

УДК 681.3 + 576.312

Г. И. Громилин, В. П. Косых, Г. И. Перетягин

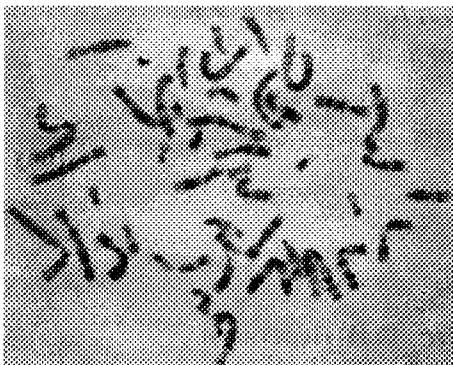
*(Новосибирск)***АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ СИСТЕМА
ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА**

Описана система автоматизированной обработки микроизображений, ориентированная на анализ хромосомного набора человека. Предложены способы коррекции искажений изображений хромосом. Приведены предварительные результаты эксплуатации системы.

Один из наиболее распространенных способов диагностики заболеваний, связанных с изменением числа и структуры хромосом, состоит в микроскопическом анализе препаратов, содержащих метафазные пластинки — клетки, в которых хромосомы представляют собой компактные, хорошо различимые под микроскопом структуры. Подсчет и идентификация хромосом, а также поиск хромосомных аномалий сопровождаются построением кариограммы — изображения стандартно расположенных хромосом, иллюстрирующего кариотип (совокупность морфологических особенностей хромосомного набора) данного пациента. Традиционная процедура построения кариограммы состоит в изготовлении микрофотографии метафазной пластинки, после чего из нее вырезаются изображения отдельных хромосом, которые стандартным образом раскладываются и наклеиваются на бланк. При этом значительную часть времени специалист-генетик затрачивает на рутинную работу, связанную с получением и препарированием микрофотографий, тогда как его профессиональные знания используются в основном на этапе раскладки, состоящем в идентификации хромосом, обнаружении и классификации их аномалий, и при постановке диагноза. Основная функция описываемой ниже системы состоит в сокращении временных затрат специалиста на рутинные процедуры и предоставлении ему ряда дополнительных возможностей при построении кариограммы и постановке диагноза.

Состав аппаратной части системы традиционен для современных анализаторов микроизображений: базой является ПЭВМ типа IBM PC/AT 486/87 с жестким диском емкостью не менее 270 Мбайт и лазерным принтером и оптический микроскоп с рабочим объективом 100^x, оснащенный видеокамерой на ПЗС-матрице размером 8 × 6 мм с числом чувствительных элементов 752 × 582, что обеспечивает интервал дискретизации в плоскости препарата около 0,15 мкм. Цифровое 8-разрядное изображение поля зрения камеры формируется в темпе поступления сигнала с камеры и отображается на контрольном мониторе, используемом для просмотра препарата, выбора полей, содержащих метафазные пластинки, и фокусировки.

Программное обеспечение процесса кариотипирования предполагает интерактивное взаимодействие специалиста с системой. Выбор интерактивного режима обусловлен значительной вариабельностью формы и окраски дифференциально окрашенных хромосом, из-за чего полная автоматизация процесса представляется неоправданно сложной задачей.



Процесс построения кариограммы содержит следующие этапы:

1. После того как метафазная пластинка помещена в поле зрения видеокамеры, это поле запоминается, корректируется неравномерность освещения, выбирается оптимальный для отображения контраст и пороговый уровень сигнала, на котором будет происходить выделение хромосом. При наличии неоднородного фона может быть выполнена его компенсация. Если не вся пластинка попадает в поле зре-

дубликаты, из которых выделяются отдельные хромосомы (с искажениями в области перекрытия).

3. Формируются контурные описания всех объектов, и на их основе выполняется автоматическая отбраковка по форме и размерам артефактов (остатки красителя, фрагменты клеток и хромосом). Если для построения кариограммы используется несколько полей, отбраковываются дублированные объекты.

4. Оценивается степень изогнутости хромосом, и сильно изогнутые хромосомы «распрямляются». При этом определяются длина и положение центромеры для каждой хромосомы. Поскольку на изображениях дифференциально-окрашенных хромосом центромера проявляется слабо, возможна интерактивная коррекция ее положения. Все хромосомы ориентируются так, чтобы их длинная ось располагалась вертикально.

5. Выполняется предварительная раскладка, состоящая в упорядочении хромосом по двум параметрам — длине и центромерному индексу — и попарном разбиении хромосомного набора.

6. Окончательная раскладка выполняется в интерактивном режиме. В сомнительных случаях на экран монитора, на котором отображаются результаты раскладки, для сопоставления могут быть вызваны эталонные изображения хромосом. Это наиболее ответственный этап работы, поэтому здесь представляются дополнительные возможности манипуляций с изображениями отдельных хромосом: линейное и нелинейное контрастирование, подчеркивание контуров, изменение размеров.

7. По шаблону заполняется документ, содержащий сведения о пациенте и диагноз, и вместе с кариограммой помещается на диск.

Алгоритмическое обеспечение. *Компенсация фона.* Остатки клеток и красителя создают на препарате неоднородный плавно меняющийся фон, не позволяющий даже в пределах одного поля зрения задать пороговый уровень и контраст, при которых одинаково хорошо выделялись бы все хромосомы. Для преодоления этого недостатка используется процедура компенсации фона, которая состоит в следующем. По гистограмме яркостей исходного изображения оценивается пороговый уровень, грубо соответствующий уровню перехода от фона к хромосомам. По областям, имеющим яркость, превышающую порог, оцениваются параметры гладкой двумерной функции (используется либо функция, построенная скользящим сглаживанием клипированного изображения большим окном, либо двумерный полином четвертого порядка), которая вычитается из исходного изображения. На рис. 2 приведено изображение, в котором фон скомпенсирован.

Построение контура объекта. Для анализа формы объектов, их удаления и копирования, обнаружения дублированных объектов при работе с несколькими полями и «распрямлении» сильно изогнутых хромосом использует-

ся контурное описание, которое строится из бинарной маски, полученной сечением полутонового изображения по выбранному уровню. При построении контурного описания (как и при построении бинарной маски отдельного объекта) использован алгоритм, основанный на нерекурсивной процедуре заполнения области по критерию связности [1].

Поворот изображения объекта.

По контурному описанию объекта вычисляются его моменты — центр тяжести, моменты инерции относительно горизонтального и вертикального направлений, а также смешанный момент инерции, используя которые можно оценить длину короткой и длинной осей объекта и вычислить угол отклонения длинной оси относительно вертикали. Для ослабления искажений, обусловленных дискретным характером преобразуемых данных, значения яркости повернутого изображения вычисляются путем билинейной интерполяции по четырем ближайшим соседям.

«Распрямление» объекта. Критерием изогнутости объекта служит длина короткой оси, которая для неискаженного объекта не должна превышать заданного значения. Первый этап процедуры распрямления состоит в построении скелета бинарной маски объекта и поиске наиболее длинного пути вдоль скелета, который принимается за начальную оценку осевой линии объекта. Для скелетизации используется набор морфологических операций, аналогичных описанным в [2], и алгоритм последовательного утоньшения, изложенный в [3]. Как показано в [3], скелет чрезвычайно чувствителен к искажениям границ объекта и к начальным условиям, заданным алгоритму, поэтому на следующем этапе с помощью скользящей процедуры линейной ортогональной регрессии осевая линия сглаживается. Собственно распрямление заключается в последовательном формировании строк выходного изображения из строк исходного изображения, пересекающих осевую линию вдоль нормали к ней в точке пересечения, причем для сохранения масштаба точки пересечения выбираются на единичном расстоянии друг от друга вдоль осевой линии. Значения яркости нового изображения также вычисляются с использованием билинейной интерполяции.

«Распрямление» объекта. Критерием изогнутости объекта служит длина короткой оси, которая для неискаженного объекта не должна превышать заданного значения. Первый этап процедуры распрямления состоит в построении скелета бинарной маски объекта и поиске наиболее длинного пути вдоль скелета, который принимается за начальную оценку осевой линии объекта. Для скелетизации используется набор морфологических операций, аналогичных описанным в [2], и алгоритм последовательного утоньшения, изложенный в [3]. Как показано в [3], скелет чрезвычайно чувствителен к искажениям границ объекта и к начальным условиям, заданным алгоритму, поэтому на следующем этапе с помощью скользящей процедуры линейной ортогональной регрессии осевая линия сглаживается. Собственно распрямление заключается в последовательном формировании строк выходного изображения из строк исходного изображения, пересекающих осевую линию вдоль нормали к ней в точке пересечения, причем для сохранения масштаба точки пересечения выбираются на единичном расстоянии друг от друга вдоль осевой линии. Значения яркости нового изображения также вычисляются с использованием билинейной интерполяции.

Попарное разбиение хромосомного набора состоит в поиске ближайших соседей в пространстве признаков, на основе которого и формируются пары «сходственных» хромосом. Признаками для каждой хромосомы являются функции яркости, вычисленные вдоль осевой линии. Для того чтобы эти функции были инвариантны к искажениям типа сдвига и изменения масштаба изображения, они предварительно подвергаются преобразованию Фурье — Меллина.

Предварительные результаты эксплуатации системы. Очевидное достоинство системы заключается в исключении фотографического процесса из процедуры построения кариограммы. Существенно сокращается время, необходимое для «разрезания» изображения метафазной пластинки. Выполнение рутинных работ (этапы 1—5) при работе с системой отнимает у специалиста 5—10 мин в зависимости от сложности метафазной пластинки (наличие соприкасающихся или перекрывающихся хро-

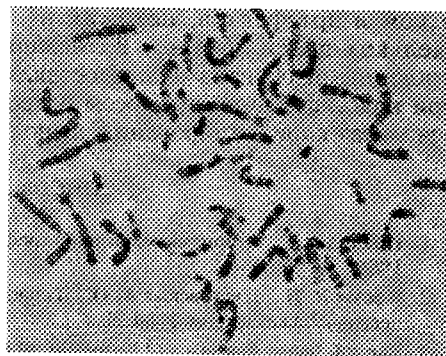


Рис. 2

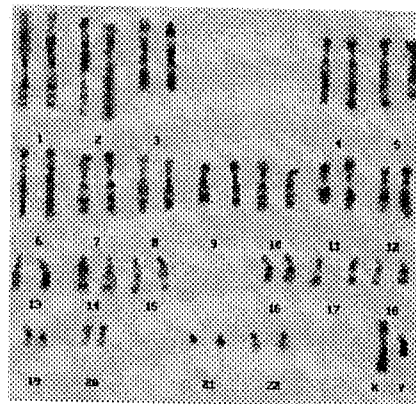


Рис. 3

мосом и артефактов, похожих на хромосомы, необходимость анализа нескольких полей зрения). Возможность сравнения текущего изображения с эталонными образцами предоставляет специалисту определенные удобства при классификации хромосом и хромосомных аномалий. На рис. 3 показан результат кариотипирования, выполненного с помощью данной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Павлидис Т. Алгоритмы машинной графики и обработки изображений. М.: Радио и связь, 1986.
2. Косых В. П., Пустовских А. И., Тарасов Е. В., Яковенко Н. С. Морфологический процессор // Автометрия. 1984. № 4.
3. Serra J. Image Analysis and Mathematical Morphology. L.: Academic Press, 1982.

Поступила в редакцию 20 сентября 1995 г.

Реклама продукции в нашем журнале — залог Вашего успеха!