

ПРИМЕНЕНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОГО ОПТИЧЕСКОГО ПОТОКА ДЛЯ МОНИТОРИНГА РАЗВИТИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК В КЛЕТОЧНОМ КОНГЛОМЕРЕТЕ

О. В. Недзьведь¹, С. В. Абламейко²

¹Белорусский государственный медицинский университет

²Белорусский государственный университет

Минск, Беларусь

e-mail: Olga_Nedzved@tut.by

Описывается способ мониторинга живых клеток на основе вычисления интегрального оптического потока, который позволяет определить не только зону движения клеток, но и их состояние.

Ключевые слова: мониторинг; живые клетки; оптический поток.

APPLICATION OF AN INTEGRAL OPTICAL FLOW FOR MONITORING OF EVOLUTION OF LIVING CELLS IN THE CELL CONGLOMERATE

O. V. Nedzved¹, S. V. Ablameyko²

¹Belarusian State Medical University,

²Belarusian State University

Minsk, Belarus

In this paper method of monitoring living cell is described. It is based on the calculation of integrated optical flow, which allows to determine not only the area of cells movement, but also their state.

Keywords: monitoring; living cells; optical flow.

ВВЕДЕНИЕ

Движение клеток играет важную роль в их жизнедеятельности. В процессе роста клетки происходит смещение клеточных органелл, а также изменение размеров клетки, которое также может быть рассмотрено как движение. При возрастании активности синтеза клетка увеличивается в размерах, при снижении уменьшается. Для клеточного роста характерно преимущественное увеличение объема цитоплазмы при относительно небольшом увеличении ядра [1, 2]. Различают три фазы роста клеток: эмбриональную, фазу дифференцировки и фазу растяжения. Дифференцировка клетки (специализация в процессе развития) сопровождается изменением формы и размеров самой клетки и ее ядра, сдвигом ядерно-цитоплазматического отношения, образованием специализированных клеточных структур. Фаза растяжения характеризуется наибольшим увеличением размеров клетки.

Наиболее эффективным способом определения движущихся объектов на изображении является разница текущего изображения с его фоном. Тем не менее после выполнения операции коррекции фона на изображениях видеопоследовательности остается много разных видов подвижных объектов, которые можно разделить по скоростям. Таким образом, можно построить пирамиду для объектов, которые распределены по разным уровням относительно их скорости. Следует отметить, что на видеопоследовательности подвижные объекты могут менять форму и пересекаться. Это вызывает затруднения с определением слоя, к которому следует отнести такой объект.

ОСОБЕННОСТИ ПОДВИЖНЫХ КЛЕТОК НА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЯХ

Подвижные объекты на микроскопических препаратах можно разделить на следующие классы:

- отдельные мелкие объекты, которые являются подвижной составляющей фона и могут быть удалены при сортировке по размерам;
- смещение крупных компонентов фона, для которых их общее движение вызвано стохастическими движениями в препарате и величины этих движений небольшие;
- изменения, происходящие вокруг подвижных объектов, вызванные движением среды и изменением ее оптических характеристик;
- слипшиеся объекты, которые могут иметь разные характеристики скорости.

Все эти объекты не имеют информативного значения и их относят к подвижной составляющей фона. Тем не менее их удаление вызывает значительные затруднения.

Самым простым является удаление мелких объектов, вне зависимости от их скорости перемещения и изменений формы. Основным определяющим при этом фактором является их размер. Для удаления мелких объектов после бинаризации выполняется вычисление их площади, по значению которой они отмечаются и удаляются на изображении.

Клетки на микроскопических препаратах – очень подвижные объекты, при этом могут быть выделены три типа клеточной подвижности:

- собственное перемещение клетки;
- смещение внутриклеточных структур;
- изменения формы клеток.

Обработанная пирамида оптических потоков позволяет выявить два первых типа клеточной активности. Верхние уровни пирамиды будут характеризовать движение клетки в целом, а нижние – структур внутри клетки. Качество их выделения зависит от характеристик фильтра скоростей для пирамиды.

Фильтр основывается на анализе векторных данных двух соседних слоев. Значения длин векторов оптического потока верхнего слоя пирамиды определяют перемещения более крупных участков. Детализированное описание движения определяется векторами более низких уровней. Из-за свойств масштабирования уровней пирамиды разрешение изображения верхних уровней недостаточно для анализа мелких объектов. Объединение векторов соседних слоев со сходными характеристиками позволяет уточнить границы подвижных объектов и улучшить разрешение их изображений. Таким образом, каждый уровень будет представлять свой класс подвижных объектов. При этом появляется возможность более точно выделить контуры подвижных объектов и определить, к какому классу они относятся.

УТОЧНЕНИЕ ОБЛАСТИ ДВИЖЕНИЯ КЛЕТОК

Часто на динамических изображениях подвижные объекты не занимают всю площадь изображения. Более того, существуют объекты, движение которых является хаотическим и не несет какой-то информативной нагрузки. Основной характеристикой, позволяющей исключить области с такими объектами, является интегральный оптический поток.

Случайное ненаправленное движение со временем компенсируется и формирует вектор с небольшой длиной. При направленном движении объекта длина вектора увеличивается. Таким образом, на основе значений длины векторов интегрального векторного потока можно определить области с полезным движением.

После процедуры коррекции фона и формирования зоны интереса изображения имеют более высокое качество, поэтому для выделения клеток можно использовать пороговые методы обнаружения границ клеток [3–4].

Операция морфологической фильтрации позволяет удалить небольшие объекты. Утоньшение методом Зонга – Суена на основе градиентной фильтрации позволяет получить замкнутые границы клеток. Области внутри этих границ соответствуют образам клеток. Операция заливания дыр позволяет получить бинарные области, соответствующие клеткам. Однако при проведении данной сегментации могут возникнуть ошибки, и бинарные модели могут включать в себя ложные области, которые не соответствуют клеткам.

Такие области имеют слабые изменения яркости на всей площади. Для исправления этой ошибки необходимо определить дисперсию или ширину полосы уровней серого для каждого региона и удалить с помощью фильтра объекты, для которых значения дисперсии превышают пороговое. В результате все бинарные образы соответствуют клеткам.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОГО ВЕКТОРНОГО ПОТОКА ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ СОСТОЯНИЯ ЖИВЫХ КЛЕТОК

Живые клетки, как правило, характеризуются различными факторами роста при стимуляции дифференцировки ткани [5–6]. Это приводит к равномерной эволюции клеток в образце. Они преимущественно имеют схожие формы и размеры. Выделяют три важнейших стадии эволюции клетки [1–2]: обычное состояние, свойственное для всей ткани, митоз – состояние деления клетки, апоптоз – разрушение клетки, а также промежуточное состояние между этими стадиями.

В нормальном состоянии оптический поток клеток меняется равномерно, и его амплитуда соответствует общему фону (рис. 1).



Рис. 1. Изображение клетки в нормальном состоянии и интегральный оптический поток для нее

В состоянии митоза в интегральном оптическом потоке появляется два выделенных вектора, которые соответствуют разделению клеток (рис. 2).

Для апоптоза вектора интегрального оптического потока могут иметь самые разные значения (рис. 3).

В промежуточном состоянии вектора интегрального оптического потока направлены к центру клеток (рис. 4).

Таким образом, использование интегрального оптического потока позволяет определить состояние клетки.

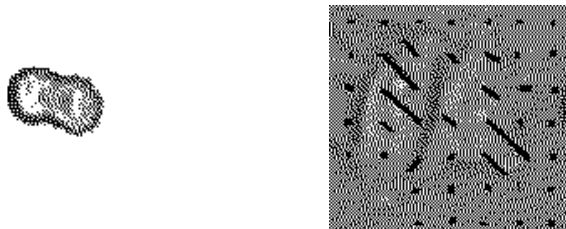


Рис. 2. Изображение клетки в состоянии митоза и интегральный оптический поток для нее



Рис. 3. Изображение клетки в состоянии апоптоза и интегральный оптический поток для нее



Рис. 4. Изображение клетки в промежуточном состоянии и интегральный оптический поток для нее

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мониторинг эволюции живых клеток является сложной процедурой. Для его реализации необходимо учитывать форму клеток ткани. В промежуточной фазе клетка имеет округлую форму. После этого клетка либо делится, либо гибнет. Исходя из этих особенностей эффективный способ для автоматизации мониторинга может основываться на особенностях интегрального оптического потока, который позволяет не только определить зону движения клеток, но и их состояние. С помощью предложенного способа можно значительно улучшить контроль качества исследуемой ткани.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Mitosis detection of hematopoietic stem cell populations in time-lapse phase-contrast microscopy images / S. Huh [et al.] // Processing of the 9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), 2012, P. 390–393.
2. Liu A-A, Li K., Kanade T. Mitosis Sequence Detection using Hidden Conditional Random Fields // Proc. IEEE International Symposium on Biomedical Imaging, 2010. P. 580–583.
3. Segmentation and Shape Tracking of Whole Fluorescent Cells Based on the Chan-vede Model / M. Maska [et al.] // IEEE Transactions on Medical Imaging. Vol. 32. № 6, P. 995–1006.
4. Nathiya R., Sivaradje G. An effective mitosis recognition and segmentation tool for stem cell exploration // ARPN J. of Engineering and Applied Sciences. Vol. 10. № 6, 2015. P. 2691–2696.
5. Nedzved A. Image analysis for tasks of medical diagnostic // UIIP NAS Belarus. 2012.
6. Nedzved A., Starovoitov V. Intellectual software for analysis of histological images // Proc. of WISP 2011 : IEEE 7th Intern. Symposium on Intelligent Signal Processing. Floriana, 2011. P. 130–134.