

DIGITAL IMAGE PREPROCESSING OF MITOTIC CHROMOSOMES

Luboš Jaroš

Master Degree Programme (2), FEEC BUT

E-mail: xjaros35@stud.feec.vutbr.cz

Supervised by: Helena Škutková

E-mail: skutkova@feec.vutbr.cz

Abstract: The goal of this work is to develop a novel algorithm for chromosome detection to make the following analysis of human genome easier. The algorithm uses a multiphase detection based on the Otsu and active contour methods. The accuracy validation is tested on samples from the on-line BioImlab databases.

Keywords: chromosome, image processing, cytogenetic, karyotype

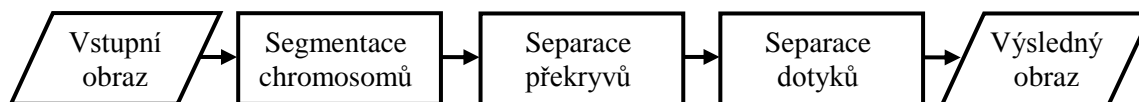
1 ÚVOD

Rozvoj moderní medicíny umožňuje studovat lidský genom a odhalovat predispozice pro různá genetická onemocnění. Jednou z technik, která toto umožňuje je analýza lidského karyotypu neboli souboru všech chromosomů. Nejdůležitějším krokem při analýze karyotypu je detekce jednotlivých chromosomů. Chromosomy se mohou navzájem překrývat nebo dotýkat, což zhoršuje detekci.

Cílem této práce je navrhnout nový algoritmus pro detekci jednotlivých chromosomů a tím zjednodušit následnou analýzu karyotypu. Jako vstupní data jsou použity mikroskopické snímky z proužkovacích metod, které jsou volně dostupné z databáze BioImLab. Algoritmus využívá vícefázové detekce založené na kombinaci prahování metodou Otsu a segmentaci pomocí aktivních kontur.

2 DETEKCE CHROMOSOMŮ

Předzpracování obrazu mitotických chromosomů spočívá v detekci jednotlivých chromosomů. V obrazu se mohou vyskytovat osamocené chromosomy nebo shluky dvou a více chromosomů, které se dotýkají či překrývají. Cílem je jednotlivé chromosomy rozpoznat a vyseparovat. Detekce chromosomů se skládá z několika kroků, které jsou zobrazeny na obrázku **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** a podrobněji jsou popsány v následujících podkapitolách.

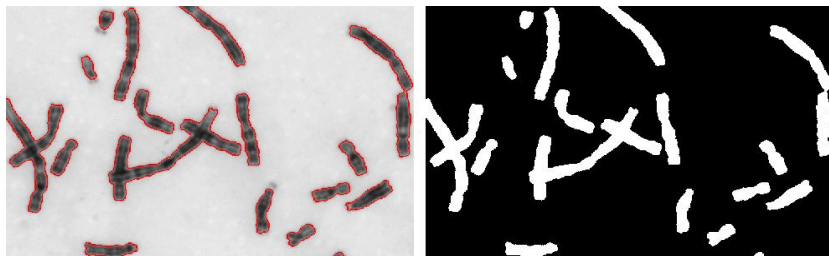


Obrázek 1: Blokový diagram algoritmu

2.1 SEGMENTACE CHROMOSOMŮ OD POZADÍ

Prvním krokem segmentace chromosomů je předzpracování vstupního obrazu. Obraz musí být převeden na šedotónový. Dále musí obsahovat světlé pozadí a tmavé chromosomy. Z důvodu zvýraznění chromosomů je provedena ekvalizace histogramu. Cílem tohoto předzpracování je využití všech hladin šedi rovnoměrně.

Segmentace chromosomů od pozadí využívá vícefázovou detekci založenou na metodě Otsu a aktivních kontur. Nejprve je pomocí Otsu metody zjištěn práh pro tvorbu binární masky. Binární maska získaná z Otsu metody zvýrazní nejen chromosomy, ale i nečistoty ze snímku. Proto je na binární masku nutné aplikovat mediánový filtr k potlačení nečistot. Získaná binární maska je vstupem pro metodu aktivních kontur [1], která využívá uzavřenou konturu. Kontura se přizpůsobuje podle okolních pixelů. Tímto způsobem jsou ohraničeny všechny jednotlivé chromosomy nebo shluky chromosomů. Segmentace chromosomů od pozadí je zobrazena na obrázku 2a a binární maska této segmentace na obrázku 2b.

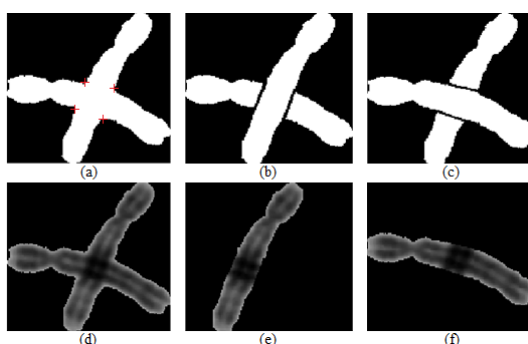


Obrázek 2: Segmentace chromosomů od pozadí

2.2 SEPARACE PŘEKRÝVAJÍCÍCH SE CHROMOSOMŮ

Některé segmentované chromosomy obsahují dva či více překrývajících se chromosomů. Do této části algoritmu postupně vstupují segmentované chromosomy nebo shluky chromosomů. Z jednotlivých obrazů je určena pomocí skeletonizace středová linie. Pokud obraz obsahuje pouze dva konce středové linie, je obraz považován za správně detekovaný (obsahuje pouze jeden chromosom). Pokud obsahuje více než dva konce středové linie, je obraz považován za špatně detekovaný a je nutné jednotlivé shluky chromosomů rozdělit.

Rozdělení chromosomů spočítá v nalezení středu, kde se středové linie protínají. Od tohoto místa jsou nalezeny čtyři body. Podle typu překřížení středové linie jsou postupně spojeny dva body do jedné fiktivní přímky nebo čtyři body do dvou fiktivních přímek a následně rozděleny na dva obrazy s chromosomy. To je možné vidět na obrázku 3. Obrázek 3a zobrazuje binární masku s červenými body, kterými jsou vedeny fiktivní přímky (obrázek 3b a obrázek 3c). Na obrázku 3d je zobrazen shluk dvou chromosomů a obrázky 3e a 3f již zobrazují rozdělené chromosomy. Oba výsledné obrazy opět vstupují do algoritmu a dochází k určení počtu konců středové linie. Obrazy znovu vstupují do algoritmu, proto abychom ověřili, zda se jedná o osamocený chromosom. V opačném případě dochází k dalšímu rozdělení.

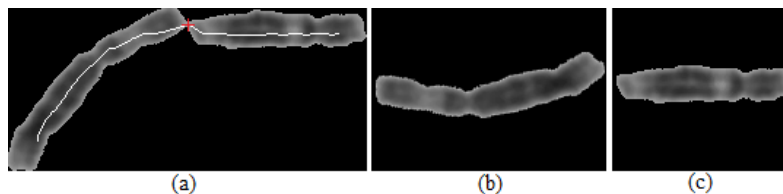


Obrázek 3: Separace překrývajících se chromosomů

2.3 SEPARACE DOTÝKAJÍCÍCH SE CHROMOSOMŮ

Dotýkající se chromosomy jsou chromosomy, které se částečně dotýkají, ale nepřekrývají se. Většinou se jedná o spojení pouze dvou chromosomů. Chromosomy v místě dotyku jsou charakterizovány zúžením a zvýšením jasové hodnoty oproti tělu chromosomu. Centromera je také charakterizována zúžením, ale obsahuje nižší jasové hodnoty.

K rozdělení dotýkajících se chromosomů je znovu nutné určit středovou linii potenciálního shluku chromosomů (obrázek 4a). Procházením středové linie jsou počítány dva parametry - šířka a intenzita jasu této šířky chromosomu. Jestliže parametry poklesnou pod práh, dochází k určení bodu doteku dvou chromosomů. Práh je adaptivně nastavován podle chromosomu. Pokud se nachází více bodů doteku vedle sebe, tak je vybrán bod s nejmenší šířkou. Pomocí nalezeného bodu a bodů ve středové linii je vytvořena fiktivní přímka, která rozdělí shluk chromosomů (obrázek 4b a 4c).



Obrázek 4: Separace dotýkajících se chromosomů

3 DISKUZE A VÝSLEDKY

Automatické předzpracování obrazu mitotických chromosomů bylo testováno na snímcích z volně dostupné databáze BioImLab [2], která obsahuje přes 100 mikroskopických snímků. Výsledná úspěšnost detekce chromosomů je 87,4 %. Tyto výsledky jsou srovnatelné s jinými autory, kteří se zabývají stejnou problematikou [3][4]. Publikované metody ovšem nebyly testovány na takto velké databázi, a proto není možné přesného srovnání. Ačkoliv detekce dosahuje relativně dobré úspěšnosti, dochází k chybným detekcím, se kterými se potýkají i jiní autoři. Detekce chromosomů popsaná v práci nejčastěji selhává při špatném výpočtu středové linie, ze které vychází dílčí část algoritmu. Při nalezení fiktivních konců středové linie může být nesprávně rozdělen chromosom. I přes tento nedostatek je úspěšnost detekce nejvíce ovlivněna kvalitou snímků mitotických chromosomů. U snímků s nízkou kvalitou dochází ke snížení úspěšnosti detekce. Na snímky byly aplikovány různé druhy filtrů (ostřicí, potlačující šum) a až na mediánový filtr docházelo ke snížení výtežnosti z obrazu. Proto od těchto metod bylo upuštěno. Algoritmus slouží pouze k segmentaci chromosomů, ale dále by mohl být rozšířen o analýzu karyotypu. Analýza by spočívala v zjištění numerických a strukturních aberací. Numerické aberace se zjistí z počtu chromosomů. Strukturní aberace z klasifikovaných chromosomů, které by se porovnávali s ideogramy lidského karyotypu.

4 ZÁVĚR

Výsledkem práce je algoritmus pro automatickou detekci chromosomů, který byl realizován v programovacím prostředí MATLAB. Algoritmus využívá vícefázové detekce vycházejících z metod Otsu a aktivních kontur. Segmentované chromosomy jsou dále rozděleny, dojde-li k překryvu nebo dotyku chromosomů. Algoritmus byl testován na snímcích, kde byla ověřena robustnost. I když v některých případech selhání detekce chromosomů je nutný lidský zásah, tak výsledný předzpracovaný obraz značně zjednoduší analýzu karyotypu.

REFERENCE

- [1] T.F. Chan, L.A. Vese: Active Contours Without Edges, IEEE Transactions on Image Processing, 2001, s. 266-277
- [2] BIOIMLAB Chromosome. Data Set for Segmentation [online]. 2010 [cit.2017-03-08]. Dostupné z: <http://bioimlab.dei.unipd.it/Chromosome%20Data%20Set%204Seg.htm>.
- [3] MINAEE, FOTOUHI, KHALAJ. A Geometric Approach For Fully Automatic Chromosome Segmentation, IEEE Transactions on Image Processing, 2014.
- [4] PIPER, JIM a ERIK GRANUM. On fully automatic feature measurement for banded chromosome classification. Cytometry, 1989, 10(3), 242-255.