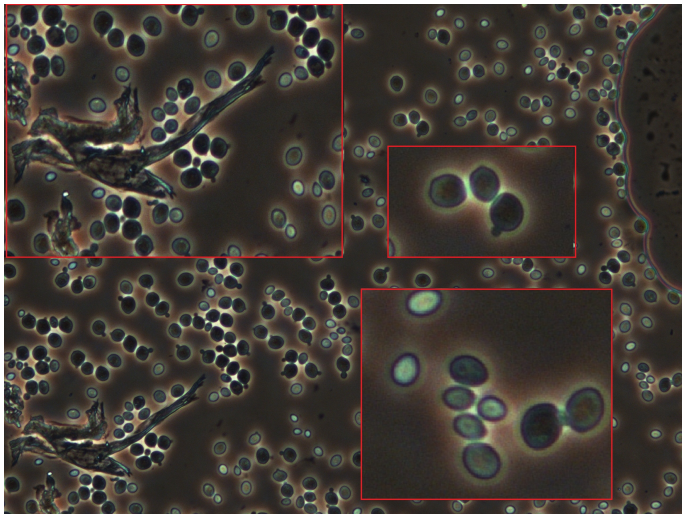
Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты



Мотивация

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- исследования биологов
- бесконтактное влияние дрожжевых культур друг на друга

План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Laplacian of
Gaussian (LoG)

Закрытие
разрывных
контуров
Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

① Постановка задачи

② Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

③ Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

④ Финальный подсчет

⑤ Результаты

Laplacian of Gaussian (LoG)

Метод выделения границ с помощью Лапласиана Гауссиана:

$$h_g(x, y) = \frac{e^{-(x^2+y^2)}}{2\sigma^2}$$
$$h(x, y) = \frac{(x^2 + y^2 - 2\sigma^2)}{2\pi\sigma^6} \frac{h_g(x, y)}{\sum_{i,j} h_g(i, j)}$$

H - LoG kernel ($H_{i,j} = h(i, j)$) $\sigma = 2$, $size = 13 \times 13$
I - grayscale image

$$F = filter(I, H - \frac{\sum_{i,j} H_{i,j}}{|H|})$$
$$thresh = 0.75 \sum_{i,j} \frac{F_{i,j}}{|F|}$$

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Laplacian of
Gaussian (LoG)

Закрытие
разрывных
контуров

Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты



План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация
Laplacian of
Gaussian (LoG)

Закрытие
разрывных
контуров

Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

1 Постановка задачи

2 Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

3 Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

4 Финальный подсчет

5 Результаты

Соединяем концевые точки

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация
Laplacian of
Gaussian (LoG)

Закрытие
разрывных
контуров

Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- 1 E_P - множество концевых точек на бинарном изображении B
- 2 $\forall p \in E_P$
- 3 если $|E_{p,r}| \leq \varepsilon$ (в окрестность радиуса r точки p попадает не более ε других концевых точек)
- 4 то соединяем точку p со всеми t -ми $q \in E_{p,r}$

Пороги $r = 6$ и $\varepsilon = 3$ были подобраны вручную.

План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация
Laplacian of
Gaussian (LoG)
Закрытие
разрывных
контуров
Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

1 Постановка задачи

2 Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

3 Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

4 Финальный подсчет

5 Результаты

Фильтрация

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация
Laplacian of
Gaussian (LoG)
Закрытие
разрывных
контуров
Фильтрация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- 1 Заполняем все закрытые контуры
- 2 Используем медианную фильтрацию (3×3), чтобы удалить оставшийся шум



План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

1 Постановка задачи

2 Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

3 Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

4 Финальный подсчет

5 Результаты

Вписываем круги

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

- На бинаризованном изображении B группы клеток могут слипаться, однако эллиптические формы остаются хорошо различимыми.
- Пусть дана связная область D с границей ∂D
- Назовем круг вписанным в область D , если он лежит внутри D и его не может полностью покрыть любой другой круг лежащий в D
- Euclidian Distance Transform (EDT)
 $\forall p \in D$ ищет наименьшее расстояние до ∂D

Вписываем круги

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

- Проблема: слишком много кругов.
Решение: удалить все полностью покрытые круги.
- Ищем локальные максимумы в $EDT(D)$
 - ① $\forall p \in D$
 - ② Если $EDT(p) \geq EDT(q)$, $\forall q : |p - q| = 1$, то $EDT(q) := 0$
 - ③ $\forall p \notin D$ $EDT(p) := 0$
- Такая оптимизация сокращает количество кругов как минимум на 50%.

План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

1 Постановка задачи

2 Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

3 Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

4 Финальный подсчет

5 Результаты

Разделение кругов на классы

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

На этом этапе должны быть заданы r_1, r_2, R_1, R_2 .
Каждый круг R относим в один из классов:

- клетки ($R_1 \leq R \leq R_2$)
- почки ($r_1 \leq R \leq r_2$)
- маленький шум ($R < r_1$)
- средний шум ($r_2 < R < R_1$)
- большой шум ($R > R_2$)

Разделение кругов на классы

Автоматическое определение интенсивности деления клеток по снимкам с микроскопа

Некрасов, Лаптев, Ветров

Постановка задачи

Бинаризация

Классификация областей

Вписываем круги

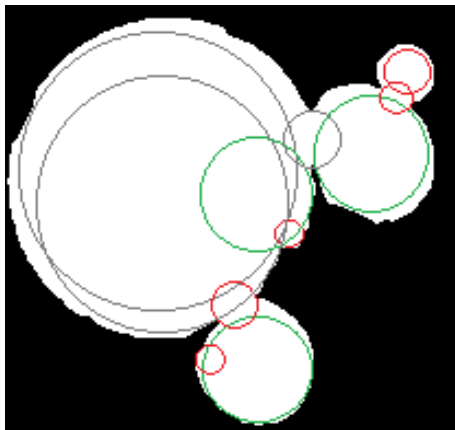
Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

Финальный подсчет

Результаты

Мы хотим, что бы каждый круг как-то характеризовал ту область, которую он покрывает. Некоторые круги, относящиеся к классу клеток или почек, могут давать ложную информацию:



Разделение кругов на классы

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

Опр. 1.

Будем говорить, что большой круг (R) покрывает маленький (r), если большой покрывает диаметр маленького хотябы на $x\%$:

$$\frac{r - l + R}{2r} \geq x$$

l — расстояние между центрами

x — задается заранее

План

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

1 Постановка задачи

2 Бинаризация

Laplacian of Gaussian (LoG)

Закрытие разрывных контуров

Фильтрация

3 Классификация областей

Вписываем круги

Разделение кругов на классы

Объединение соседних кругов в группы

4 Финальный подсчет

5 Результаты

Объединение соседних кругов в группы

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

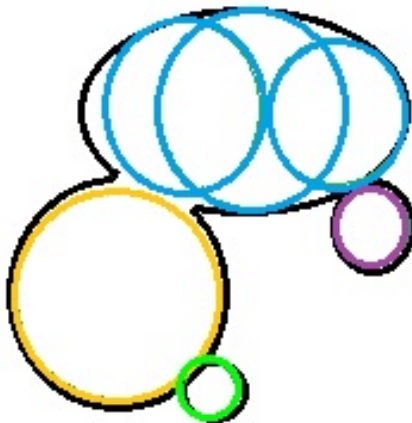
Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

- Круги одного класса могут кучковаться на близком расстоянии друг к другу
- Они характеризуют ту область, которую покрывают



Объединение соседних кругов в группы

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Вписываем
круги

Разделение
кругов на
классы

Объединение
соседних кругов
в группы

Финальный
подсчет

Результаты

- 1 Отдельно для каждого класса (клетки и почки), пользуясь опр. 1 объединяем круги в множества
- 2 Для клеток берем $x = 50\%$
- 3 Для почек берем $x = 25\%$
- 4 Каждую группу характеризуем средним кругом и в дальнейшем называем либо потенциальной клеткой (potential cell), либо потенциальной почкой (potential bud), в зависимости от того, какому классу принадлежат элементы группы.
- 5 Количество всех потенциальных клеток для области D обозначим за $potential\ cells_D$, для почек — $potential\ buds_D$.

Финальный подсчет

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

\forall связной области $D \in B$, где B – бинарное изображение,

- настоящее количество делящихся клеток

$$buds_D = \min(\text{potential cells}_D, \text{potential buds}_D)$$

- настоящее количество обычных клеток

$$cells_D = \max(\text{potential cells}_D - \text{potential buds}_D, 0)$$

Финальный подсчет

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

Если посчитать общее количество делящихся клеток

$$mitosis = \sum_{D \in B} buds_D$$

и обычных клеток,

$$simples = \sum_{D \in B} cells_D$$

то интенсивность (индекс) деления клеточной культуры определяется как

$$index = \frac{mitosis}{mitosis + simples}$$

Результаты

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

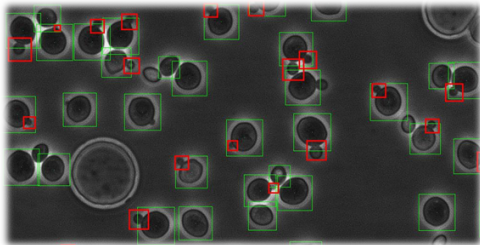
Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

- Были проанализированы три разные клеточные культуры (23 фотографии)
- Алгоритм ошибается не более чем на 6% от ручной разметки.
- Биологи довольны:)



Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты



Результаты автоматической и ручной обработки изображений. На горизонтальной оси отмечены фотографии, взятые в разное время. Вертикальная ось представляет индекс деления клеточной культуры.

Краткие итоги

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

На лекции были рассмотрены:

- Постановка задачи распознавания клеток на изображении
 - требования
 - особенности
 - мотивация
- Алгоритм бинаризации
 - LoG с последующим закрытием разрывных контуров
 - фильтрация
- Алгоритм распознавания клеток и почек на бинарном изображении
 - множество вписанных кругов, получаемых через EDT
 - удаление покрытых кругов (поиск лок максимумов)
 - разделение на классы
 - удаление всех оставшихся покрытых кругов
 - объединение кругов в группы по расстоянию
 - каждая группа характеризуется единственным средним кругом
- Финальный подсчет и результаты работы алгоритма

Автоматическое
определение
интенсивности
деления клеток
по снимкам с
микроскопа

Некрасов,
Лаптев, Ветров

Постановка
задачи

Бинаризация

Классификация
областей

Финальный
подсчет

Результаты

Спасибо за внимание! :)