



Automatická kvantifikace buněk použitím metod počítačového vidění

Martin Toman¹

1 Úvod

Příspěvek čerpá z diplomové práce psané na stejnojmenné téma. Po dlouhou dobu byla tuková tkáň považována za pouhou zásobárnu energie a mechanickou ochranu orgánů. Poslední výzkumy však ukazují, že se vylučováním mnoha hormonů významně podílí na celé řadě metabolických procesů. Tato funkce však může být narušena škodlivými polutanty, které se do tukové tkáně ukládají. Mnoho z nich představuje nebezpečné chemikálie, jejichž používání již bylo dříve zakázáno. Vzhledem k jejich odolnosti se však stále vyskytují ve vysoké koncentraci v našem životním prostředí. Pokud se dostanou do tukové tkáně, mohou negativně ovlivnit vývoj tukových buněk, což může vést například k obezitě a s ní spojeným onemocněním. (Müllerová a Kopecký 2007)

S cílem odhalit mechanismy, kterými tyto polutanty působí na tukové buňky, jsou prováděny pokusy, při nichž jsou uměle pěstované adipocyty vystavovány těmto toxickým látkám. Jedním ze sledovaných znaků je počet buněk v populaci, který je prozatím zjišťován „ručně“ za pomoci počítačích komůrek. Vzhledem k vysoké ceně přístrojů schopných automatické kvantifikace připadá v úvahu automatické počítání s využitím zpracování obrazové informace. (Müllerová a Kopecký 2007, Bengsston et al. 2004)

2 Použité metody

Pro detekci a následné počítání tukových buněk byly použity segmentační techniky Watershed a Floodfill. Watershed pohlíží na obraz jako na topografický reliéf tvořený pohořími a údolími, který je rovnoměrně zaplavován vodou. Údolí jsou postupně zaplňována, čímž tvoří jezera. Jakmile hladina dosáhne vrcholu hřebene, dojde ke spojení sousedních jezer. V takovém případě je postavena hráz oddělující od sebe objekty v obraze. (Amandeep, 2014)

Metoda Floodfill pracuje na principu narůstání oblasti. Na začátku je určen startovací bod, s nímž jsou následně porovnávány okolní body. Pokud porovnávaný pixel splní zvolené kritérium, stává se součástí dosud vytvořené oblasti. (Šonka et al. 2008)

3 Experimenty

Navržené postupy byly následně otestovány na reálných datech získaných z Ústavu hygieny a preventivní medicíny LF UK v Plzni. Zkušební snímky lze rozdělit do dvou kategorií. První sada obsahuje fotografie buněk bez použití buněčného barviva. Tukové buňky zde tvoří v obraze oranžovohnědé útvary ohraničené hnědým okolím. Druhou skupinu tvoří snímky obsahující obarvené tukové buňky barvivem Oil Red O (ORO). Jeho aplikací dojde k obarvení adipocytů na červenou, přičemž pozadí zůstane modré. Barviva se v mikrobiologii používají pro usnadnění analýzy vzorku buněčné populace. Ke každé fotografii byl rovněž

¹ student navazujícího studijního programu Inženýrská informatika, obor Řídící a rozhodovací systémy, specializace Umělá inteligence, e-mail: toman.martin91@gmail.com

obdržen „ručně“ určený počet tukových buněk, tyto hodnoty jsou použity pro vyhodnocení úspěšnosti algoritmu.

4 Výsledky

Ze získaných výsledků vyplývá, že detekce buněk ve snímcích bez použití buněčného barviva je velmi obtížná. Uvnitř adipocytů je poměrně značná variace barev, navíc problém zde představují buňky natěsnané na sebe navzájem, kdy nelze jasně určit jejich hranice. Právě spojení dvou či více buněk v jednu způsobilo, že ve většině případů detekoval algoritmus nižší počet buněk, než byly „ručně“ zjištěné hodnoty. Pokud se zaměříme na použité metody, vychází z porovnání lépe algoritmus Watershed, který při kvantifikaci dosáhl nižší průměrné chyby (17,52 %). Kromě toho je také několikanásobně rychlejší než Floodfill, jehož chybovost o poznání vyšší (25,69 %).

Ve snímcích z druhé skupiny lze tukové buňky spatřit jako červené útvary obklopené modrým pozadím. Protože barvivo ORO obarví přímo tuk obsažený v adipocytech, jsou zde také poměrně zřetelné obsažené tukové kapénky. Obarvení buněk přispělo na první pohled ke snazší detekci adipocytů. Problém, kdy je více natěsnaných buněk počítáno jako jedna, je zde značně redukován. Podíváme-li se na výsledky obou metod, vychází i zde ze srovnání lépe Watershed, byť s minimálním rozdílem. Zásadní odlišnost mezi metodami je opět v rychlosti, Watershedu trvá detekce několikanásobně kratší dobu. Průměrná odchylka metody Watershed činí 5,03 %, zatímco Floodfill je mírně pozadu se 7,87 %.

5 Závěr

V této práci jsou navrženy dva přístupy pro automatickou kvantifikaci buněk s použitím metod počítačového vidění. Ze srovnání vyplývá, že nejlepších výsledků dosahuje metoda Watershed. Porovnáme-li průměrné hodnoty chyb u obou skupin snímků, je zřejmé, že obarvení adipocytů pomocí ORO pomohlo značně zvýšit přesnost detekce.

Literatura

- Amandeep, K.A., 2014. Image Segmentation Using Watershed Transform. *International Journal of Soft Computing*. Roč. 4, č. 1.
- Bengston, E., Wahlby C. a Lindblad, 2004. Robust Cell Segmentation Methods. *Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications*. Roč. 14, č. 2, s. 157-167.
- Müllerová, D. a Kopecký J., 2007. White Adipose Tissue: Storage and Effector Site for Environmental Pollutants. In: *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. Praha: Institut fyziologie, Akademie věd České republiky, s. 375-381. ISSN 0862-8408.
- Šonka, M., Hlaváč V. a Boyle, 2008. *Image processing, analysis, and machine vision*. 3rd ed. Toronto: Thomson, xxv, 829 s. ISBN 978-0-495-08252-1.