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

ANALÝZA AUTOFLUORESCENČNÍCH SNÍMKŮ SÍTNICE

ANALYSIS OF AUTOFLUORESCENCE RETINAL IMAGES

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Bc. ANDRIY MOSYURCHAK
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — doc. Ing. RADIM KOLÁŘ, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2015

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Biomedicínské a ekologické inženýrství

Student:	Bc. Andriy Mosyurchak	***ID:***	120793
Ročník:	2	***Akademický rok:***	2014/2015

NÁZEV TÉMATU:

Analýza autofluorescenčních snímků sítnice

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Seznamte se s problematikou akvizice, zpracování a analýzy autofluorescenčních snímků sítnice. 2) Prostudujte metody, které jsou vhodné pro segmentaci autofluorescenčních zón a metody pro sledování objektů v obraze. 3) Navrhněte přístup pro sledování zón se zvýšenou autofluorescencí na snímcích získaných v dlouhodobém časovém úseku. 4) Navržený přístup realizujte a zabývejte se také vyhodnocením zvolených parametrů zájmových oblastí (plocha, případně tvar a vzdálenost). 5) Metodu otestujte na dodané sadě dat a optimalizujte nastavení příslušných parametrů. 6) Navrhněte dále vhodnou prezentaci a vizualizaci výsledků zpracování. 7) Proveďte finální testování a vyhodnocení a výsledky dostatečně diskutujte.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] KOLÁŘ, R. et al. The segmentation of zones with increased autofluorescence in the junctional zone of parapapillary atrophy. Physiological Measurement, 2009(30), pp. 505-516, 2009
[2] NIXON, M. a A. AGUADO. Feature Extraction and Image Processing, Elsevier, 2005

Termín zadání:	9.2.2015	***Termín odevzdání:***	22.5.2015

Vedoucí práce: doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.
Konzultanti diplomové práce:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové 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:

Autofluorescenční obraz sítnice se snímá pomoci konfokálního laserového skenovacího oftalmoskopu a používá se pro diagnostiku glaukomu. Při glaukomu dochází k postupnému odumírání nervových buněk a může dojít k slepotě. Autofluorescence sitnice je zpusobená pigmentem lipofusciném, který způsobuje poškozovaní buněk. Cílem této práci bylo prostudovat metody vhodné pro segmentace autofluorescenčních zón a metody pro sledovaní objektů v obraze. Byl realizován algoritmus detekci autofluorescenčních zón pomoci metody narůstání regionů. Taký byla navřená a realizovaná metoda sledování autofluorescenčních oblasti sítnice.

Klíčová slova:
Autofluorescence, glaukom, segmentace obrazů, metoda narůstání regionů, metoda aktivních konturů

Abstract:
Autofluorescence retinal images are obtained with a confocal laser scanning ophthalmoscope, and used for the diagnostic of glaucoma. Glaucoma causes a gradual death of nerve cells and can cause blindness. Retina autofluorescence is caused by pigment lipofuscin, which causes cell damage. The aim of this work was to study methods suitable for segmentation of autofluorescence zones and method for tracking objects in an image. In this project was implemented algorithm of autofluorescence zone detection using method of region growing, designed and realized method for tracking autofluorescence regions.

Key words:
Autofluorescence, glaucoma, image segmentation, region growing, active contours

MOSYURCHAK, A. *Analýza autofluorescenčních snímků sítnice.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2015. 54 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D..

Prohlášení

Prohlašuji, že svůj semestrální projekt na téma Analýza autofluorescenčních snímků sítnice jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího semestrálního projektu 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 uvedeného semestrálního projektu 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 20. května 2015 podpis autora

Poděkováni

Děkuji vedoucímu semestrálního projektu doc. Ing. Radimu Kolářu, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mého semestrálního projektu.

V Brně dne 29. května 2015 podpis autora

1 Obsah

1 Obsah 5
2 Úvod 6
3 Anatomie oka 7
3.1 Oční koule 7
3.1.1 Sítnice 8
3.2 Glaukom 9
3.3 Jev autofluorescence 10
4 Metody pro segmentaci autofluorescenčních zón 11
4.1 Metoda narůstání oblastí 11
4.2 Metoda aktivních kontur 13
5 Sledování zón se zvýšenou autofluorescenci v sekvencí snímku sítnice 17
6 Praktická část 20
6.1 Předzpracování obrazu 20
6.1.1 Potlačení šumu v obraze 21
6.1.2 Korekce nerovnoměrnosti osvětleni 21
6.1.3 Mediánová filtrace 26
6.1.4 Detekce optického disku 27
6.2 Segmentace metodou narůstání oblasti 31
6.3 Sledováni zón se zvýšenou autofluorescencí 38
7 Diskuse dosažených výsledků 41
8 Závěr 51
9 Použitá literatura: 52
10 Seznam obrázků 53

2 Úvod

Jev autofluorescence vykazuje pigment lipofuscin, který se hromadí v lidských buňkách. Pokud osvítíme sítnici laserovým paprskem s vlnovou délkou 488 nm, dojde k jevu autofluorescence.

Zvýšená koncentrace pigmentu lipofuscinu v epitelu sítnice vede k zhoršení funkce buněk a k glaukomovému onemocnění. Glaukom je nemoc, při které dochází k postupnému poškozování a odumírání zrakových nervů. Tohle způsobuje zhoršování zraku a může dojít k úplnému oslepnutí. Proto je vývoj glaukomového onemocnění velice pomalý a člověk je schopen registrovat změnu svého vidění až v pokročilém stadiu onemocnění, kdy je léčba příliš komplikovaná a v některých případech již nemožná. Je velmi důležité, aby glaukomové onemocnění bylo diagnozováno včas, a aby bylo možné toto onemocnění výrazně potlačit. Zvýšená autofluorescence většinou se vyskytuje u pacientů s glaukomem s otevřeným úhlem. Sledování zón se zvýšenou autofluorescencí je velmi důležité pro diagnostiku nemoci a umožňuje stanovit vývoj nemoci v čase.[1]

K poškození zrakového nervu může dojit několika způsoby. Může být způsobeno vysokým nitroočním tlakem, který se projevuje tlakem na nervy. Tlak uvnitř oka je ovlivněn rovnováhou mezi tvorbou a odtokem nitrooční tekutiny. Nitrooční tlak není u všech lidí stejný. Tlak bezpečný pro jednoho pacienta, může vyvolat poškození zrakového nervu u jiného. Další možností, proč k poškození zrakového nervu dochází, souvisí s tím, že umírající buňky vylučují toxické látky a ovlivňuji sousední buňky. Dalším způsobem onemocnění může být nedokonalé prokrvování sítnice oka, které vede k jejímu odumírání.

Konfokální laserový skenovací oftalmoskop (HRA II, Heidelberg Retina Angiograph) se používá ke snímání autofluorescenčních a infračervených obrazů sítnice. Pomocí systému HRA II se získá sada obrazů sítnice, kde každý obraz představuje určitou část sítnice. Tyto obrazy se pak skládají a vytvářejí plastický snímek, který představuje snímanou oblast sítnice. HRA II používá bariérový filtr pro detekci emitovaného záření kolem 500 nm po excitací argonovým laserem s vlnovou délkou 488 nm.[1]

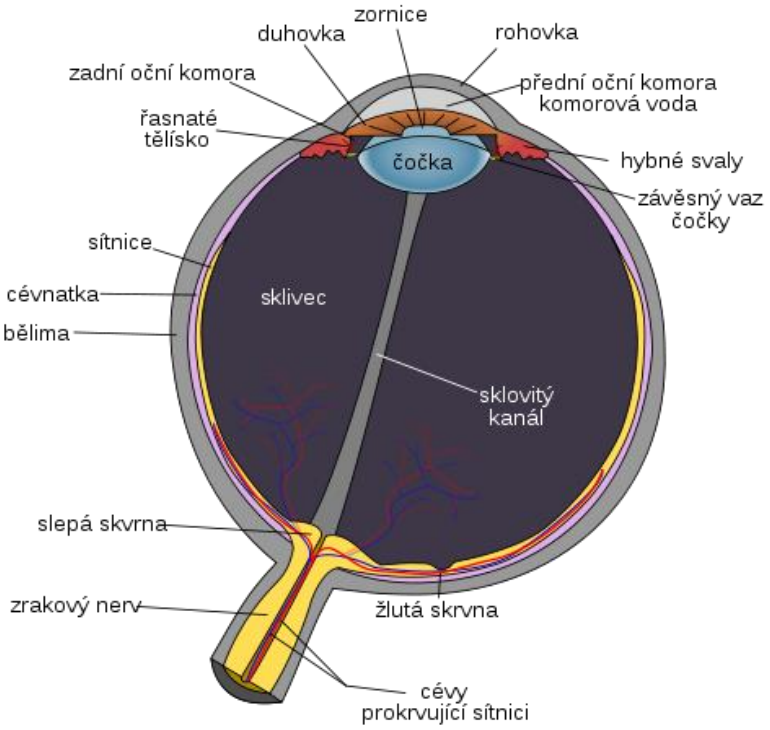
V této práci jsou popsané metody vhodné pro segmentaci autofluorescenčních zón a navržena metoda pro její sledování v sekvenci snímků sítnice. Také je realizovaná metoda segmentaci a sledování zón se zvýšenou autofluorescencí v programovacím prostředí MATLAB.

3 Anatomie oka

Struktura lidského oka se plně přizpůsobuje potřebě zaostřit paprsek světla na sítnici (latinsky retina). Všechny části oka, přes které paprsek světla prochází, jsou průhledné, aby co nejvíce zabraňovaly rozptylu dopadajícího světla. Rohovka a čočka pomáhají paprsku světla spojit a zaostřit na zadní stěnu oka – sítnici. Toto světlo pak způsobuje chemické přeměny ve světločivných buňkách, které vysílají nervové impulsy zrakovým nervem do mozku. Světlo vstoupí přes rohovku, do oblasti vyplněné komorovou vodou, a dopadá na čočku skrz panenku. Ta se pomocí svalů roztahuje a zužuje, čímž reguluje množství procházejícího světla. Pomocí svalů je také regulována čočka, která zaostřuje paprsky, aby se sbíhaly přesně na sítnici, kde vytvářejí převrácený obraz. Celá zbývající oblast oka je vyplněna sklivcem, který udržuje v oku stálý tlak a tím i tvar. [3]

3.1 Oční koule

Oční koule je uložena v obličejové části lebky, v očnici. V hrotu očnice vystupuje z oka zrakový nerv a vstupuje tepna přivádějící krev pro celé oko, vstupují zde také nervy pro oční svaly. Tyto útvary jsou uložené v tukové tkáni. Oční koule má, přibližně kulovitý tvar (nejdelší je předozadní směr – oční osa) a její stěna je rozdělena do tří vrstev: povrchová (bělima, rohovka), střední cévnatá (cévnatka, řasnaté tělísko, duhovka) a vnitřní (světločivná sítnice).[3]



Obrázek 1 Průřez lidského oka[3]

Bělima – tuhá, bílá vazivová blána. Tloušťka se pohybuje kolem 0,3 – 2 mm a zaujímá 4/5 povrchu oční koule. Do bělimy se upínají okohybné svaly, vzadu jí prostupuje zrakový nerv a vpředu přechází v rohovku. [3]

Rohovka –průhledná kopulovitě zakřivená vrstva pokrývající přední část oka. Má tvar terčíku a na svém okraji, nazývaném limbus, přechází do neprůsvitné vrstvy. Je naprosto čirá a má lesklý povrch. Průhlednost rohovky a její optické vlastnosti umožňují světlu dosáhnout sítnice a vyvolat zrakový vjem. Základním úkolem rohovky je prostup a lom světla. Z vnitřní strany je rohovka omývána komorovou tekutinou. Z vnější strany je přes slzný film vystavena přímému kontaktu s vnějším okolím. Rohovkou neprocházejí žádné krevní cévy, proto je vyživovaná částečně výměškem slzného aparátu a částečně komorovou vodou z přední oční komory. [3]

Cévnatka - obsahuje velké množství cév a pigmentových buněk, má hnědočervenou barvu a v zadní části je tvořena cévnatkou, vpředu pak přechází v řasnaté tělísko. [3]

Řasnaté tělísko – paprsčitě uspořádaný val z hladké svaloviny. Na povrchu má četné výběžky, na něž je tenkými vlákny zavěšena čočka. Stahy svalstva mění zakřivení svalstva, což způsobuje potřebné zakřivení čočky. Z krve protékající vlásečnicemi řasnatého tělíska se filtrací tvoří komorová voda, která vyživuje bezcévnaté části oka a udržuje jeho tvar. [3]

Duhovka má tvar kruhového terčíku z hladkého svalstva. Kruhový otvor uprostřed duhovky se nazývá zornice. Paprsčitě nebo kruhovitě uspořádaná svalovina rozšiřuje nebo zužuje zornici. V duhovce jsou pigmentové buňky, jejichž množství a hloubka uložení určují její barvu. Tato pigmentová vrstva zabraňuje, aby paprsky vnikaly do oka jinudy než zornicí. [3]

Čočka je průhledná bikonvexní (ve tvaru čočky) struktura v oku, které spolu s rohovkou láme světlo, aby mohlo být zaměřeno na sítnici. Princip funkce je podobný funkci uměle vyrobených kontaktních čoček. Optická mohutnost lidské čočky je asi 15 dioptrií, což je přibližně čtvrtina celkové optické mohutnosti oka. Hlavní funkcí čočky je akomodace. [3]

Sítnice – jemná několikavrstevná blána silná asi 0,2 – 0,4 mm. Jsou v ní umístěny jednak gangliové a bipolární nervové buňky jednak vlastní smyslové buňky sítnice tyčinky a čípky. [3]

3.1.1 Sítnice

Sítnice je vícevrstvá membrána silná 0,10 až 0,23 mm. Transformuje světelnou energii na chemické impulsy, které jsou přenášeny optickým nervem do mozku. Tuto transformaci provádějí tyčinky a čípky. Tyčinky reagují na intenzitu osvětlení a čípky umožňují barevné vidění. Sítnice je vyživována dvěma druhy cév: sítnicovými a cévnatkovými. Centrální sítnicová artérie (svazek očních artérií) vstupuje do bulbu skrze optický nerv. Cévnatka

představuje síť porézních cév, které jsou odděleny od sítnice vrstvou retinálního pigmentového epitelu. Vlastní sítnice je průhledná. Na sítnici je dobře zřetelná slepá skvrna, neboli optický disk, kudy vystupuje zrakový nerv a vstupuje. Optický disk je důležitý bod při vyšetření oftalmoskopem - jestli je propadlý tak je zvýšený nitrooční tlak, jestli je naopak vystouplý, je zvýšený tlak nitrolebeční, což může být způsobeno mnoha patologickými procesy v lebce, které mohou být život ohrožující. Druhým útvarem je takzvaná centrální jamka obsahující žlutou skvrnu. Žlutá skvrna je místem maximální ostrosti vidění, obsahuje pouze čípky a ostatní vrstvy sítnice jsou odsunuty stranou. Paprsky jdoucí z předmětu, na nějž se oko soustředí, jsou zaostřovány právě sem. [3]

3.2 Glaukom

Glaukom je generický název, kterým dnes označujeme široké spektrum očních chorobných stavů. Bohužel však není tento termín používán jednotně, což může být někdy zavádějící. V běžné oftalmologické praxi se osvědčilo používat termínu glaukom u stavů, při kterých dochází k progresivní ztrátě gangliových buněk sítnice a jejich axonů, což se projevuje změnami zrakových funkcí, především zorného pole. U převážné většiny pacientů je hlavním rizikovým faktorem vyšší nitrooční tlak. Hodnoty nitroočního tlaku jsou u zdravé populace přibližně 16 mm Hg (1,7 kPa), u žen bývá nitrooční tlak nepatrně vyšší. Glaukom se jako příčina slepoty ve vyspělých zemích řadí na druhé místo hned za věkem podmíněnou makulární degeneraci. Předpokládá se, že ve světě trpí některou z forem glaukomového onemocnění až 90,8 miliónů lidí. V evropské populaci má glaukom s otevřeným úhlem asi 6,9 miliónů lidí a glaukom s uzavřeným úhlem asi 0,6 miliónů lidí. Mezi rizikové faktory glaukomového onemocnění patří kromě vysokého nitroočního tlaku též věk, rodinná zátěž, rasa (vyšší výskyt glaukomu v černošské populaci), pohlaví, léčba kortikosteroidy, chemoterapie a radioterapie. O vztahu mezi glaukomem a některými celkovými chorobami se dlouhodobě diskutuje. [4]

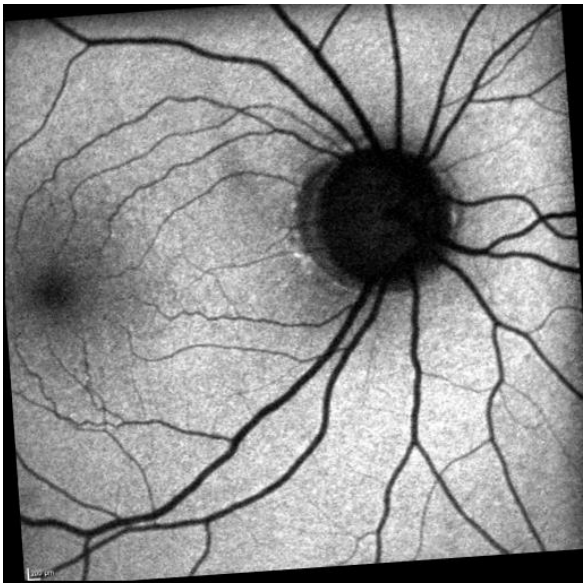
Glaukomy dělíme podle stavu komorového úhlu na glaukom s otevřeným úhlem a glaukom s uzavřeným úhlem.

Glaukom s otevřeným úhlem je nejčastější forma glaukomu. Tvoří 70% všech glaukomů a postihuje přibližně 2% populace nad 40 let věku. U černochů je 4× častější. Nitrooční tlak se zvyšuje pomalu bez subjektivních obtíží a jeho zvýšení není spojeno s jiným očním onemocněním. Nástup změn na papile a změn zorného pole trvá léta až desetiletí. Neléčený glaukom vede k těžkému postižení až ke slepotě. [5]

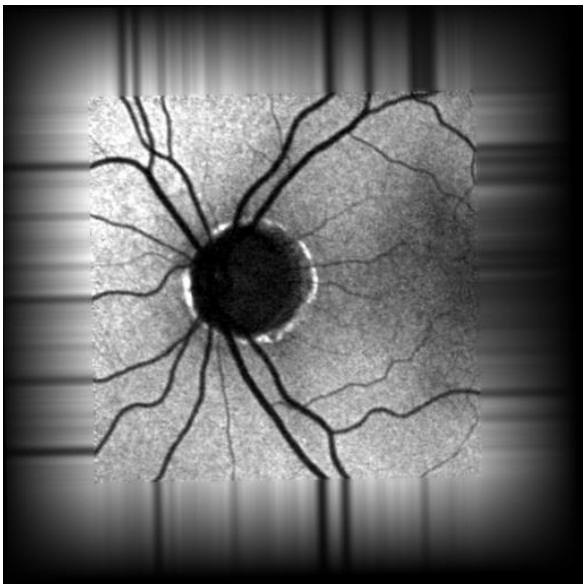
Glaukom s uzavřeným úhlem vzniká u predisponovaných očí, které jsou menší, mají mělčí přední komoru a relativně větší čočku. Uzávěrem štěrbiny mezi čočkou a duhovkou vznikne funkční pupilární blok, který vyvolá uzávěr komorového úhlu naléhající duhovkou. [5]

3.3 *Jev autofluorescence*

V této práci jsou použité snímky sítnice, získané pomoci laserového skenovacího oftalmoskopu (HRA, Heidelberg Retina Angiograph) v autofluorescenčním režimu. V případě zvýšeného nitroočního tlaku, dochází k velkému riziku glaukomového onemocněni. Při tom dochází k atrofii fotoreceptorů a zvýšeni koncentraci lipofuscinu v buňkách sítnici. Při ozářeni sítnici laserovým paprskem s vlnovou délkou 488 nm u lipofuscinu dojde k jevu autofluorescence. Lipofuscin značné emitovat světlo s vlnovou délkou kolem 500 nm. Vyzařované světlo detekuje se laserovým oftalmoskopem. Na výsledných obrázkách oblast se zvýšenou autofluorescenci se projeví jako segment s vyšší intenzitou jasu.[1] Obrázky 2 a 3 ukazují výsledné autofluorescenční snímky.



Obrázek 2 Autofluorescenční obraz sítnice



Obrázek 3 Autofluorescenční obraz sítnice

4 Metody pro segmentaci autofluorescenčních zón

4.1 Metoda narůstání oblastí

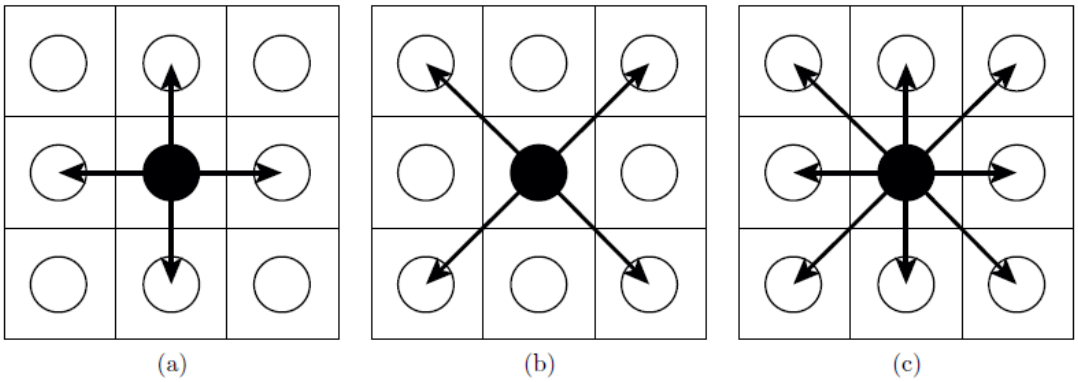
Metoda narůstání oblastí je regionově orientovaná metoda segmentace obrazu. Tak je klasifikována jako metoda segmentace obrazu na základě pixelů, protože zahrnuje výběr počátečních semen bodů.

Tato segmentační metoda kontroluje počáteční inicializovaný pixel se sousedními pixely a určuje, zda sousední pixely by měly být přidány do regionu. Tento proces se opakuje dál stejným způsobem.

Prvním krokem v metodě narůstání oblasti se vybírá řada semínek. Výběr semínek je založen na nějakém kritériu, které je zvolené uživatelem (například intenzita pixelů, atd.). Iniciační body lze do obrazu vložit automaticky nebo je možné zadat manuálně. Po inicializaci hledaná oblast je stanovena pozicemi semínek. Regiony pak rostou z těchto semínek na sousední body v závislosti na kritériu. Kritériem může být, například, intenzita pixelů, úroveň šedi textury, nebo barva.

Vzhledem k tomu, že oblasti rostou na základě kritéria, je obrazová informace velmi důležitá. Například, v případě, že kritériem byla prahová hodnota intenzity, znalost histogramu obrazu je možné použít k určení vhodné prahové hodnoty pro stanovení kritéria.

Jsou různé způsoby prohledáváni okolí u segmentace metodou nárůstů regionů: horizontální a vertikální čtyřokolí, diagonální čtyřokolí, osmiokolí (viz obr. 4)



Obrázek 4 Způsoby prohledávaní okolí [7]

Kritéria pro přidání pixelů mohou byt statické nebo dynamické. U statického kritéria parametr testovacího pixelu je porovnán s parametrem kritéria podle vzorce [7]

$$|p_i - p_j| \leq T, \tag{4.1}$$

kde p_i je jas semínka, p_j je jas testovacího pixelu, T je práh. V případě, že testovací pixel vyhovuje této podmínce, je přidán do narůstající oblasti a v dalším kroku bude testovacím semínkem, kolem kterého se bude hodnotit okolí. U dynamického kritéria je testovací pixel testován se střední hodnotou všech pixelů, které byly přidané do narůstající oblasti, nebo s hodnotou naposledy přidaného pixelu.

$$|p_i - p_j| \leq T, \tag{4.2}$$

kde p_i je hodnota jasu naposledy přidaného pixelu, p_j je hodnota jasu testovacího pixelu, T je práh.

$$|\bar{p_s} - p_j| \leq T, \tag{4.3}$$

Kde p_s je střední hodnota jasu pixelů, které byly přidané k narůstající oblasti, p_j hodnota testovacího pixelu, T je práh.[7]

Výhodou dynamického kritéria je možnost správně segmentovat nehomogenní oblast, kde jas pixelů se mění, například z důvodu nehomogenního osvětlení. Algoritmus se zastaví, když žádné pixely nevyhovují zadaným kritériím, například, když pixely silně změní své parametry. Na obrázku 6 je možné vidět výsledek segmentaci obr. 5 metodou nárůstu regionů s prahem 190 - 255.

Obrázek 5 Originální obraz [3]

Obrázek 6 Segmentovaný obraz [3]

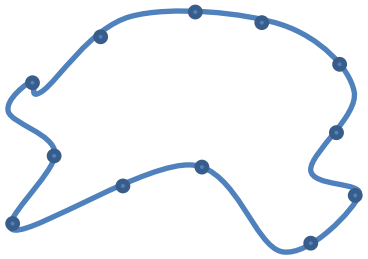
Je vhodné nejprve vstupní obraz odfiltrovat mediánovým filtrem, aby potlačit artefakty, které mohou ovlivnit segmentace. Artefakty mohou vzniknout například v důsledků JPEG komprese.

Algoritmus je možné rozdělit na čtyři základní časti[7]:

1) Inicializace počátečních pixelů (semínek)
2) Testovaní okolí kolem semínka
3) Rozhodnutí o přidání pixelu podle zvoleného kritéria
4) Konec algoritmu

4.2 Metoda aktivních kontur

Algoritmus aktivních kontur byl poprvé publikován v roce 1988 v prací M. Kaasa. Aktivní kontury jsou úplně jíné přístupy k segmentaci obrazů. Tato metoda umožňuje detekovat složité geometrické objekty (např. na rozdíl od Houghove transformaci). Hlavním nástrojem této metody je had. Had je uzavřený obrys, který se skládá s kontrolních bodů. Počáteční had může být stanoven náhodně, manuálně nebo inicializovat se na základě analýzy obrazu tak, aby oblast, kterou chceme detekovat, měla nízkou energii. Had se mění tak, že v každém kroku se jeho energie snižuje. Metodu aktivních kontur je možné srovnat s balonem. Jestli je tlak uvnitř balónu menší než vnější tlak, balon se zmenšuje. Balon se přestane měnit , pokud vnitřní a vnější tlak jsou stejné, a celková energie tlaku je nulová.[2]



Obrázek 7 Model aktivního konturu

Hlavní myšlenkou metody aktivních konturu je minimalizace energetického funkcionalu E_{snake}, který prezentuje zobrazení z prostorů parametrických křivek do R. Funkcionál E_{snake} popisuje pravděpodobnost výskytu konkrétní kontury v obraze. Aktivní konturu je možné popsat takto:

$$E_{snake} = \int_{s=0}^{1} E_{int}\big(v(s)\big) + E_{image}\big(v(s)\big) + E_{con}(v(s))ds, \qquad (4.4)$$

kde E_{int} je vnitřní energie, E_{snake} je energetický funkcionál, E_{con} je nátlaková energie, v(s) je parametrická křivka, kterou je reprezentovaná aktivní kontura. Funkcionál integruje pravděpodobnost každého bodu s kontury v(s).[2]

Vnitřní energie kontroluje přírodní chování hada a zajištuje hladkost ve smyslu nízkých hodnot prvních a druhých derivaci v(s). Derivace prvního řádu určuje energii roztahování, která je elastická, protože vysoké hodnoty derivace znamenají vysokou míru změn v dané oblasti konturu. Derivace druhého řádu určuje energii díky ohýbání, zakřivení energii. Vnitřní energii možná popsat jako,

$$E_{int} = \alpha(s)\left|\frac{dv(s)}{ds}\right|^2 + \beta(s)\left|\frac{d^2v(s)}{ds^2}\right|, \qquad (4.5)$$

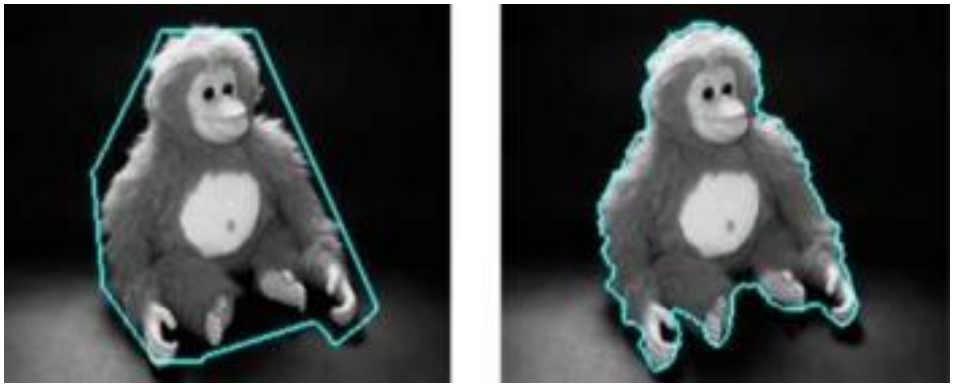
váhové funkce α(t) a β(t) určují, jak má být aktivní kontura hladká a pružná. Mají vliv na tvar aktivní kontury v prudkých zatáčkách. Tak je možné regulovat, jestli se kontura bude lepit na hrany v obraze, nebo spíše zachová hladký tvar. Vnitřní energie je popsaná vztahem:

$$E_{image} = w_{line}E_{line} + w_{edge}E_{edge}w_{term}E_{term}, \qquad (4.6)$$

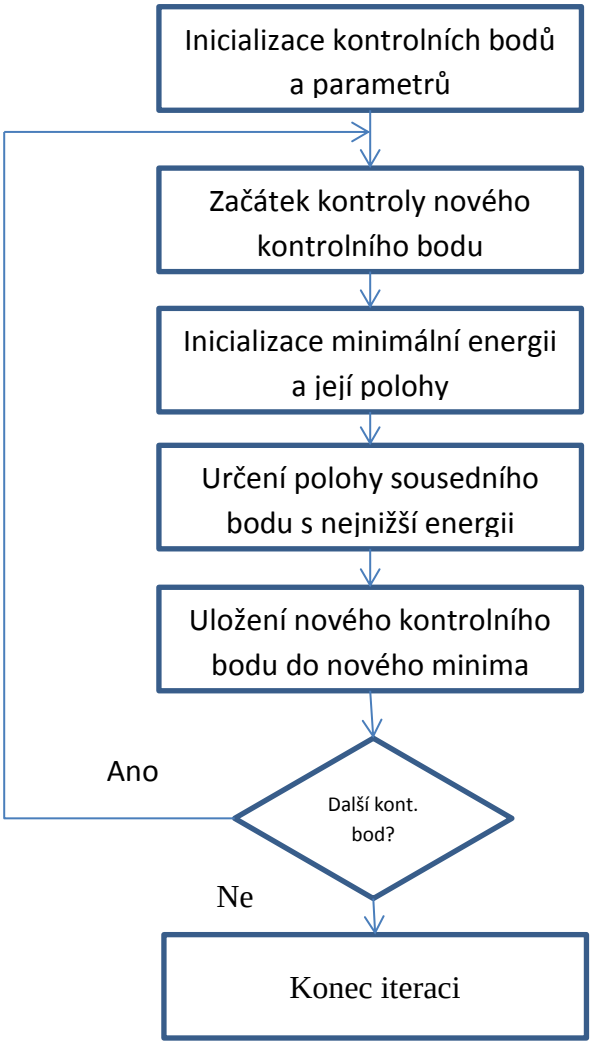
Složky E_{line}, E_{edge} a E_{term} určují snadno popsatelné detaily obrazu. E_{line}, definuje přitažlivost kontury k tmavším, nebo světlejším oblastím obrazu v závislosti na váhovém

koeficientu w_{line} a je efektivní v případě tenkých hran mezi oblastmi se stejnou intenzitou. E_{edge} přitahuje kontury k hranám, tzn. k mistrům s vysokou hodnotou velikosti gradientu.[2]

Energetické minimum (největší gradient) se může méně výrazně vyskytovat ve větší vzdálenosti od výchozí polohy kontury, nebo může být zastíněno šumem. Z důvodu snazší konvergence je dobré před výpočtem gradientu obraz rozmazat, nebo použit nějaký speciální hranový filtr. Úkolem E_{term} je detekovat ostré rohy a konce hran. Toho se dosahuje zkoumáním křivosti kontury. Z důvodu předpokládané přitomnosti šumu, křivost se počítá na rozmazaném obraze. Obraz lze rozmazat konvoluci s Gaussianem. Rozmazaný obraz se převadí na obraz úhlu gradientu. Jestli kontura kopíruje hladkou a rovnou hranu hodnota E_{term} je malá.



Obrázek 8 Inicializační kontura (vlevo) a výsledek segmentaci metodou aktivních konturu



Obrázek 9 Bloková schéma metody aktivních konturů

5 Sledování zón se zvýšenou autofluorescenci v sekvencí snímku sítnice

Technik pro sledování objektu v dynamickém obraze je celá řada. Podle principu se dají rozdělit do třech základních kategorií. Jedná se o kategorii bodového sledování, jádrového sledování a siluetové sledování. [10]

Bodové sledovaní

Bodové sledování možná pospat jako korespondenci detekovaných objektů, které jsou vyjádřeny pomocí bodů v posloupnosti po sobě následujících snímků. Obecně při sledování objektu vnikají problemy v případě okluze. Tento problém setrvává i v případě bodového sledování, kdy bodová korespondence může být složitým problémem. Rovněž mohou nastat komplikace v případě vstupů a výstupů objektů v průběhu sledování. Metody bodové korespondence mohou být rozděleny do dvou kategorií. První kategorie se označuje jako deterministické metody pro korespondenci. Druhou kategorií jsou statistické metody pro korespondenci.

Deterministické metody pro korespondenci vymezují cenu sdružující každý objekt ve snímku v čase [t – 1] k jednotlivému objektu ve snímku [t], užitím skupiny omezujících pohybových podmínek. V případě statistických metod pro korespondenci se jedná o využívání stavového prostoru k vyjádření vlastností objektu. Mezi tyto vlastnosti objektu mohou patřit poloha, rychlost pohybu a zrychlení objektu. V případě měření se obvykle vychází z polohy sledovaného objektu na jednotlivém snímku sekvence. Poloha je získána užitím detekčního mechanismu. Mezi metody, které se používají pro odhad stavu jednotlivého objektu patří Kalmanův filtr a částicový filtr. [9, 10]

Jádrové sledování

Algoritmy jádrového sledování pracují na principu výpočtu pohybu sledovaného objektu, který se provádí na každém snímku sekvence. Sledovaný objekt je vyjádřen pomocí oblasti, která reprezentuje tvar a vzhled cíle sledování. Tato oblast bývá nejčastěji obdélníkového nebo eliptického tvaru. Algoritmy do této kategorii se od sebe liší způsobem, jakým je vzhled objektu zastoupen. Dále se liší počtem sledovaných objektů a podle metodiky kterou je pohyb sledovaného objektu odhadován. Tyto metody mohou být rozděleny do dvou podkategorií. Jedná se o kategorii Šablon a modelů vzhledu založených na hustotě (Template and Density-Based Appearance Models) a kategorii Více pohledového vzhledu modelu (Multi-view appearance model). [9]

Nejběžnější technikou sledování objektu v tomto odvětví jádrového sledování, je technika porovnávání šablon. Jedná se o metodu hrubé síly, kterou se hledá oblast obrazu, která je podobná šabloně objektu, jenž je definovaná v předchozím snímku. Poloha šablony v současném snímku je vypočítána pomoci míry podobnosti. Obvykle je pro vytváření šablon použita intenzita obrazu nebo jeho barevné vlastnosti. Omezením pro techniku založenou na

porovnávání šablon, je její velká výpočetní náročnost v důsledku použití přístupu hrubé síly pro hledání objektu. Za účelem snížení výpočetní náročnosti se nejčastěji používá omezení prohledávacího prostoru na okolí bodu, ve kterém byl objekt nalezen na předchozím snímku. Nemusí se přitom jednat o reprezentaci objektu pomocí šablon. Pro reprezentaci sledovaného objektu může být použit barevný histogram nebo směs modelů, které mohou být vypočítány z barevných hodnot jednotlivých pixelů uvnitř obdélníkové nebo elipsoidní oblasti, ohraničující sledovaný objekt. [9]

Při modelování jednotlivých objektů není v důsledku sledování zakomponováno vzájemné působení mezi dvěma nebo více objekty. Také se zde nebere v úvahu vzájemné působení mezi objekty a pozadími objektů. Příkladem je, kdy vzájemné působení mezi objekty může vést k částečnému nebo úplnému clonění ostatních objektů. Tento problém možná řešit pomocí vrstvení obrazu. Toto řešení spočívá v užití jedné vrstvy, která je určena výhradně pro pozadí a dále užití jednotlivých vrstev pro každý objekt. Jednotlivé vrstvy se skládají z předchozího tvaru, dále z pohybového modelu a popisu daného vzhledu hladiny.[9]

Siluetové sledování

Při sledování objektu se nemusí vždy jednat o objekty, které mohou být reprezentovány jednoduchým tvarem, nýbrž tvar objektů může být daleko komplexnější. Například tvar lidské ruky není jednoduché popsat primitivním geometrickým tvarem. Sledováním a popisem složitějších geometrických tvarů se vyznačují metody, které jsou založeny na sledování siluet. Cílem těchto metod je nalezení oblasti daného objektu v každém snímku sekvence za pomoci modelu, který byl vygenerován v rámci sledování na předchozím snímku. Takový vygenerovaný model bývá nejčastěji ve formě barevného histogramu, hran objektu nebo v podobě obrysů sledovaného objektu. Siluetové sledování může být rozděleno do dvou kategorií. První kategorie se nazývá Porovnávání tvaru a druhou kategorií je Sledování obrysu. V případě metod porovnávání tvaru se v každém snímku hledá silueta cílového objektu. Oproti tomu při technikách sledování obrysu dochází k vyvíjení počáteční kontury objektu za účelem nalezení nové polohy na každém snímku sekvence. Za tímto účelem je využíváno modelů stavového prostoru nebo přímé minimalizace určité silové funkce. [9]

V případě metody porovnávání tvaru může být sledování objektu prováděno obdobně jako v případě metody porovnávání šablon, která byla zmíněna v oblasti jádrového sledování. Zde je silueta objektu s přidruženým modelem vyhledávána na každém snímku sekvence, kdy se samotné prohledávání vyhodnocuje podle míry podobnosti. Jedná se zde o podobnost mezi objektem a modelem objektu, který je vygenerován z předpokládané siluety objektu, jež je odvozena na základě předchozího snímku sekvence. Model sledovaného objektu bývá obvykle v podobě mapy hran. Tento model je znovu inicializován ihned po té, co je nalezena nová poloha cíle. Opětovná inicializace se provádí z důvodu zachycení maximálních možných změn vzhledu objektu, při přechodu mezi jednotlivými snímky. Průběžné aktualizování modelu umožňuje sledovacímu algoritmu, vypořádat se s problémy, které mohou nastat při změně osvětlení nebo při změně zorného úhlu. [9]

Metody založené na principu sledování obrysu opakovaně odvozují počáteční obrys objektu z předchozího snímku a to za účelem nalezení nové lokace na snímku současném. K odvození nového obrysu objektu je nezbytná informace o oblasti sledovaného objektu na současném snímku, která se překrývá s oblastí sledovaného objektu ve snímku předchozím. Sledování pomocí odhadování obrysu může být provedeno užitím dvou odlišných technik. První technikou je použití modelu stavového prostoru k vytváření modelů tvaru obrysu a modelů pohybu. Druhá technika je založena na odhadování obrysu za pomocí minimalizace důraznosti obrysu. Toho je dosaženo užitím přímých minimalizačních technik, jako může být například gradient sestupu. [9]

Sledování autofluorescenčních oblastí

Při segmentaci metodou nárůstu regionů se poloha zón se zvýšenou autofluorescencí stanovuje ručně. Pro každou segmentovanou oblast se určuje pixel z této oblasti, který se bude používat jako semínkový bod pro segmentaci dané oblasti v dalším obrázku. Poloha pixelů p_i se určí podle vztahu:

$$x_s = \sum_1^n \frac{x(1)+x(2)+\cdots+x(n)}{n}, \tag{5.1}$$

$$y_s = \sum_1^n \frac{y(1)+y(2)+\cdots+y(n)}{n}, \tag{5.2}$$

kde x_s a y_s jsou souřadnice semínkového bodů, x a y prezentují souřadnice každého pixelu segmentované oblastí a n je počet pixelů v segmentované oblasti. Musí byt splněná podmínka, že všechny obrázky jsou stejně zarovnané. V případě, že plocha AF regionů je malá, a obrázky v obrazové sekvenci jsou posunuté, může dojít k tomu, že semínkový pixel trefí mimo AF oblast. Vzájemný posuv obrázků, které byly použité pro testováni realizované metody, je přibližně na pět pixelů.

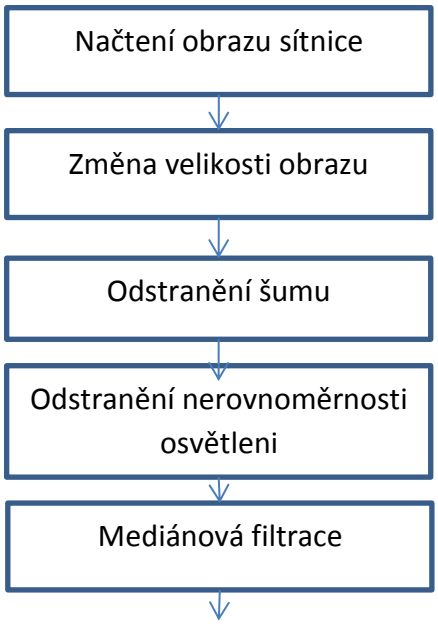
V této práci byl navřen vlastní algoritmus sledování AF regionů, který je popsán v kapitole 6.3.

6 Praktická část

V této kapitole je popsán postup zpracování obrazu a vytvoření algoritmu pro segmentaci autofluorescenčních oblastí ve snímku sítnice.

6.1 Předzpracování obrazu

Na začátku je vhodné obraz předzpracovat. Zpravidla jde o potlačení šumu v obraze a jasovou korekci, tj. odstranění nerovnoměrnosti osvětlen. Takto předzpracovaný obraz by měl přinést lepší výsledky v dalším zpracování obrazu. Bloková schéma je znázorněna na obr. 10.



Obrázek 10 Bloková schéma etapu předzpracování

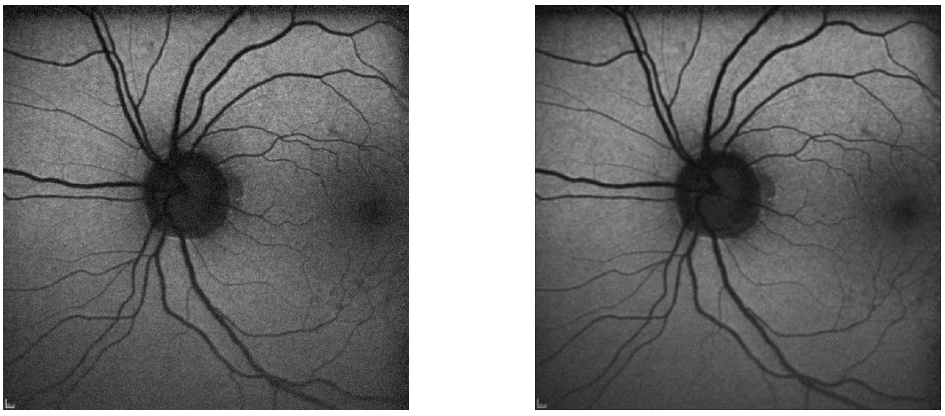
Výsledné obrazy mají různé velikosti, a to 512 x 512, 768 x 768, 1024 x 1024 nebo 1536 x 1536 pixelů. Pří dalším zpracování je nutné, aby byly obrazy pouze v jedné velikosti. Většina obrazů má velikost 768 x 768 pixelů, proto, aby maximálně zachovali kvalitu obrazu a zmenšili vpočtení dobu algoritmu, všechny obrazy byly převedené na velikost 768 x 768 pixelů. Využijeme k tomu funkci v prostředí MATLAB *imresize*, která převzorkuje obraz na menší velikost, nebo přidá mezí pixely obrazu nulové pixely a pak pomocí bikubické interpolace vytvoří nový obraz zadané velikosti.

6.1.1 Potlačení šumu v obraze

Dalším úkolem je potlačení šumu v obraze. Hlavním úkolem při potlačeni šumu je snížení jeho rozptylu, a při tom musí být co nejvíce zachována užitečná informace v obrazu. Pro filtraci obrazu sítnice byla použita lokální filtrace. Lokální filtrace obrazu je založena na metodě filtrace obrazu, které k výpočtu nové hodnoty pixelu používá malé okolí pixelu, který se zpracovává. Pro lokální filtrace se používají prostorové filtry, které jsou popsány konvoluční maskou**.** Výsledkem filtrace je nová hodnota pixelů, která zapisuje na místo jednoho pixelu ze zpracovaného okolí, a představuje konvoluce masky a okolí obrazu pod maskou. Velikost masky byla vybraná 3 x 3 pixely, což potlačí šum a minimálně rozmaže obraz. Konvoluční matice *h* je daná vztahem:

$$h = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} /9, \tag{6.1}$$

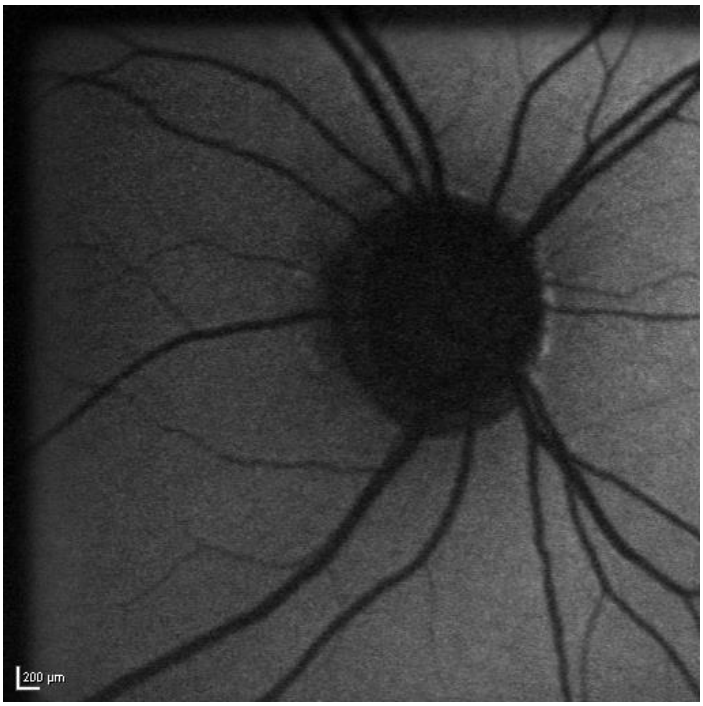
Aplikace této metody vede k potlačení vyšších frekvencí obrazové funkce, a proto dochází k rozmazání obrazu. Na obr. 11 je zobrazen originální obraz a výsledek filtraci.



Obrázek 11 Originální obraz (vlevo) a filtrovaný obraz (vpravo)

6.1.2 Korekce nerovnoměrnosti osvětleni

Při vytváření obrazů dochází k situaci, kdy se v obraze výrazně projevuje nerovnoměrné osvětlení. Toto zkreslení může se projevit tak, že obraz je jasnější ve svém středu a směrem ke krajům snímku hodnoty jasu se snižují. V jiném případě může být snímek tmavší na jedné straně a na druhé straně naopak světlejší. Většinou je nerovnoměrné osvětlení nežádoucí a je nutné jej odstranit pro následné zpracování obrazu. Ve své práci jsem pro odstranění nerovnoměrného osvětlení použil ekvalizaci histogramu.



Obrázek 12 Projev nerovnoměrnosti osvětlení v obraze

Pod ekvalizací histogramu rozumíme vyrovnání histogramu. Jestliže je histogram obrazu vyrovnán, četnosti všech jasových úrovní jsou přibližně stejné. U digitálních obrazů není možné dosáhnout ideálního rovného histogramu, protože je v nich málo jasových úrovní a mnoho pixelů.

Proměnné je potřeba normalizovat v intervalu kde hodnota *r = 0* odpovídá černé barvě a hodnota *r = 1* odpovídá barvě bílé. Pro r=<0;1> hledáme transformaci ve tvaru[8]:

$$s = T(r), \tag{6.2}$$

Transformační funkce musí splňovat podmínky jednoznačnosti. Podmínka jednoznačnosti *T (r)* zajišťuje existenci zpětné transformace a je nutná. Podmínka monotónnosti zajišťuje uspořádání hodnot výstupního obrazu. Uspořádání výstupního hodnot bude vzestupně od *r = 0* po *r = 1*, tedy od černé barvy k bílé. Zpětnou transformaci provedeme pomocí rovnice[8]:

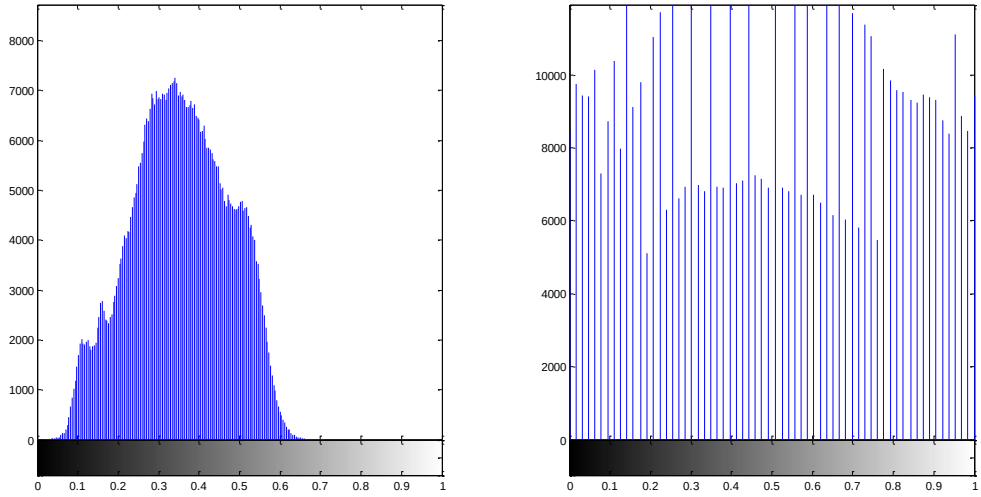
$$s = T^{-1}(r), \tag{6.3}$$

Na jasové úrovně v intervalu *r* = <0;1> lze pohlížet jako na statisticky náhodnou veličinu, kterou lze popsat pomocí funkce hustoty pravděpodobnosti. Jestli p_r *(r) a* p_s *(s)* jsou funkce hustoty pravděpodobnosti náhodných veličin *r* a *s* kde p_r a p_s jsou různé funkce. Dále nechť $p_r(r)$ a *T(r)* jsou známy, pak funkce hustoty pravděpodobnosti $p_s(s)$ transformované proměnné *s* můžeme získat užitím vztahu:

$$p_s(s) = p_r(r) \left|\frac{dr}{ds}\right|, \tag{6.4}$$

Hodnotu p_s (s), funkce hustoty pravděpodobnosti proměnné *s*, získáme užitím vybrané transformační funkce na jasovou úroveň funkce hustoty pravděpodobnosti vstupního obrazu p_r (*r*). Na obr. 13 můžeme vidět vstupní obraz a obraz po ekvalizaci. Na obrázku 14 jsou znázorněny histogramy, původního obrázku a ekvalizovaný histogram.

Obrázek 13 Vstupní obraz (vlevo) a obraz po ekvalizaci histogramu (vpravo)

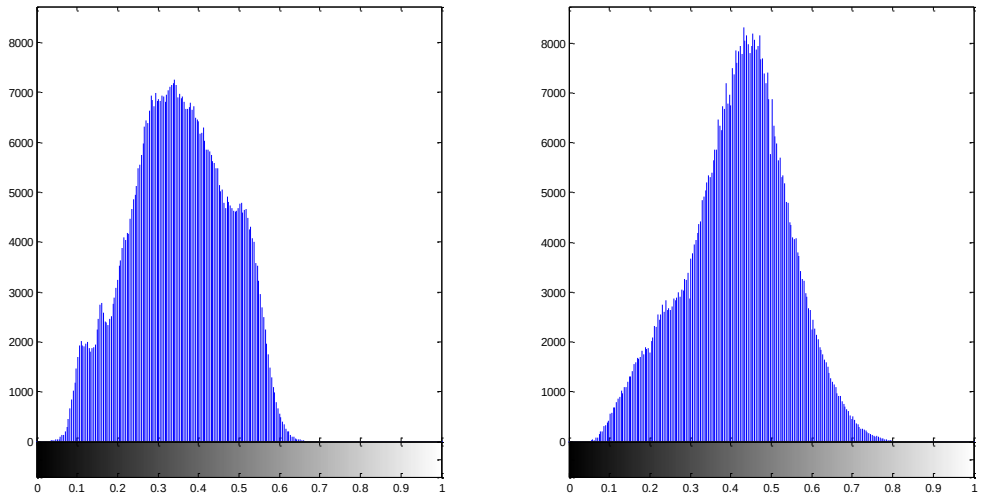


Obrázek 14 Histogram vstupního obrazu (vlevo) a ekvalizovaný histogram

Výsledné obrazy nejsou příliš vhodné pro segmentaci autofluorescenčních oblasti a proto byla použita modifikovaná metoda ekvalizace histogramu algoritmus kontrastní lokální adaptivní ekvalizace histogramu (CLAHE). Tato metoda byla popsaná v roce 1994 K. Zuiderveldem. Metoda CLAHE je založena na rozdělení obrazu do několika regionů, který se ne překrývají. V těchto regionech jsou zjišťovány histogramy, dál na základě požadovaného

limitu na zvýšení kontrastu získán clip limit. Histogramy jsou následně přepočítávány, omezením hranicí je tedy specifikovaný clip limit. Následně je použita lineární kombinace z výsledků od 4 nejbližších regionů pro mapování odstínů šedi. Na obr. 15 a obr. 16 jsou ukázané vstupní obrázky a obrázek po ekvalizaci metodou CLAHE a jejích histogramy.[11]

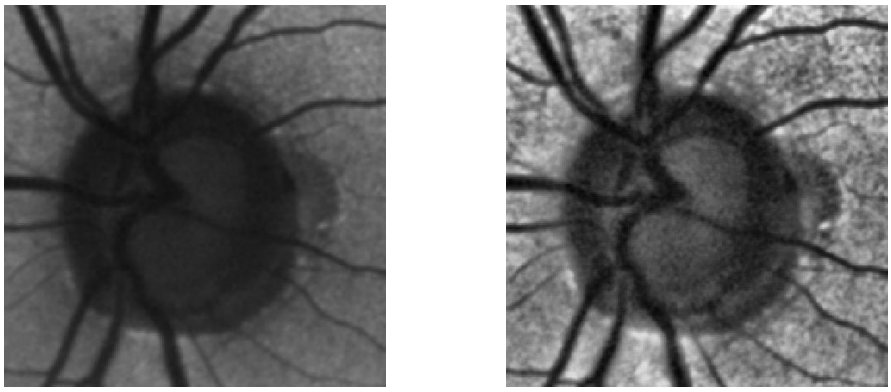
Obrázek 15 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s ekvalizovaným histogramem metodou CLAHE (vpravo)



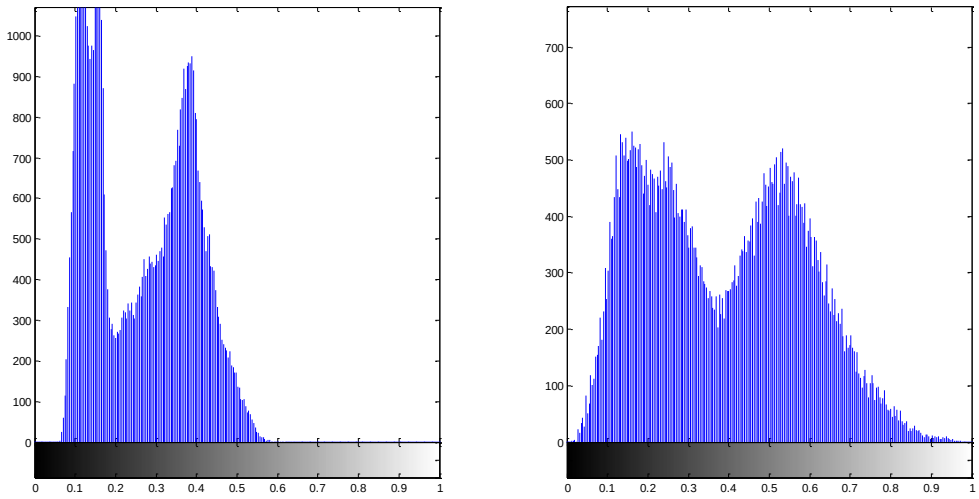
Obrázek 16 Histogram vstupního obrazů (vlevo) a ekvalizovaný histogram metodou CLAHE (vpravo)

Pro zlepšení kontrastu autofluorecsenčních oblastí byla použita zvláštní ekvalizace oblasti kolem optického disku s počtem regionů 8 x 8 a parametrem „clip limit“ 0,01. Na obrázku 19 můžete vidět, že po zpracování metodou CLAHE se výrazně zvýší kontrast autofluorescenčních oblasti. Pro pozadí s 80 x 80 regionů a parametrem „clip limit“ 0,005.

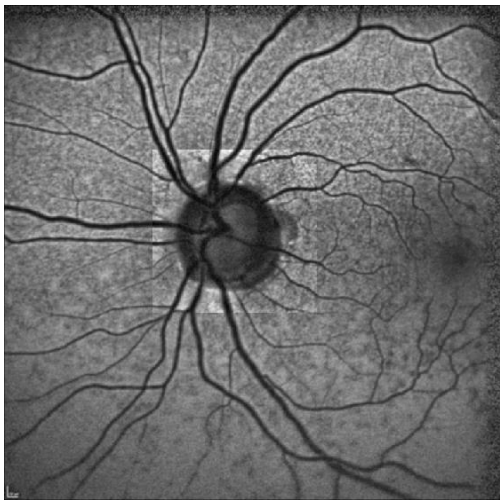
Histogram pozadí, z důvodů velkého počtu regionů není vyrovnán, při tom nerovnoměrnost osvětlení je úplně odstraněno, což zlepšuje vizuální zobrazení obrazu sítnice.



Obrázek 17 Vstupní obraz (vlevo) a ekvalizovaný obraz (vpravo)



Obrázek 18 Histogram vstupního obrazu (vlevo) a histogram po zpracovaní metodou CLAHE (vpravo)



Obrázek 19 Vysledný obraz po korekci nerovnoměrnoho osvětleni

6.1.3 Mediánová filtrace

Artefakty představené výraznějšími přechody mohou zastavit segmentace metodou narůstání oblasti. A proto je vhodné použít mediánovou filtraci pro odstranění těchto artefaktu.

Mediánové filtry jsou nelineární filtry založené na teorii seřizovacích statistik. Nechť je X náhodnou veličinou. Medián M je hodnota, pro kterou je pravděpodobnost jevu x < M rovna jedné polovině. Výpočet mediánu pro diskrétní obrazovou funkci je jednoduchý. Vzestupné hodnoty jasu se uspořádají v lokálním okolí a medián se určí jako prvek, který je uprostřed této posloupnosti. Aby se snadno určil prostřední prvek, používají se posloupnosti s lichým počtem prvků. Pro mediánovou filtraci byla použita maska o rozměru 3x 3 pixely.

$$\begin{bmatrix} 123 & 48 & 55 \\ 67 & 250 & 158 \\ 111 & 200 & 105 \end{bmatrix}$$

⇩

[48 55 67 105 111 123 158 200 250]

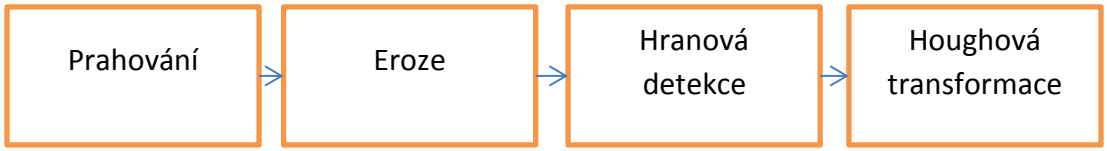
⇩

111

Obrázek 20 Mediánový filtr

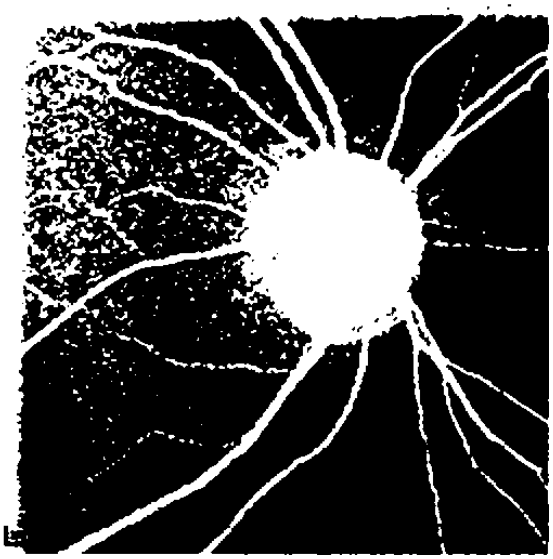
6.1.4 Detekce optického disku

Detekce optického disku se používá pro ekvalizaci obrázku v okolí optického střediska, což výrazně zlepšuje zobrazení autofluorescenčních oblasti. Pro detekci optického disku se používá Houghová transformace. Algoritmus detekce je znázorněn na obrázku 21.



Obrázek 21 Postup detekce optického disku

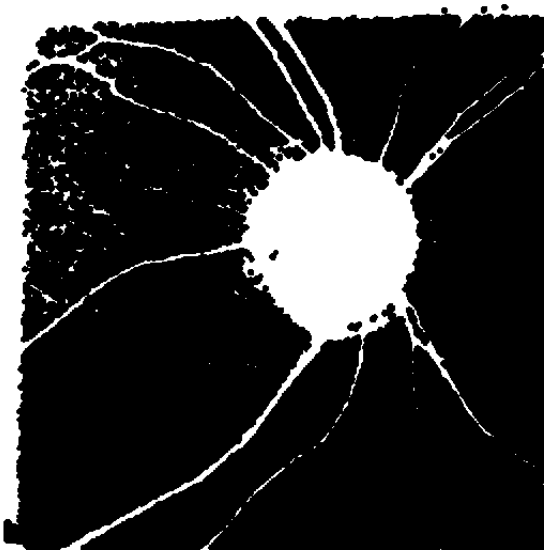
Optické centrum a cévy jsou v obrazu tmavé. Pomocí prahování můžeme oddělit optický disk od pozadí. Práh se určí jako střední hodnota intenzity obrazu. Výsledek prahování je znázorněn na obrázku 22.



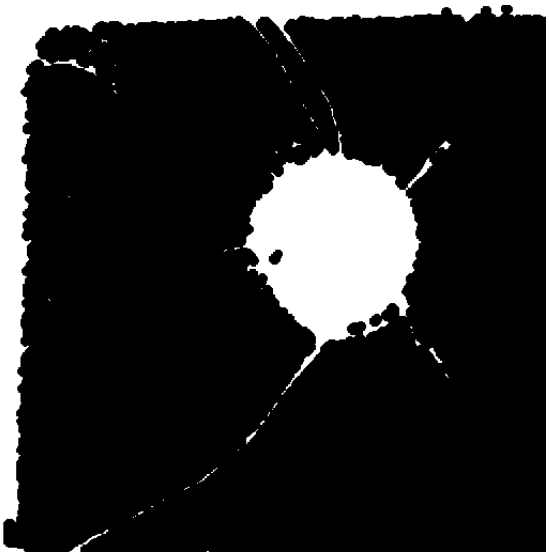
Obrázek 22 Výsledek práhováni

Ve výsledném binárním obraze zůstaly cévy se stejnou hodnotou intenzity jako optický střed. Cévy se odstraní pomocí eroze. Eroze se může definovat jako posouvání strukturního elementu po obrazu. Strukturní element se posouvá po obraze, a pokud pod všemi prvky strukturního elementu se hodnota obrázku rovná 1, do výsledného obrazů se zapíše jednička. Eroze se aplikuje několikrát, a na výstupním obrazu dojde k odstranění těchto objektů. V prostředí MATLAB, eroze byla provedena pomocí funkce *imerode.*

Strukturní element byl určen, jako *line*, s délkou 3, a úhly 0^0, 45^0, 90^0, 135^0. V realizované metodě se eroze opakuje třikrát. Na obrázku 23 – 25 jsou zobrazené výstupní obrázky eroze. V průběhu eroze se zmenší samotná černá skvrna. Pro dosažení původní velikosti optického disku použijeme dilataci. Dilatace se provádí tak, že v obraze se invertuje intenzita obrázku a opět se aplikuje eroze se stejnými parametry.



Obrázek 23 Výstupní obraz eroze po 1. kroku



Obrázek 24 Výstupní obraz eroze po 2. kroku

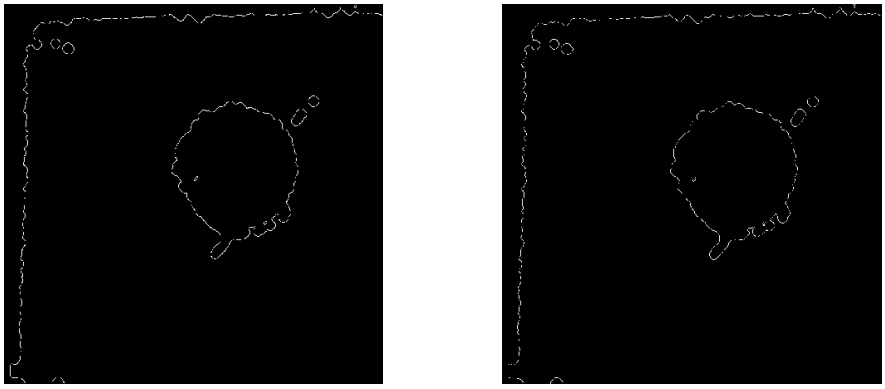
Obrázek 25 Výstupní obraz eroze po 3. kroku

V dalším kroku se provede hranová detekce obrazu, pomocí které se najdou strmé přechody intenzity jasu v obrazu. Hranový detektor se definuje jako matice. Výstupy různých hranových detektorů jsou podobné. Pro detekci hran byl použit Prewittův a Sobelův operátor.

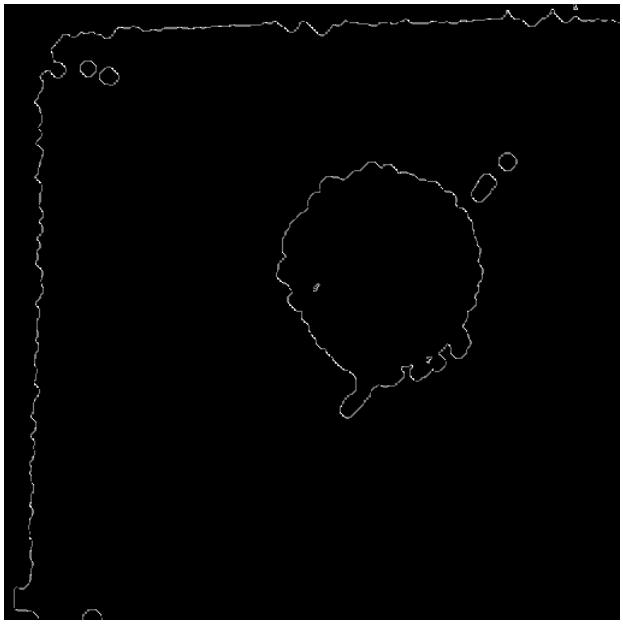
$$h = \begin{matrix} 1 & 1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & -1 \end{matrix}, \tag{6.5}$$

$$h = \begin{matrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{matrix}, \tag{6.6}$$

Konvolucí původního obrázku a matici detektorů dostaneme výsledný obraz s označenými hranami. Detekce probíhá ve směru x a směru y. Detekce ve směru x aplikuje se pomoci transponovaného operátoru. Pro zvýraznění hranice optického disku, na výstup eroze se aplikují dva hranové detektory a jejich výsledky sečtou.[13] Na obrázku 27 je zobrazen výsledek detekce hran.



Obrázek 26 Vystup Prewittůvá(vlevo) a Sobelůvá(vpravo) operatorů



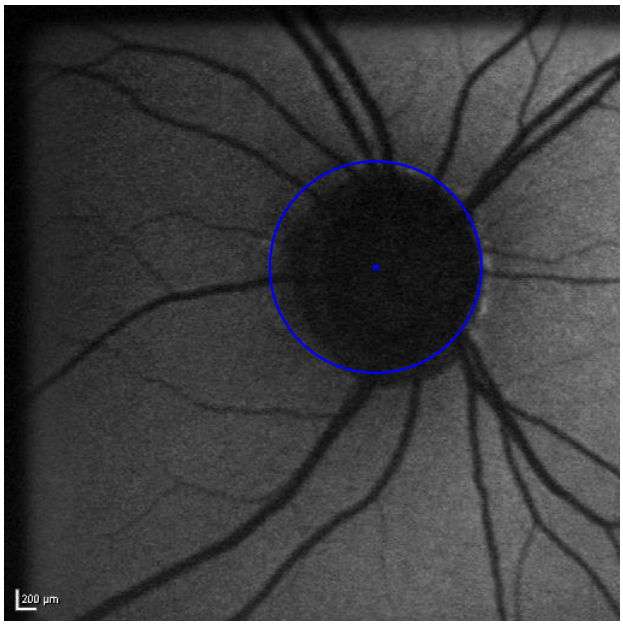
Obrázek 27 Výstup hranové detekce

Samotný optický disk se hledá pomocí Houghové transformaci. Houghová transformace se definuje jako metoda pro nalezení parametrického popisu objektů v obrazu. Tato metoda se používá pro detekci v obrazu jednoduchých objektů (přímky, kružnice atd.). Vstupem do Houghové transformace je binární obraz. Optický disk můžeme považovat za kružnici, tak že parametrický prostor navržené metody je třírozměrný, protože podle obecné rovnice kružnice je popsána třemi parametry:

$$y^2 = (x - x_0)^2 + (y - y_0)^2, \tag{6.7}$$

kde, x_0 a y_0 jsou souřadnice středu kružnice a y je poloměr kružnice.

Na začátku se vytvoří akumulátor, ve kterém se budou ukládat výsledky detekcí. Dále prochází obrázkem, bod po bodu a v případě, že se hodnota intenzity obrazu rovná 1, aplikuje se rovnice kružnice. V případě, že se souřadnice středu a jiné body kružnice nacházejí v rozmezí obrázku k akumulátoru, přičte se jednička. Nastavitelný poloměr se postupně mění.V navržené metodě je určen v rozmezí 60 až 130 pixelů. Výsledkem je skupina hodnot akumulátoru, ve kterém hledáme maxima. Na obrázku 28 je znázorněn výsledek Houghové transformace.



Obrázek 28 Detekovaný optický disk

6.2 Segmentace metodou narůstání oblasti

Pro segmentaci autofluorescenčních oblasti byla vybrána metoda nárůstu regionů, která je detailně popsána v kapitole 3.1. V této kapitole bude popsána realizace této metody v prostředí MATLAB.

Metodu nárůstů regionu můžeme považovat za metodu účinnou. Nevýhodou je však velká výpočetní náročnost. Metody nárůstu regionu začínají pracovat s malými oblastmi, které se postupně spojují do větších celků. Základní přístup je, začít se semínkovými body v obrazu a postupně připojovat další sousední pixely, které mají podobnou intenzitu pixelu. Proces se opakuje tak dlouho, dokud v obrazu existují oblasti, které lze spojovat.[13]

Navržená metoda je semiautomatická a semínkové pixely se určují ručně, pomocí uživatele. To znamená, že uživatel musí vybrat body, které odpovídají autofluorescenčním oblastím. Pro segmentaci dalších obrázků se semínkové body určují automaticky, podle

statických parametrů určených z minulých segmentů. V prostředí MATLAB se semínkové body určují pomoci funkce *ginput*.

Kolem semínka se testuje osm pixelů. Testovací kritérium je dynamické a srovnávacím parametrem je jas pixelů. Testovací pixel se srovnává s kritériem podle vztahu:

$$|p_i - p_j| < T, \tag{6.8}$$

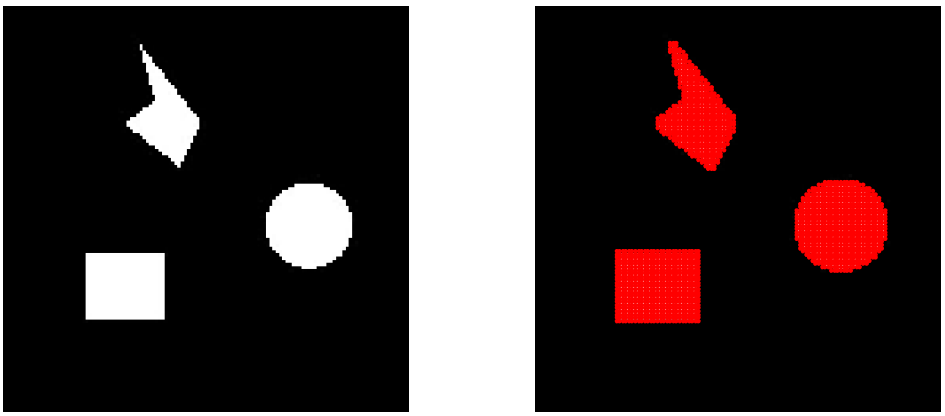
kde, p_j je jas testovacího pixelu, p_i je kritérium a T je práh. Hodnota prahu T byla stanovená experimentálně a rovná se 0,08. Při realizaci algoritmu bylo vyzkoušeno dva kritéria. První kritéria na začátku algoritmu jsou stanovena intenzitou inicializačního semínka. Dále se počítá jako střední aritmetická hodnota intenzity všech pixelů přidaných do oblasti podle vztahu:

$$p_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{a_1 + a_2 + a_{3+\ \ldots\ + a_n}}{n}, \tag{6.9}$$

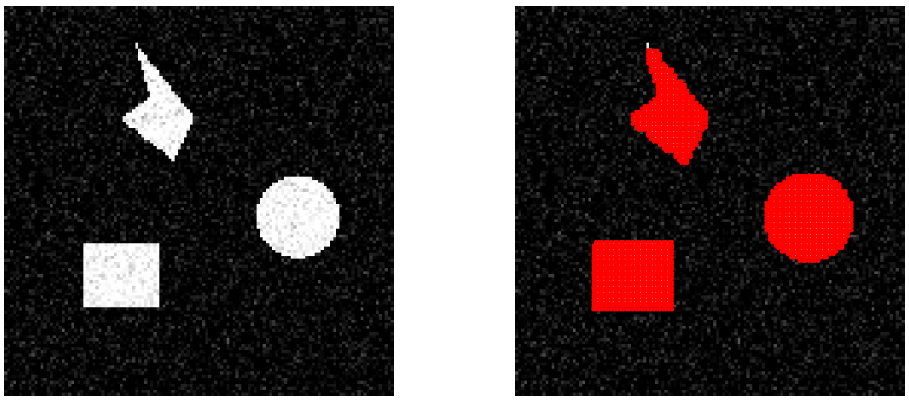
kde a_k je intenzita k-ého pixelu segmentované oblasti, n je počet pixelu v segmentované oblasti. Druhým kritériem bylo stanovení mediánové hodnoty intenzity pixelů, přidaných k segmentu.

Každý pixel, přidaný k segmentu se ukládá do vektoru semínek. Každý pixel z tohoto vektoru se používá jako další semínko pro testování okolí. Pixely z vektoru semínek se načítají postupně, nebo se jako další semínko používá pixel s největší intenzitou. Poslední způsob zajišťuje menší změny kritéria a tím zajišťuje větší homogenitu segmentu.

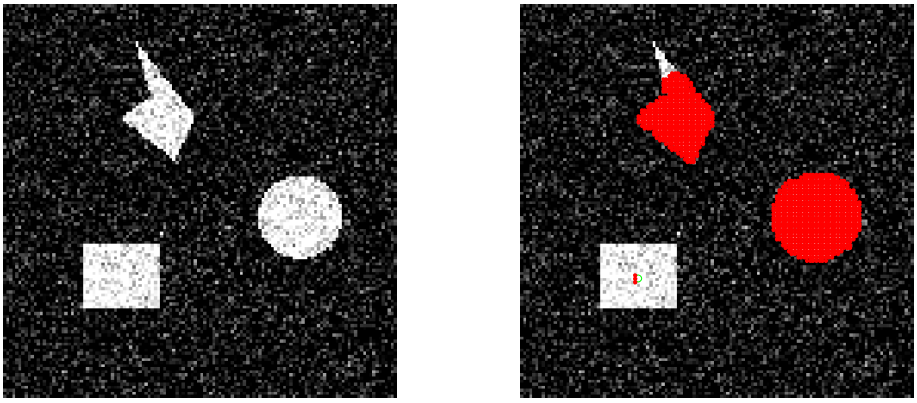
Navržený algoritmus byl vyzkoušen na testovacím obrázku. Přidáním Gaussovského šumu s nulovou střední hodnotou a různými hodnotami variability testovala se kvalita segmentaci realizované metody. Z obrázku je možné vidět, že algoritmus je citlivý na šum. Při vyšších hodnotách variability šumu korektní segmentace není možná.



Obrázek 29 Testovací obraz bez šumu (vlevo) a obraz s označenými segmenty (vpravo)

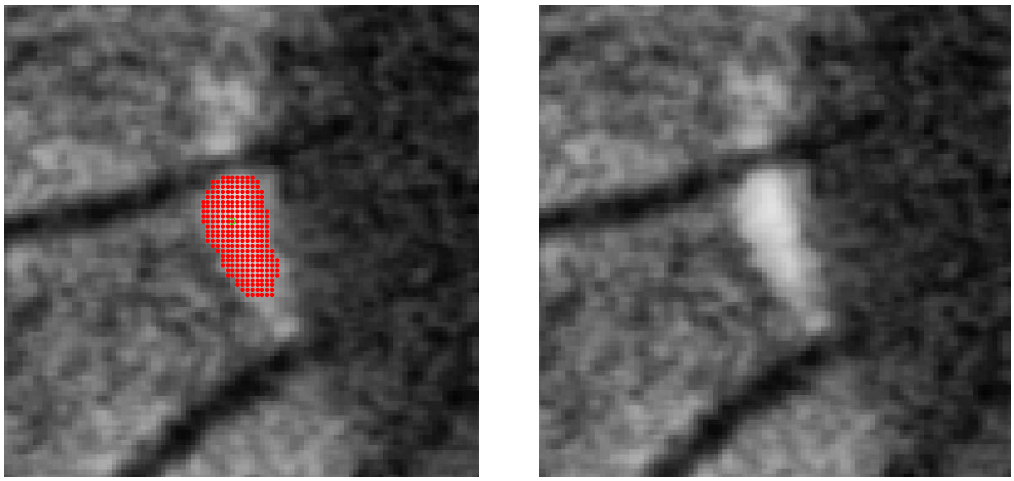


Obrázek 30 Testovací obraz s přidaným šumem (variabilita šumu 0,01) a obraz s označenými segmenty (vpravo)

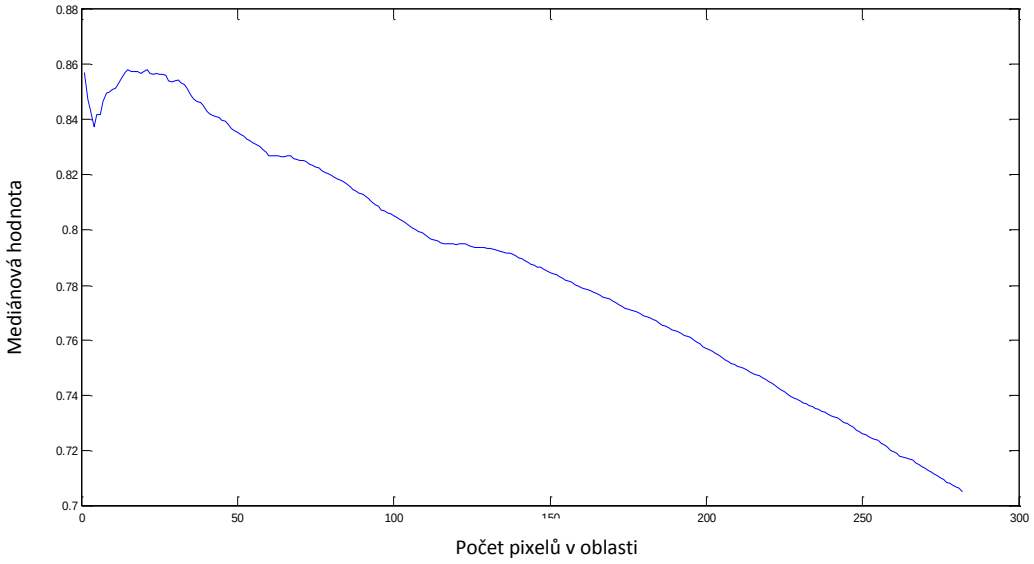


Obrázek 31 Testovací obraz s přidaným šumem (variabilita šumu 0,05) a obraz s označenými segmenty (vpravo)

Na obrázků 32 je zobrazena detekovaná autofluorescenční zóna. V tomto případě byla použita kritéria určená střední aritmetickou hodnotou intenzity všech pixelů přidaných do oblasti. Na obrázku 33 je zobrazena změna kritérii během průběhu algoritmu.

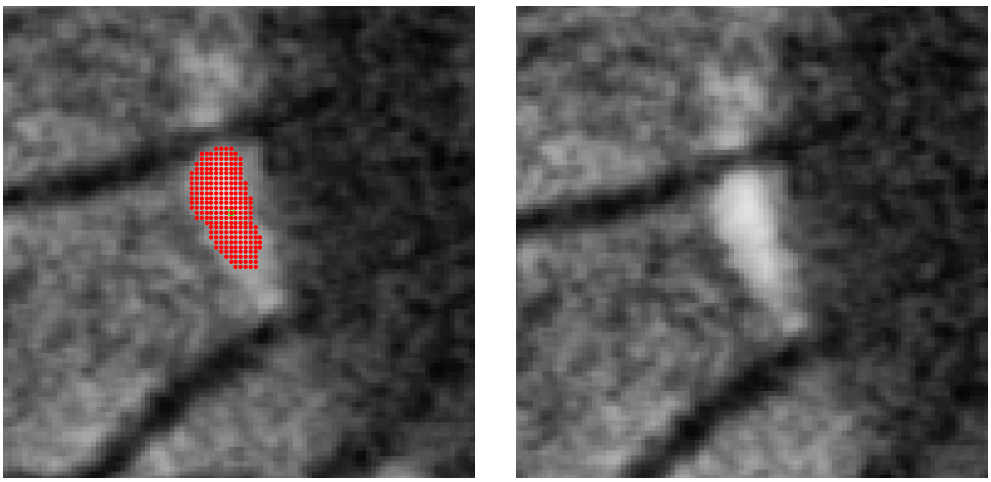


Obrázek 32 Segmentovaná autofluorescenční oblast (vlevo) a originální obraz (vpravo)

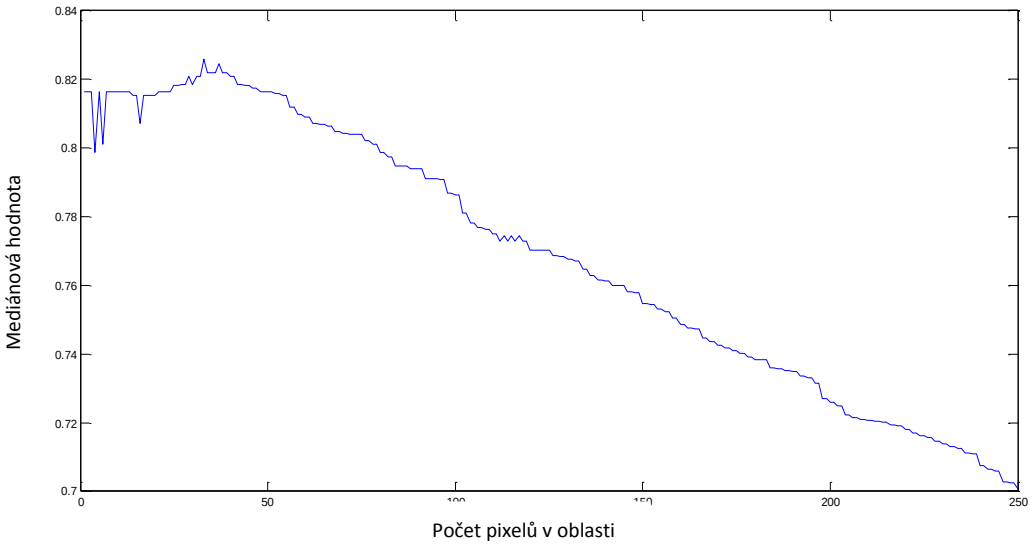


Obrázek 33 Změna střední hodnoty intenzity AF regionů v průběhu segmentaci

Na obrázku 34 můžete vidět detektovanou autofluorescenční oblast, při použití kritéria stanoveného mediánou intenzity pixelů přidaných do segmentu. Na obr. 35 je znázorněn průběh hodnot kritéria během algoritmu. Výsledky segmentaci s použitím obou metod stanovení kritéria jsou velice podobné a jsou vhodné pro segmentaci zón se zvýšenou autofluorescencí.



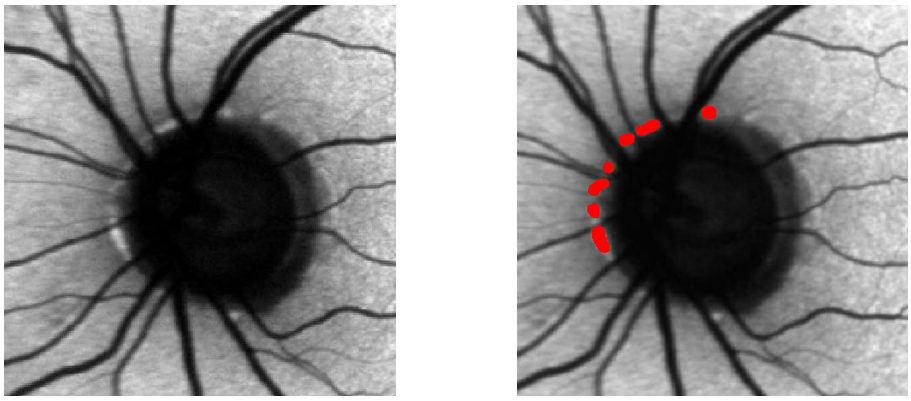
Obrázek 34 Segmentovaná autofluorescenční oblast (vlevo) a originální obraz (vpravo)



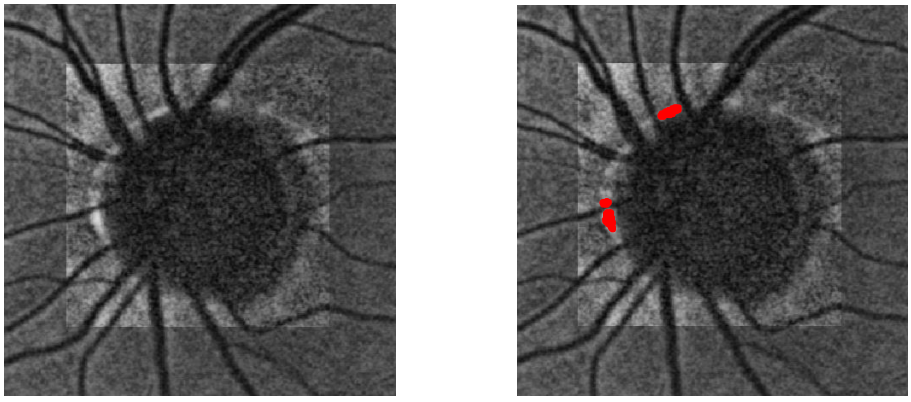
Obrázek 35 Změna mediánové hodnoty intenzity AF regionů v průběhu segmentaci

Dále na obrázcích 36, 37, 38, a 39 je uvedeno několik příkladů segmentace. Na obrázcích vidíme, že oblasti jsou detekované korektně.

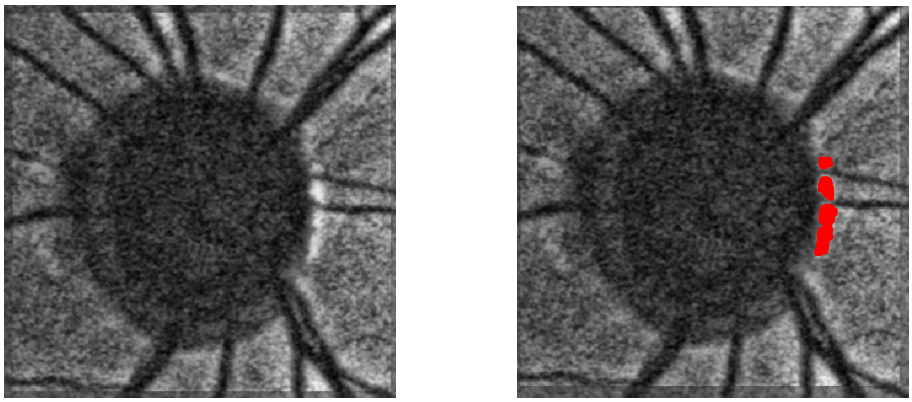
Obrázek 36 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo)



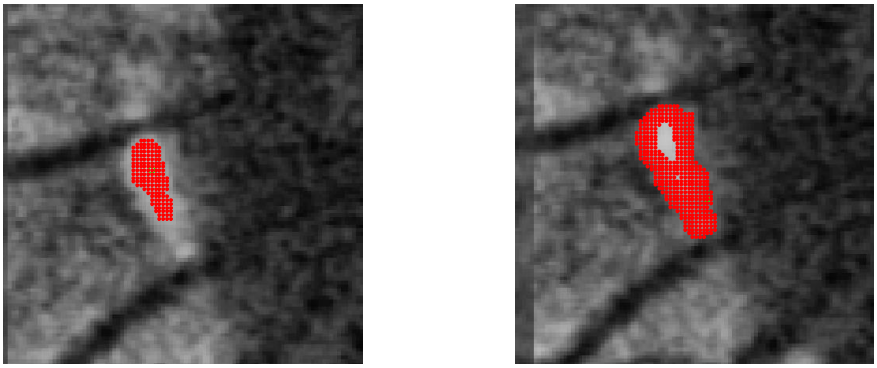
Obrázek 37 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo)



Obrázek 38 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo)



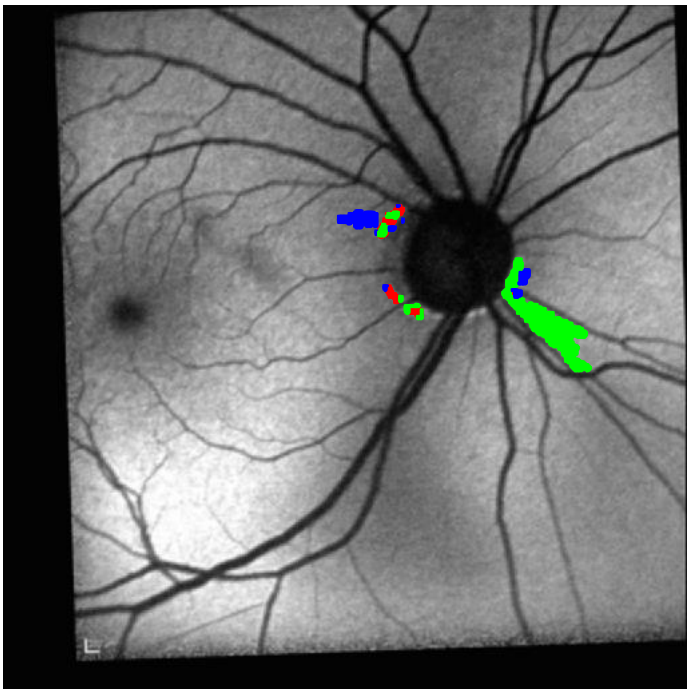
Obrázek 39 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo)



Obrázek 40 Příklady špatné segmentace

Na obrázku 40 jsou zobrazené příklady špatné segmentace, což je způsobeno intenzitou inicializačního semínka. Na levém obrazku inicializační bod měl příliš velkou hodnotu a pro pixely s výrazně menšími hodnotami nebyly přidané k segmentu. Na pravém obrázku semínko mělo nízkou hodnotu, a proto pixely s výrazně vyšší intenzitou nebyly přidané k autofluorescenční oblasti. Tento příklad ukazuje velkou citlivost daného algoritmu na inicializační podmínky.

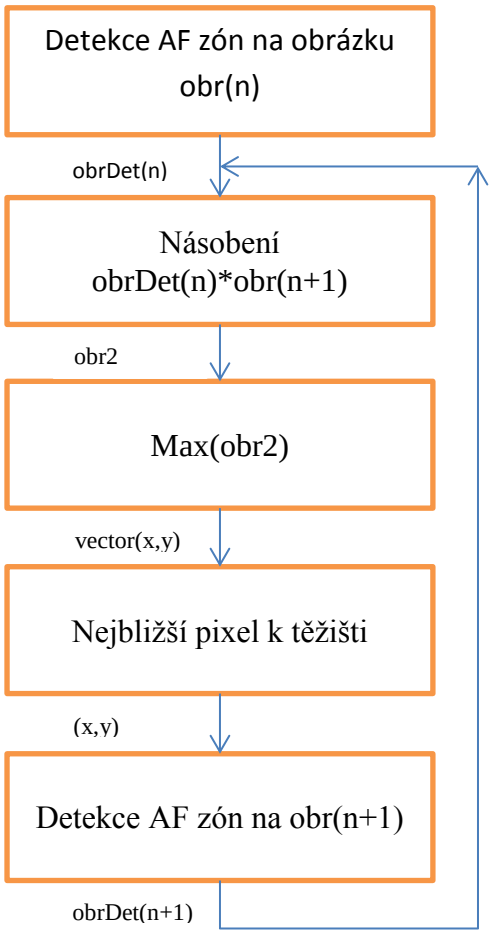
Na obrázku 41 vidíme, že došlo k přetečení autofluarescenčního regionu. To je způsobeno zasvícením části snímku a vysokým šumem, který má podobné vlastnosti, jako AF region. Na grafu 62 vidíme, že přetečení způsobilo velký skok plochy v roce 2010. Tomuto jevu lze zabránit zlepšením filtrace šumu a omezením maximální plochy AF oblasti.



Obrázek 41 Přetečeni AF regionů

6.3 Sledováni zón se zvýšenou autofluorescencí

Základem algoritmu sledováni autofluorescenčních zón, je hledáni v obrazu semínkových bodů, které leží uvnitř zón se zvýšenou autofluorescenci. Na prvním obrazku se obrazové posloupnosti semínkové body určují manuálně uživatelem. Zhodnocením výsledků detekce se definují semínkové body na dalším obrazu. Na obrázku 42 je znázorněn algoritmus sledování autofluorescenčních oblastí v obrazové posloupnosti. *Obr(n)* je vstupní obraz, *obr(n+1)* je další obraz sekvenci snímků. *obrDet*, *obr2*, *vector(x,y)* jsou výstupy z jednotlivých bloků.



Obrázek 42 Algoritmus sledováni AF zón

Výsledkem detekce autofluorescenčních oblastí je binární obraz, kde pixely odpovídající autofluorescenční oblasti mají hodnotu 1, jiné pixely mají nulovou hodnotu. Tento obraz se násobí s dalším autofluorescenčním snímkem. Na výstup se dostane obrázek, kde nenulové hodnoty budou reprezentovat předpokládanou autofluorescenční oblast dalšího snímku. Pro určení semínka se hledá pixel s největší intenzitou. V případě, že se vyskytuje několik pixelů se stejnou intenzitou, vybere se ten, který je nejbližší do hmotného středu autofluorescenční zóny. Těžiště segmentu se počítá v prostředí MATLAB pomocí funkce *regionprops („název obrázku“,'Centroid').* Vzdálenost mezi pixely se počítá pomoci vztahu:

$$r(x,y) = \sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2}, \tag{6.10}$$

kde, r je vzdálenost mezi pixely, x_1,x_2,y_1,y_2 jsou souřadnice pixelů. Těžiště počítá se pomoci vztahů 6.11:

$$x_c = \frac{\sum_{x=0}^{m}\sum_{y=0}^{n} xI(x,y)}{A}, y_c = \frac{\sum_{x=0}^{m}\sum_{y=0}^{n} yI(x,y)}{A}, \tag{6.11}$$

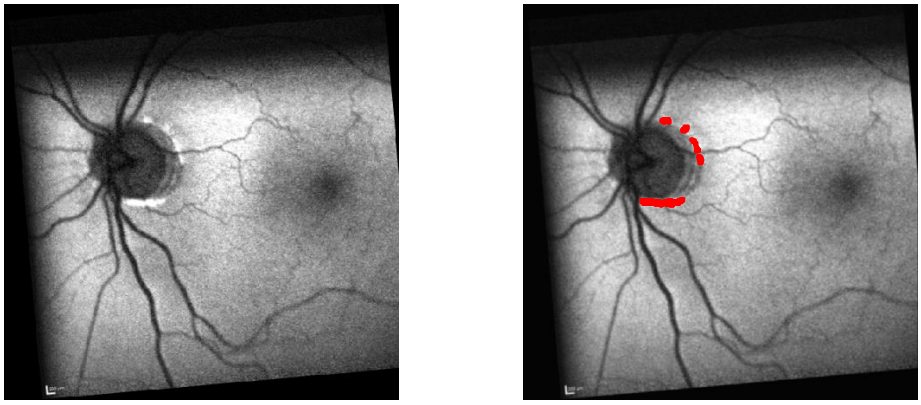
kde x_c a y_c je souřadnice těžišti, x a y je souřadnice jednotlivých pixelů segmentu, I(x,y) je intenzita pixelu.

Výstupní pixel vstupuje do dalšího obrazu jako semínko, a pomocí metody narůstání regionu se hledá autofluorescenční oblast dalšího snímku. Tento postup se opakuje pro každou autofluorescenční oblast. Algoritmus se zastaví, pokud budou detekované všechny AF zóny na posledním snímku obrazové posloupnosti.

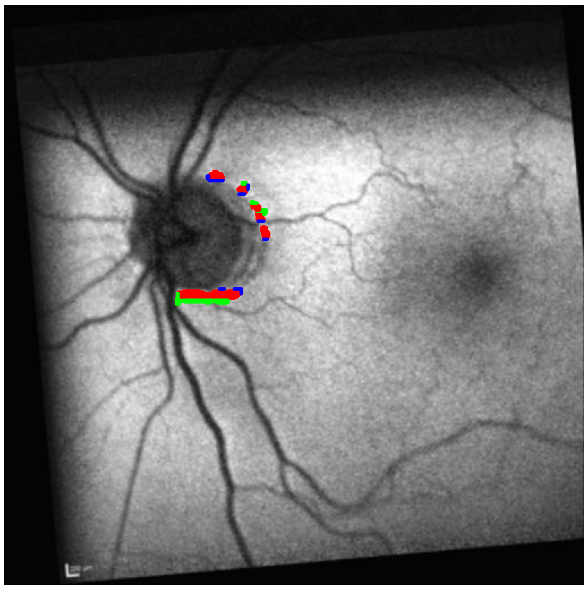
7 Diskuse dosažených výsledků

V této práci byla navrhnuta poloautomatická metoda detekce AF zón sítnice, a jejich sledování v obrazové posloupnosti. Na prvním obrázku se naklikají semínkové body, patřící k AF regionům. Detekce na dalších snímcích probíhá úplně automaticky.

V realizovaném projektu se používají dva způsoby zobrazení detekovaných AF zón – aktuální a diferenciální zobrazení. Aktuální režim zobrazuje všechny detekované oblasti na snímku. Diferenciální režim zobrazuje změnu AF oblasti kvůli minulému snímku. Červenou barvou jsou zobrazené regiony, kde se autofluorescence nezměnila, modrou – kde autofluorescence zmizela a zelenou barvou – nové regiony, kde se objevila autofluorescence.

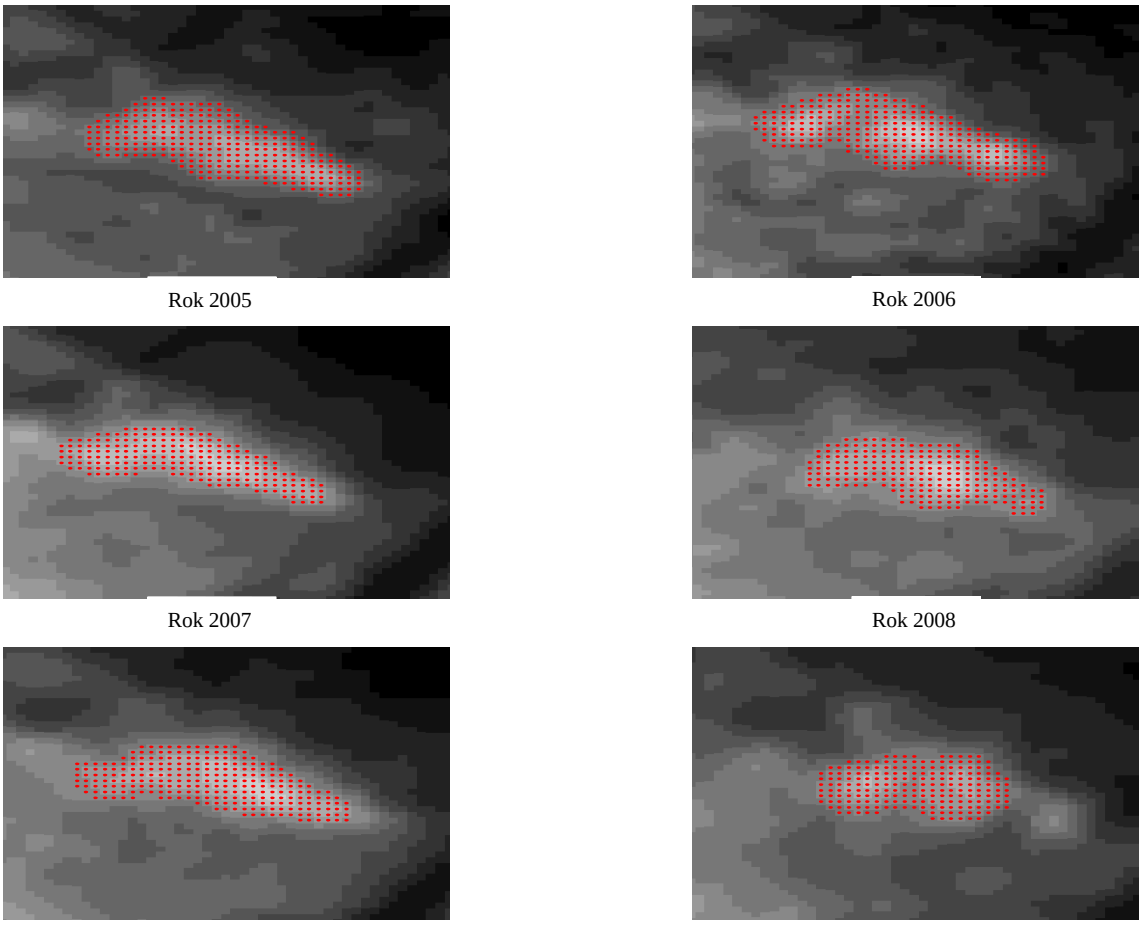


Obrázek 43 Aktuální zobrazeni AF regionů



Obrázek 44 Diferenciální zobrazeni AF regionů

Na obrázku 44 vidíme, že AF zóny se mění pásmově, což je způsobeno vzájemným posuvem snímku v obrazové posloupnosti. Tento jev má vliv na vizualizaci dat, výsledek plochy AF regionů neovlivňuje. Obrázek 45 ukazuje přiklad sledování jedné AF oblasti v sekvenci snímku.



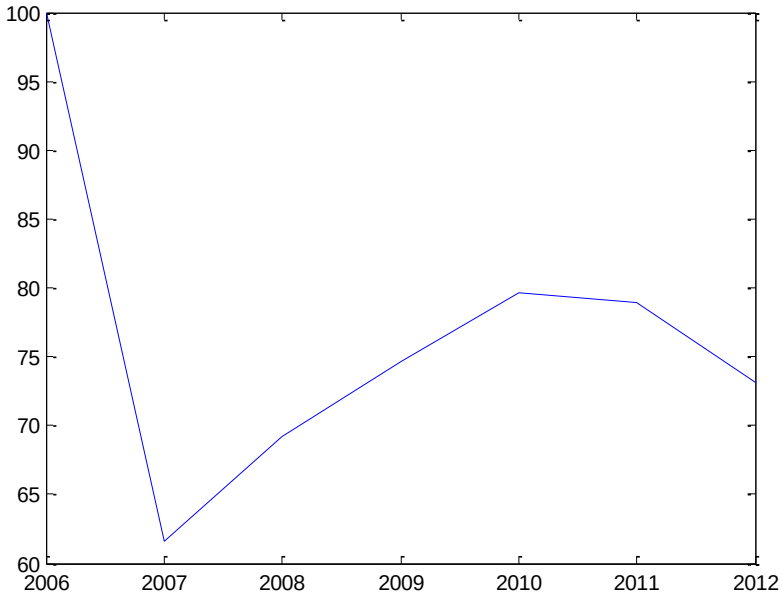
Obrázek 45 Sledování zón se zvýšenou autofluorescenci

Obrázky 46 a 48 zobrazují změnu celkové plochy AF regionů v obrazové posloupnosti navrženou metodou. Obrázky 47 a 49 zobrazují změnu plochy, kde se AF regiony určují ručně. Změna plochy AF regionů se počítá pomocí vztahu:

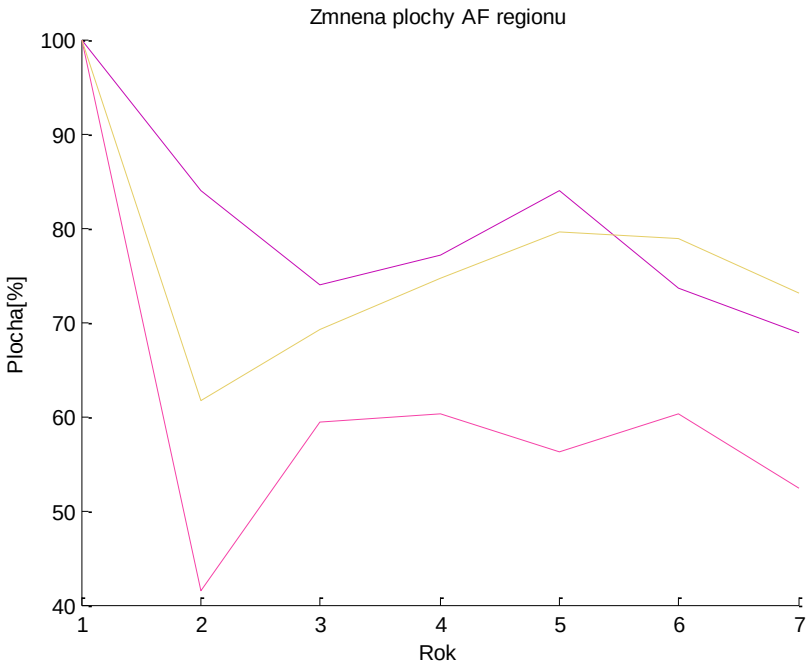
$$S_r = \frac{S_a}{S_1} * 100, \tag{7.1}$$

kde, S_r je relativní plocha, S_a – aktuální plocha a S_1 je plocha AF regionů prvního snímku. Vidíme, že grafy poloautomatické metody a některé grafy manuální detekce jsou podobné, některé grafy se však liší. Manuální určení AF regionů závisí na skupině subjektivních faktorů, jako kontrast monitoru, osvětlení místnosti, psychologické únavě operátora a schopnosti

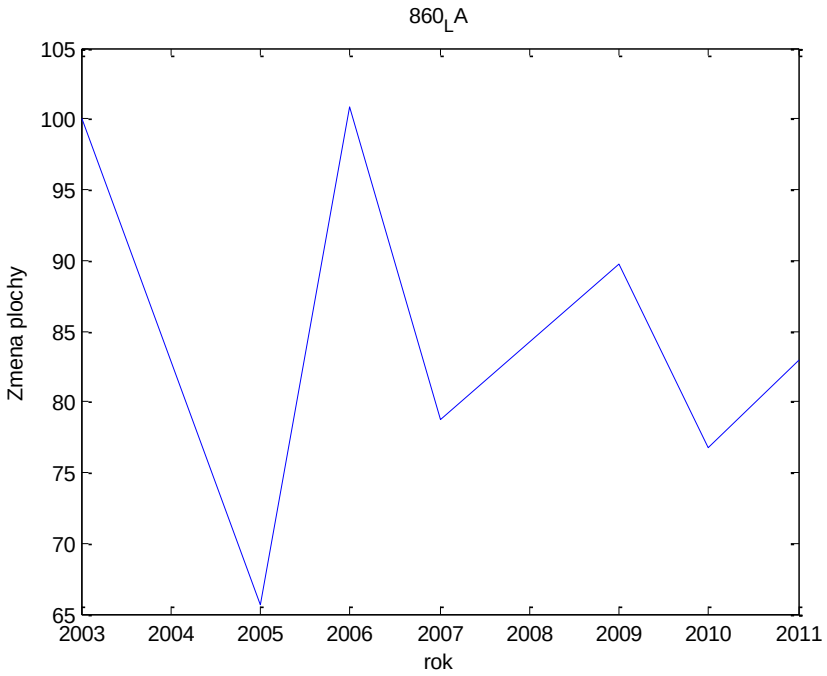
vnímat odstíny šedi. Pro zlepšení navržené metody je vhodné zkonzultovat s lékaři daného oboru a určit kritéria identifikace AF regionů na snímcích sítnice.



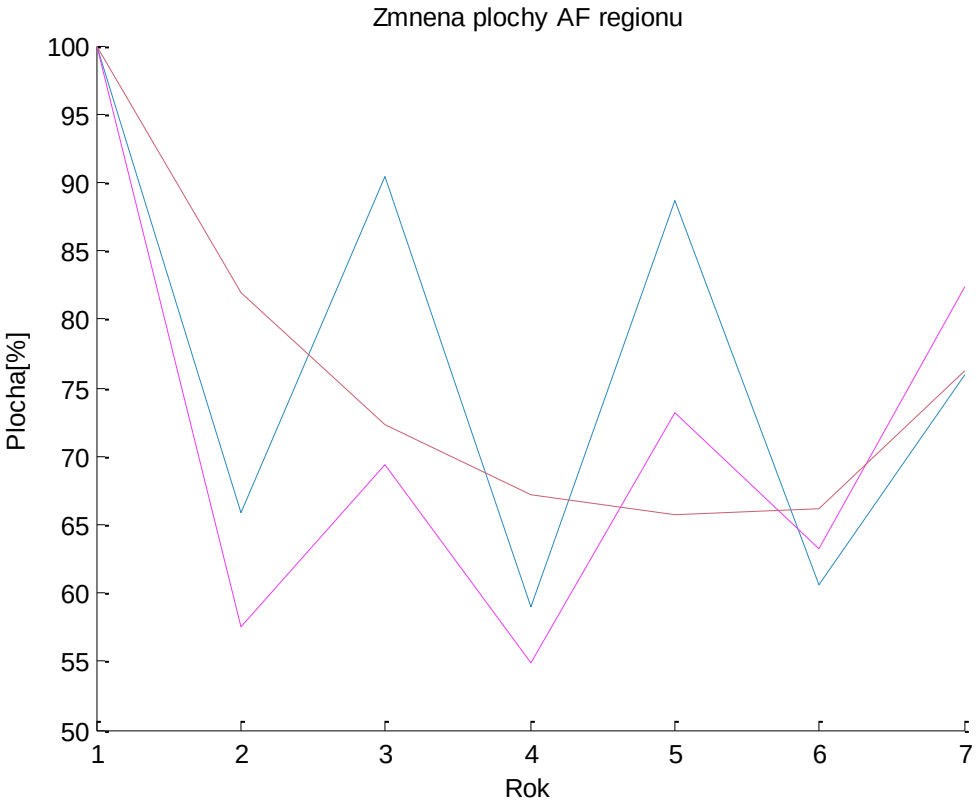
Obrázek 46 Změna plochy AF regionů při poloautomatické detekci



Obrázek 47 Změna plochy AF regionů při manuální detekci

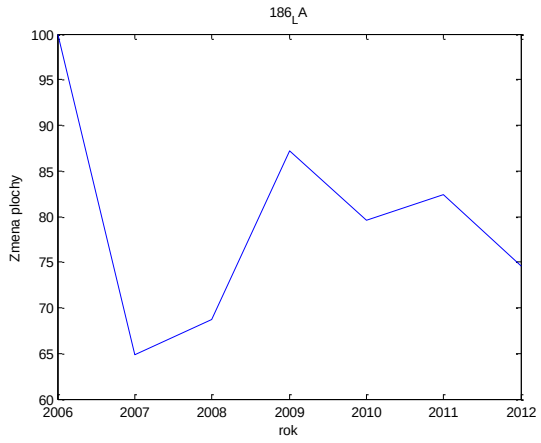


Obrázek 48 Změna plochy AF regionů při poloautomatické detekci

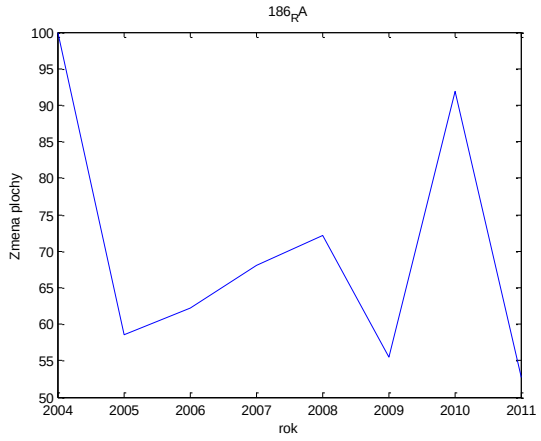


Obrázek 49 Změna plochy AF regionů při manuální detekci

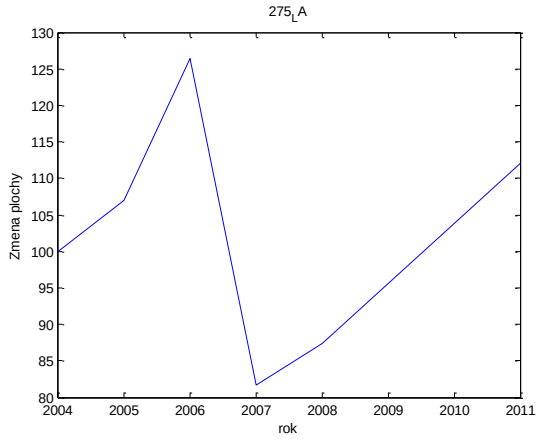
Dále můžeme vidět výsledky testování navrženou metodou na databázi autofluorescenčních snímků. Grafy zobrazují změnu plochy AF regionů v obrazové sekvenci ve srovnání s plochou AF zón na prvním snímku. Některé roky v obrazových sekvencích chyběli, proto byla použita interpolace. Na obrazcích 62, 67 a 71 možná vidět výrazný vrchol, který je způsoben přetečením AF segmentů.



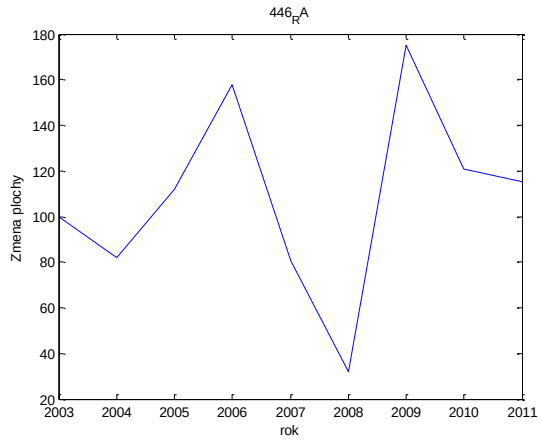
Obrázek 50 Graf změny plochy



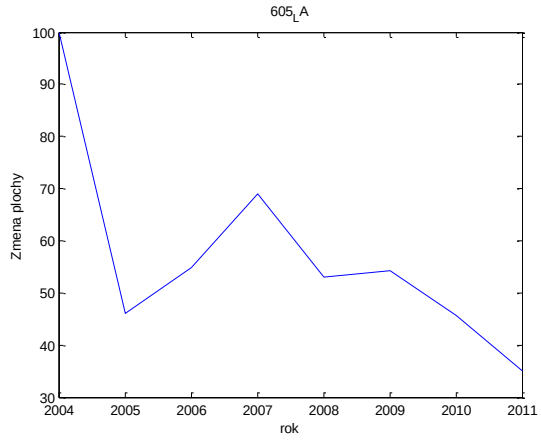
Obrázek 51 Graf změny plochy



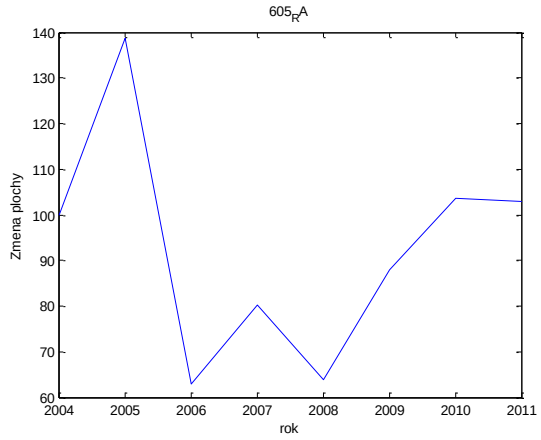
Obrázek 52 Graf změny plochy



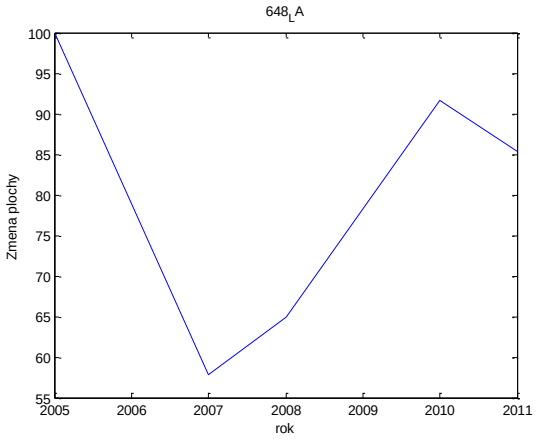
Obrázek 53 Graf změny plochy



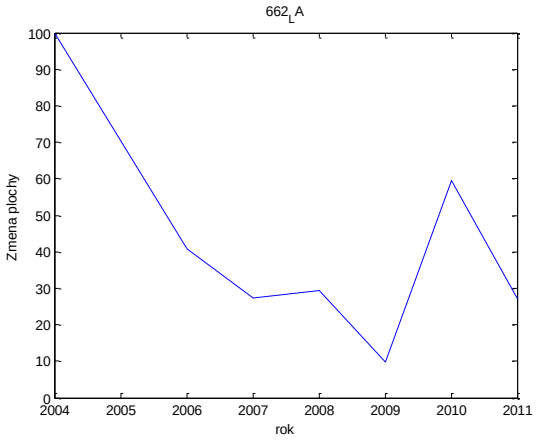
Obrázek 54 Graf změny plochy



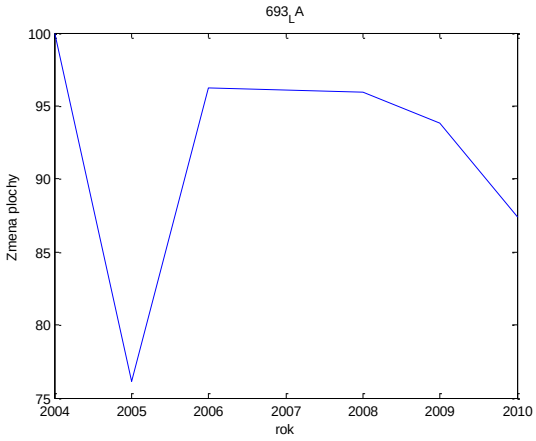
Obrázek 55 Graf změny plochy



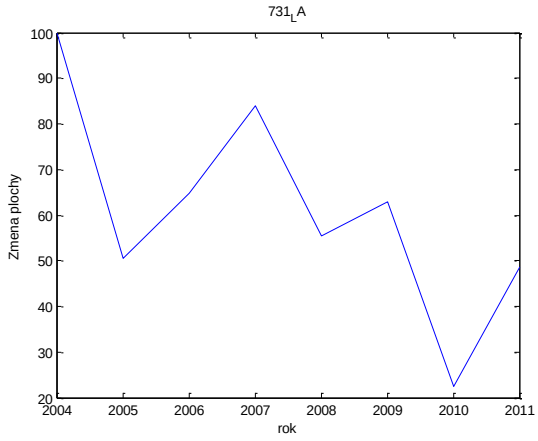
Obrázek 56 Graf změny plochy



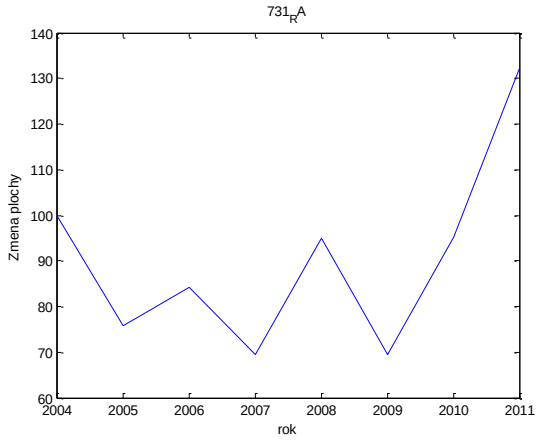
Obrázek 57 Graf změny plochy



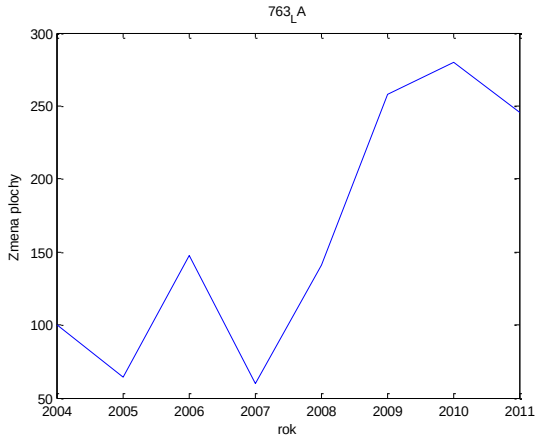
Obrázek 58 Graf změny plochy



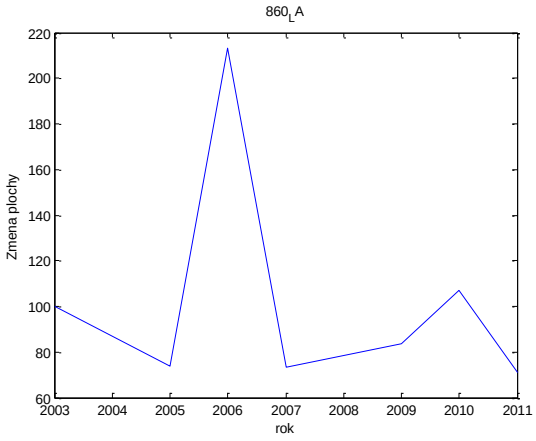
Obrázek 59 Graf změny plochy



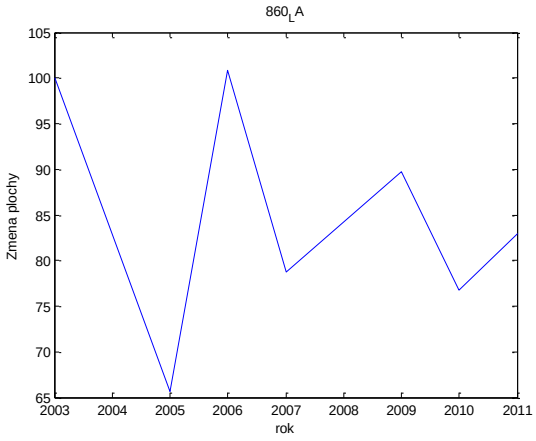
Obrázek 60 Graf změny plochy



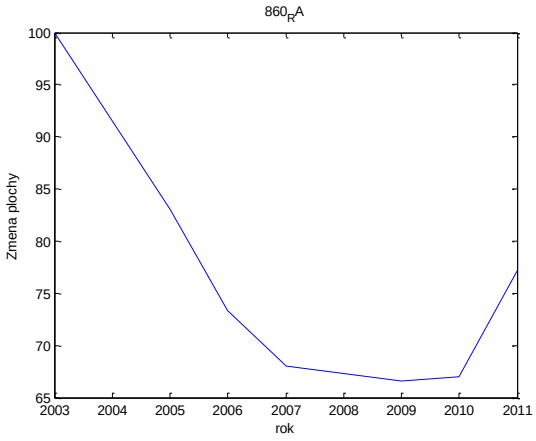
Obrázek 61 Graf změny plochy



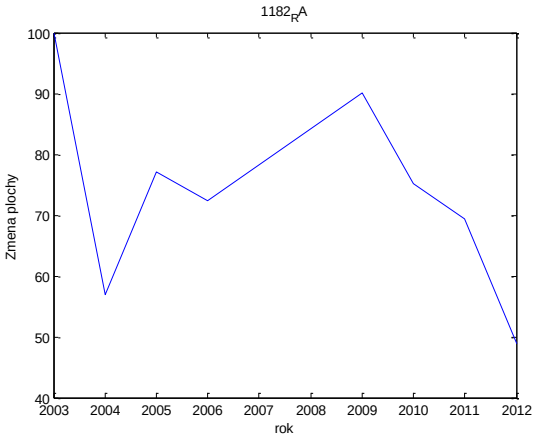
Obrázek 62 Graf změny plochy



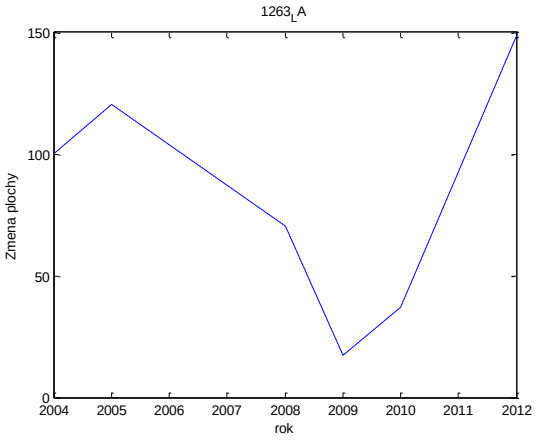
Obrázek 63 Graf změny plochy



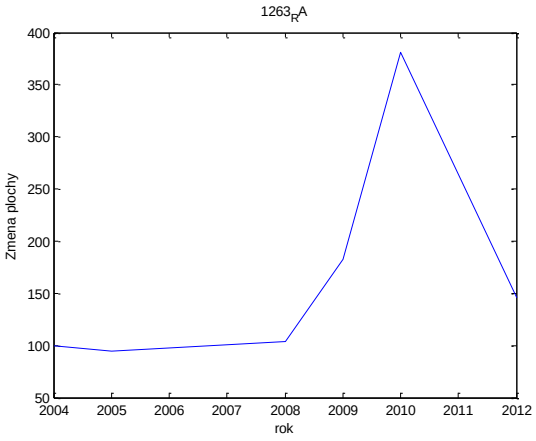
Obrázek 64 Graf změny plochy



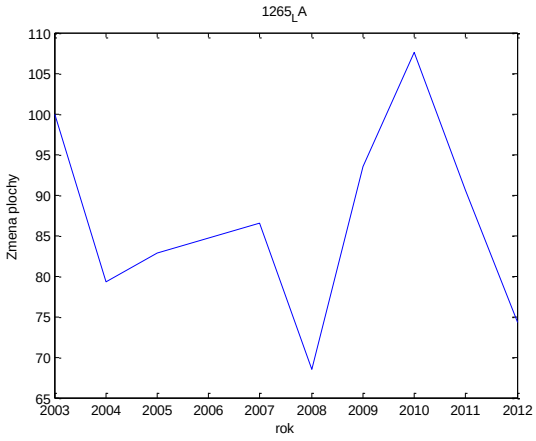
Obrázek 65 Graf změny plochy



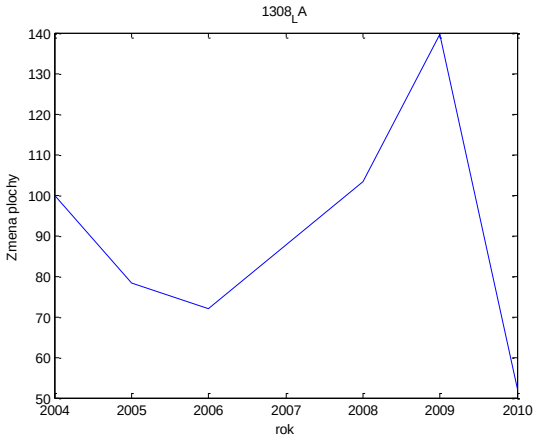
Obrázek 66 Graf změny plochy



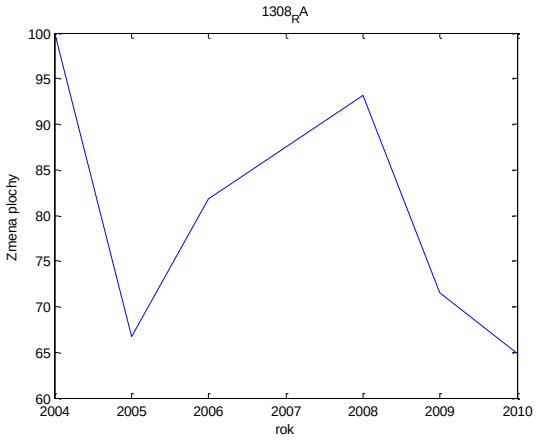
Obrázek 67 Graf změny plochy



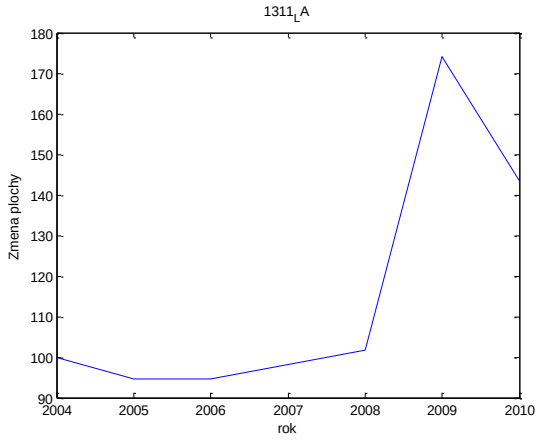
Obrázek 68 Graf změny plochy



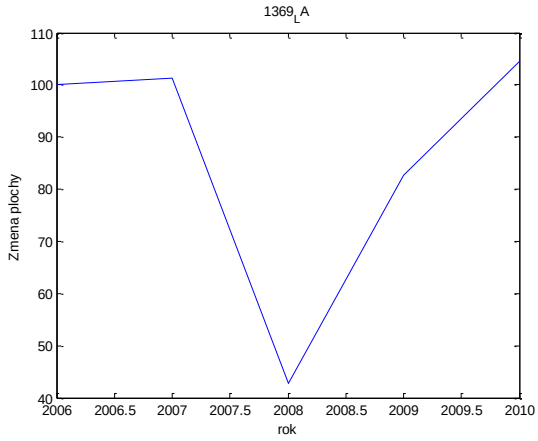
Obrázek 69 Graf změny plochy



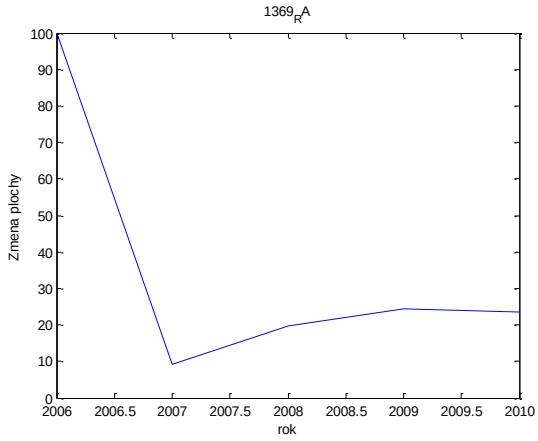
Obrázek 70 Graf změny plochy



Obrázek 71 Graf změny plochy

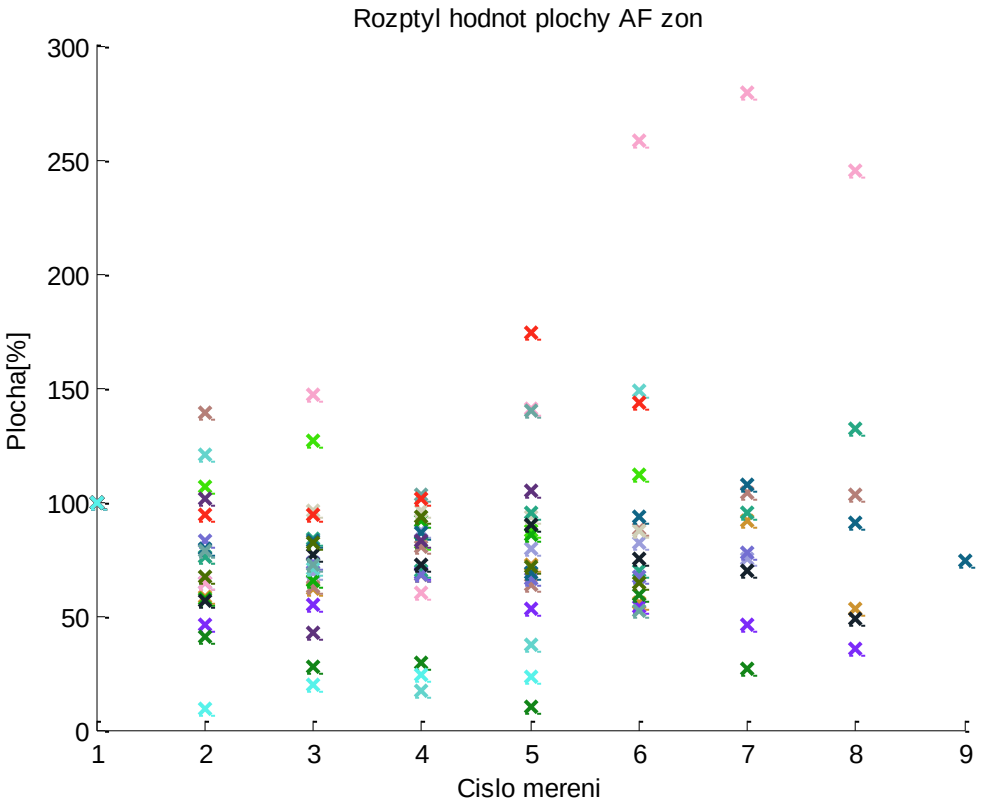


Obrázek 72 Graf změny plochy



Obrázek 73 Graf změny plochy

Na obrázku 74 je zobrazen rozptyl hodnot relativní plochy AF regionů. Rozptyl je dost velký, přitom můžeme sledovat trend ke snížení plochy AF regionů.



Obrázek 74 Rozptyl hodnot plochy AF regionů

Tabulka 1 popisuje koeficienty vzájemné korelace, mezi jednotlivými grafy. Hodnoty korelaci byly spočítané v MATLABu pomoci funkce *xcorr* s nulovým posuvem mezi signály. Z vysokých hodnot korelace je možné posoudit o tom, že grafy jsou podobné. Korelační koeficienty, byly normalizované v rozsahu 0 až 1. Vidíme, že hodnota autokorelaci signálů rovná se 1. Korelační koeficienty mezi jinými signály mohli byt způsobené zaokrouhlovacími chybami. Vysoká korelace se vyskytuje také kvůli malému počtu hodnot v grafu.

Číslo sekvenci	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
19	0,82	0,85	0,72	0,89	0,71	0,82	0,95	0,77	0,79	0,7	0,81	0,82	0,73	0,79	0,73	0,8	0,68	0,75	1
18	0,97	0,97	0,93	0,94	0,96	0,97	0,81	0,96	0,97	0,87	0,97	0,96	0,87	0,96	0,97	0,95	0,96	1	0,75
17	0,96	0,95	0,93	0,91	0,88	0,96	0,7	0,96	0,97	0,95	0,93	0,97	0,78	0,94	0,99	0,94	1	0,96	0,68
16	1	0,99	0,97	0,99	0,93	0,99	0,85	1	0,98	0,92	0,99	0,99	0,85	1	0,96	1	0,94	0,95	0,8
15	0,98	0,97	0,93	0,94	0,9	0,98	0,74	0,97	0,98	0,93	0,95	0,98	0,79	0,95	1	0,96	0,99	0,97	0,73
14	0,99	0,99	0,98	0,98	0,95	0,98	0,86	0,99	0,99	0,92	1	0,98	0,89	1	0,95	1	0,94	0,96	0,79
13	0,85	0,87	0,91	0,85	0,95	0,82	0,87	0,85	0,88	0,8	0,92	0,84	1	0,89	0,79	0,85	0,78	0,87	0,73
12	0,99	0,99	0,97	0,98	0,91	0,99	0,84	0,99	1	0,96	0,98	1	0,84	0,98	0,98	0,99	0,97	0,96	0,82
11	0,99	0,99	0,98	0,98	0,97	0,98	0,88	0,98	0,99	0,92	1	0,98	0,92	1	0,95	0,99	0,93	0,97	0,81
10	0,92	0,93	0,95	0,89	0,82	0,92	0,7	0,95	0,96	1	0,92	0,96	0,8	0,92	0,93	0,92	0,95	0,87	0,7
9	0,99	0,99	0,98	0,97	0,94	0,98	0,83	0,99	1	0,96	0,99	1	0,88	0,99	0,98	0,98	0,97	0,97	0,79
8	0,99	0,99	0,98	0,97	0,93	0,99	0,81	1	0,99	0,95	0,98	0,99	0,85	0,99	0,97	1	0,96	0,96	0,77
7	0,85	0,88	0,8	0,91	0,84	0,84	1	0,81	0,83	0,7	0,88	0,84	0,87	0,86	0,74	0,85	0,7	0,81	0,95
6	1	0,99	0,95	0,99	0,92	1	0,84	0,99	0,98	0,92	0,98	0,99	0,82	0,98	0,98	0,99	0,96	0,97	0,82
5	0,93	0,93	0,94	0,91	1	0,92	0,84	0,93	0,94	0,82	0,97	0,91	0,95	0,95	0,9	0,93	0,88	0,96	0,71
4	0,99	0,99	0,94	1	0,91	0,99	0,91	0,97	0,97	0,89	0,98	0,98	0,85	0,98	0,94	0,99	0,91	0,94	0,89
3	0,96	0,96	1	0,94	0,94	0,95	0,8	0,98	0,98	0,95	0,98	0,97	0,91	0,98	0,93	0,97	0,93	0,93	0,72
2	1	1	0,96	0,99	0,93	0,99	0,88	0,99	0,99	0,93	0,99	0,99	0,87	0,99	0,97	0,99	0,95	0,97	0,85
1	1	1	0,96	0,99	0,93	1	0,85	0,99	0,99	0,92	0,99	0,99	0,85	0,99	0,98	1	0,96	0,97	0,82

Tabulka 1 Koeficienty vzajemné korelaci

8 Závěr

V této diplomové prací jsou popsané metody pro sledování objektu v obrazu a segmentace zón se zvýšenou autofluorescenci. Pro segmentaci autofluorescenčních oblastí jsou vhodné metody narůstání regionů a aktivních kontur. Metoda narůstání regionů byla realizovaná v programovacím prostředí MATLAB, a otestovaná na autofluorescenčních snímcích sítnice oka získaných pomoci systému HRA II. Také algoritmus byl otestován na uměle vytvořeném obrázku s různým stupněm zašumění. Navržená metoda je semiautomatická. Výhodou dané metody je nutnost inicializace jenom jednoho pixelu, možnost vybrat kritérium podobnosti pixelů. Nevýhodou dané metody je velká citlivost algoritmu na inicializační parametry, vypočtená náročnost algoritmu a poměrně vysoká citlivost na přítomnost šumu. Při samotné detekci AF zón byly vyzkoušené i jiné postupy, ale jejich výsledky nebyly vyhovující. Proto jsem se jimi dále v práci nezabýval a uvedl pouze tento algoritmus.

Pro sledování segmentů byl navržen algoritmus, popsaný v kapitole 6.3. Algoritmus je stabilní a umožňuje sledování v případě, že obrázky jsou vzájemně posunuté. Také je zajištěná možnost sledování v případě, že dochází k fúzi dvou AF oblasti. V poslední kapitole jsou shromážděny celkové výsledky testováni algoritmu. Kritéria detekci AF regionů byly stanovené subjektivně, kvůli tomu, že nejsou přesné pravidla určení AF regionů.

9 Použitá literatura:

[1] KOLÁŘ, R. et al. The segmentation of zones with increased autofluorescence in the junctional zone of parapapillary atrophy. Physiological Measurement, 2009(30), pp. 505-516, 2009.

[2] NIXON, M., A. AGUADO. Feature Extraction and Image Processing, Elsevier, 2005.

[3] Www.wikipedia.org [online]. 2013 [cit. 2013-12-20].

[4] Jirasková N.. Katarakta, glaukom a diabetes mellitus. Hradec Králové, 2006.

[5] FIALOVÁ, Dita. Diagnostické zobrazovací metody u glaukomu. 2008. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce Šárka Skorkovská.

[6] KUCHYNKA, Pavel. Oční lékařství. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2007. 812 s. ISBN 978-80-247-1163-8.

[7] WALEK, P.; LAMOŠ, M.; JAN, J. Analýza biomedicínských obrazů. Analýza biomedicínských obrazů. Brno: 2013.

[8] Hájovský R., Pustková R., Kutálek F.. Zpracování obrazu v měřicí a řídicí technice, Ostrava, 2012

[9] KLVAŇA, M. Sledování vybraného objektu v dynamickém obraze [online]. Brno : Vysoké učení technické v Brně. Fakulta strojního inženýrství. 2010.

[10] YILMAZ, JAVED, SHAH. Object Tracking: A survey. ACM Computing Surveys, Vol. 38, No. 4, Article 13, prosinec 2006.

[11] G. Lalli, D.Kalamani, N. Manikandaprabu. A Perspective Pattern Recognition Using Retinal Nerve Fibers With Hybrid Feature Set. Life Sci J 2013.

[12] Zuiderveld, Karel. "Contrast Limited Adaptive Histograph Equalization." *Graphic Gems IV*. San Diego: Academic Press Professional, 1994. 474–485.

[13] MELŠA, O. Detekce optického disku v oftalmologických obrazech: bakalářská práce. Brno: FEKT VUT v Brně, 2008. 48 s.

[14] N. P. Tiilikainen, “A Comparative Study of Active Contour Snakes,” Dept. Comput. Sci., Univ. Copenhagen, Denmark, DIKU 07/04, 2007.

[15] KANTOR, R. Segmentace obrazových dat. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2008. 34 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Radovan Jiřík, Ph.D

10 Seznam obrázků

Obrázek 1 Průřez lidského oka[3] 8
Obrázek 2 Autofluorescenční obraz sítnice 10
Obrázek 3 Autofluorescenční obraz sítnice 10
Obrázek 4 Způsoby prohledávaní okolí [7] 11
Obrázek 5 Originální obraz [3] 12
Obrázek 6 Segmentovaný obraz [3] 13
Obrázek 7 Model aktivního konturu 14
Obrázek 8 Inicializační kontura (vlevo) a výsledek segmentaci metodou aktivních konturu 15
Obrázek 9 Bloková schéma metody aktivních konturů 16
Obrázek 10 Bloková schéma etapu předzpracování 20
Obrázek 11 Originální obraz (vlevo) a filtrovaný obraz (vpravo) 21
Obrázek 12 Projev nerovnoměrnosti osvětlení v obraze 22
Obrázek 13 Vstupní obraz (vlevo) a obraz po ekvalizaci histogramu (vpravo) 23
Obrázek 14 Histogram vstupního obrazu (vlevo) a ekvalizovaný histogram 23
Obrázek 15 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s ekvalizovaným histogramem metodou CLAHE (vpravo) 24
Obrázek 16 Histogram vstupního obrazů (vlevo) a ekvalizovaný histogram metodou CLAHE (vpravo) 24
Obrázek 17 Vstupní obraz (vlevo) a ekvalizovaný obraz (vpravo) 25
Obrázek 18 Histogram vstupního obrazu (vlevo) a histogram po zpracovaní metodou CLAHE (vpravo) 25
Obrázek 19 Vysledný obraz po korekci nerovnoměrnoho osvětleni 26
Obrázek 20 Mediánový filtr 26
Obrázek 21 Postup detekce optického disku 27
Obrázek 22 Výsledek práhováni 27
Obrázek 23 Výstupní obraz eroze po 1. kroku 28
Obrázek 24 Výstupní obraz eroze po 2. kroku 28
Obrázek 25 Výstupní obraz eroze po 3. kroku 29
Obrázek 26 Vystup Prewittůvá(vlevo) a Sobelůvá(vpravo) operatorů 30
Obrázek 27 Výstup hranové detekce 30
Obrázek 28 Detekovaný optický disk 31
Obrázek 29 Testovací obraz bez šumu (vlevo) a obraz s označenými segmenty (vpravo) 32
Obrázek 30 Testovací obraz s přidaným šumem (variabilita šumu 0,01) a obraz s označenými segmenty (vpravo) 33
Obrázek 31 Testovací obraz s přidaným šumem (variabilita šumu 0,05) a obraz s označenými segmenty (vpravo) 33
Obrázek 32 Segmentovaná autofluorescenční oblast (vlevo) a originální obraz (vpravo) 34
Obrázek 33 Změna střední hodnoty intenzity AF regionů v průběhu segmentaci 34
Obrázek 34 Segmentovaná autofluorescenční oblast (vlevo) a originální obraz (vpravo) 35
Obrázek 35 Změna mediánové hodnoty intenzity AF regionů v průběhu segmentaci 35
Obrázek 36 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo) 36
Obrázek 37 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo) 36

Obrázek 38 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo) 36
Obrázek 39 Vstupní obraz (vlevo) a obraz s označenými autofluorescenčnimi oblastmi (vpravo) 37
Obrázek 40 Příklady špatné segmentace 37
Obrázek 41 Přetečeni AF regionů 38
Obrázek 42 Algoritmus sledováni AF zón 39
Obrázek 43 Aktuální zobrazeni AF regionů 41
Obrázek 44 Diferenciální zobrazeni AF regionů 41
Obrázek 45 Sledování zón se zvýšenou autofluorescenci 42
Obrázek 46 Změna plochy AF regionů při poloautomatické detekci 43
Obrázek 47 Změna plochy AF regionů při manuální detekci 43
Obrázek 48 Změna plochy AF regionů při poloautomatické detekci 44
Obrázek 49 Změna plochy AF regionů při manuální detekci 44
Obrázek 50 Graf změny plochy 45
Obrázek 51 Graf změny plochy 45
Obrázek 52 Graf změny plochy 45
Obrázek 53 Graf změny plochy 45
Obrázek 54 Graf změny plochy 45
Obrázek 55 Graf změny plochy 45
Obrázek 56 Graf změny plochy 46
Obrázek 57 Graf změny plochy 46
Obrázek 58 Graf změny plochy 46
Obrázek 59 Graf změny plochy 46
Obrázek 60 Graf změny plochy 46
Obrázek 61 Graf změny plochy 46
Obrázek 62 Graf změny plochy 47
Obrázek 63 Graf změny plochy 47
Obrázek 64 Graf změny plochy 47
Obrázek 65 Graf změny plochy 47
Obrázek 66 Graf změny plochy 47
Obrázek 67 Graf změny plochy 47
Obrázek 68 Graf změny plochy 48
Obrázek 69 Graf změny plochy 48
Obrázek 70 Graf změny plochy 48
Obrázek 71 Graf změny plochy 48
Obrázek 72 Graf změny plochy 48
Obrázek 73 Graf změny plochy 48
Obrázek 74 Rozptyl hodnot plochy AF regionů 49