

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ÚSTAV MATEMATIKY

PaedDr. Dalibor Martišek

**3D REKONSTRUKCE VÝSTUPŮ Z OPTICKÝCH
MIKROSKOPŮ**

**3-D RECONSTRUCTION OF OPTICAL
MICROSCOPE OUTPUTS**

PhD. Thesis

Vědní obor: 39-10-9 matematické inženýrství

Školitel: Doc. RNDr. Miloslav Druckmüller, CSc.

Oponenti: Prof. ing. Josef Kohoutek, CSc.
Doc. RNDr. Bedřich Půža, CSc.
Doc. RNDr. Josef Reischig, CSc.

Datum obhajoby: 10. 7. 2000

© 2000 Dalibor Martišek

ISBN 80-214-1767-6

Obsah

Úvod	5
1. Teoretická východiska	6
2. Grafický prostor	6
2.1. Grafická rovina	6
2.2. Grafický prostor	9
2.3. Obraz	10
3. Vizualizace 3D objektu	12
3.1. Barevná mapa plochy	12
3.2. Vrstevnice	12
3.3. Promítací metody	13
4. Konvenční mikroskop	14
5. Rekonstrukce snímku z konvenčního mikroskopu	16
5.1. Pásmo ostrosti, multifokální obraz	16
5.2. Složení ostrého obrazu	17
5.3. 3D rekonstrukce	19
6. Konfokální mikroskop	20
6.1. Složení optických řezů	21
6.2. 3D rekonstrukce	23
7. Softwarové zpracování	24
Abstract	27
Použitá literatura	32
Použité publikace autora	33
Curriculum vitae	34

ÚVOD

Moje disertační práce se zabývá možnostmi rekonstrukce snímků pořízených optickými mikroskopy, a to jak konfokálními, tak konvenčními. Zpracování těchto snímků softwarovými nástroji může výstupy z těchto zařízení (a tím i zařízení samotná) značně zhodnotit. Jak je patrné z výsledků, které jsou v práci prezentovány, je možné provést poměrně uspokojivým způsobem jak dvoj- , tak trojrozměrné rekonstrukce pozorovaných objektů.

První část práce obsahuje některé matematické pojmy, které jsou v práci používány. Opírá se o citovanou literaturu a pro nedostatek místa není v tezí uvedena.

Druhá část se zabývá základními konstrukcemi v rovině a v prostoru. Základní definované pojmy - pixel a voxel - jsou sice v literatuře používány, nejsou však uspokojivě matematicky definovány. Tato část práce staví základní konstrukce počítačové grafiky na matematický základ, který nebyl dosud publikován a který umožňuje zcela originální konstrukce.

Třetí část se zabývá obecně problematikou zobrazení trojrozměrného objektu na výstupním zařízení počítače. Některé konstrukce jsou opět zcela originální, jiné jsou sice známy, ale ty jsou buď implementovány v profesionálních grafických systémech a jako takové jsou součástí firemních tajemství, nebo jsou zmiňovány v dostupné literatuře, ale naprosto nedostatečným a nepoužitelným způsobem.

Čtvrtá část se zabývá zobrazením objektů optickým mikroskopem. Základní principy jsou samozřejmě známy a v úvodu této části se autor opírá o citovanou literaturu. Nicméně i tyto principy jsou postaveny na matematický základ, který dosud nebyl publikován. Těžištěm této části práce je pak studium jevů, kterými se literatura běžně nezabývá. Jsou to jevy, které jsou obvykle chápány jako vady či meze optického zobrazení, neboť překračují rámeček geometrické optiky. Právě tyto jevy závisí však na geometrii pozorovaného objektu a umožňují tak jeho prostorovou rekonstrukci.

Pátá a šestá část se zabývá rekonstrukcemi objektů pozorovaných konvenčními resp. konfokálními mikroskopy.

Sedmá část popisuje softwarové zpracování celé problematiky.

1. TEORETICKÁ VÝCHODISKA

Tato část práce obsahuje definice a vlastnosti matematických pojmů, které jsou v práci používány. Opírá se o citovanou literaturu a pro nedostatek místa zde není uvedena.

2. GRAFICKÝ PROSTOR

2.1. Grafická rovina

V počítačové grafice ukládáme data jako souřadnice bodů. Body jsou v souladu s tradiční Euklidovskou geometrií modelovány jako bezrozměrné objekty. Zobrazovací plocha výstupního zařízení (ať již monitoru či tiskárny, koneckonců i sítnice lidského oka) je však fyzické zařízení a „body bez rozměrů“ zobrazovat resp. vnímat neumí. Místo pojmu „bod“ je proto používán pojem „pixel“ (novotvar z anglického "picture element") jako „nejmenší zobrazitelný útvar“. Jak však bude zřejmé z následujícího, při matematickém modelování je třeba rozlišovat pixely ve smyslu „logickém“ (tj. výstupní zařízení chápat jako množinu izolovaných Euklidovských bodů) a ve smyslu „fyzickém“ (tj. výstupní zařízení jako „množina elementárních plošek“).

1. Definice: Necht' jsou dány intervaly $I = \langle i_1; i_2 \rangle$; $J = \langle j_1; j_2 \rangle$. Dále necht' $D_x = \{x_i\}_{i=0}^m$; $m > 1$ je ekvidistantní dělení intervalu I , $D_y = \{y_i\}_{i=0}^n$; $n > 1$ je ekvidistantní dělení intervalu J . Obdélník $F_{i,j} = \langle x_i; x_{i+1} \rangle \times \langle y_j; y_{j+1} \rangle$; $i = 0, 1, \dots, m-1$, $j = 0, 1, \dots, n-1$ nazýváme fyzickým pixelem. Čísla $p_x = x_{i+1} - x_i$; resp $p_y = y_{j+1} - y_j$ nazýváme horizontální resp. vertikální rozměr fyzického pixelu $F_{i,j}$. Obdélník $I \times J$ spolu s děleními D_x , D_y nazýváme grafickým prostorem \mathbf{G}_2 (grafickou rovinou), podrobně značíme $\mathbf{G}_2 = (I \times J, D_x, D_y)$. Uspořádanou dvojici $(m; n)$ nazýváme rozlišení grafické roviny.

2. Věta: Horizontální resp. vertikální rozměry všech fyzických pixelů $F_{i,j}$ grafické roviny \mathbf{G}_2 jsou si rovny.

3. Věta: Množina $\mathbf{F}_2 = \{F_{i,j} = \langle x_i; x_{i+1} \rangle \times \langle y_j; y_{j+1} \rangle \mid i \in \{0, \dots, m-1\}, j \in \{0, \dots, n-1\}\}$ všech fyzických pixelů grafické roviny \mathbf{G}_2 je rozkladem grafické roviny \mathbf{G}_2 .

4. Věta: Necht' \mathbf{G}_2 je grafická rovina, \mathbf{F}_2 množina z věty 3. Relace ρ definovaná na \mathbf{G}_2 vztahem $\rho(A, B) \Leftrightarrow (\exists F_{ij} \in \mathbf{F}_2) [A \in F_{ij} \wedge B \in F_{ij}]$ je ekvivalence na \mathbf{G}_2 .

5. Definice: Necht' \mathbf{G}_2 je grafická rovina. Faktorovou množinu $\mathbf{F}_2 = \mathbf{G}_2 / \rho$, kde ρ je ekvivalence z předcházející věty, nazýváme fyzickou rovinou roviny \mathbf{G}_2 . Rozlišením fyzické roviny \mathbf{F}_2 rozumíme rozlišení příslušné grafické roviny \mathbf{G}_2 .

6. Definice: Necht' \mathbf{G}_2 je grafická rovina, \mathbf{F}_2 její fyzická rovina, p_x resp. p_y rozměry jejích fyzických pixelů $F_{i,j}$. Dále necht'

pro $c < p_x$ je ${}_c I = \{r_k \in \mathbf{R} \mid \forall k \in \{0, 1, \dots, m-1\} : r_k \in \langle x_k; x_{k+1} \rangle \wedge r_k - x_k = c\}$
 resp. pro $d < p_y$ je ${}_d J = \{s_k \in \mathbf{R} \mid \forall k \in \{0, 1, \dots, n-1\} : s_k \in \langle y_k; y_{k+1} \rangle \wedge s_k - y_k = d\}$, a
 $P = [c, d]$. Pak množinu ${}_P \mathbf{L}_2 = {}_c I \times {}_d J$ nazýváme logickou rovinou, její prvky ${}_P L_{i,j}$ pak logické pixely.

7. Věta: Necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina grafické roviny \mathbf{G}_2 , ${}_P \mathbf{L}_2$ libovolná logická rovina téže grafické roviny, a ${}_P \varphi : \mathbf{F}_2 \rightarrow {}_P \mathbf{L}_2$ zobrazení takové, že pro každé $i = 0, 1, \dots, m-1$, $j = 0, 1, \dots, n-1$ je ${}_P \varphi(F_{i,j}) = {}_P L_{i,j} \Leftrightarrow {}_P L_{i,j} \in F_{i,j}$. Pak zobrazení ${}_P \varphi$ je bijekce.

8. Definice: Zobrazení ${}_P \varphi : \mathbf{F}_2 \rightarrow {}_P \mathbf{L}_2$ z předchozí věty nazýváme mapováním fyzické roviny.

Mapování ${}_P \varphi : \mathbf{F}_2 \rightarrow {}_P \mathbf{L}_2$ zobrazuje rovinu fyzickou na rovinu logickou. Vzhledem k tomu, že se jedná o bijekci, existuje vždy mapování inverzní ${}_P \varphi^{-1} : {}_P \mathbf{L}_2 \rightarrow \mathbf{F}_2$, které zobrazuje rovinu fyzickou na rovinu logickou. Je zřejmé, že k dané fyzické rovině existuje nekonečně mnoho rovin logických, neboť logickou rovinu ${}_P \mathbf{L}_2$ lze sestrojít pro libovolné $P = [c, d] \in \langle x_0; x_1 \rangle \times \langle y_0; y_1 \rangle$. Každá fyzická rovina může být tedy mapována nekonečně mnoha způsoby. Dále budu používat jen dva nejdůležitější:

9. Definice: Mapování ${}_V \varphi : \mathbf{F}_2 \rightarrow {}_V \mathbf{L}_2$, kde $V = [x_0; y_0]$ nazýváme vrcholovým mapováním. Mapování ${}_S \varphi : \mathbf{F}_2 \rightarrow {}_S \mathbf{L}_2$, kde $S = \left[\frac{1}{2}(x_0 + x_1); \frac{1}{2}(y_0 + y_1) \right]$ nazýváme středovým mapováním.

Poznámka: Nebude-li nutné přesně specifikovat použité mapování, budeme logickou rovinu značit stručně \mathbf{L}_2 a mapování φ .

10. Definice: Necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina, $F_{i,j}$ její fyzický pixel. Uspořádanou dvojici $[i, j]$ nazýváme souřadnicemi fyzického pixelu $F_{i,j}$.

11. Definice: Necht' \mathbf{L}_2 je libovolná logická rovina fyzické roviny \mathbf{F}_2 . Označme $\mathbf{e}_1 = (p_x; 0); \mathbf{e}_2 = (0; p_y); S = L_{00}$. Pak uspořádanou čtveřici $\langle \mathbf{L}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ nazýváme světovou souřadnou soustavou logické roviny \mathbf{L}_2 .

12. Definice: Necht' \mathbf{L}_2 je logická rovina, $\langle \mathbf{L}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ její světová souřadná soustava. Dále necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina, pro kterou existuje inverzní mapování takové, že $\varphi^{-1} : \mathbf{F}_2 \rightarrow \mathbf{L}_2$. Soustavu $\langle \mathbf{L}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ nazýváme světovou souřadnou soustavou fyzické roviny \mathbf{F}_2 indukovanou mapováním φ . Značíme $\langle \mathbf{F}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle_\varphi$.

13. Definice: Necht' \mathbf{L}_2 je logická rovina grafické roviny \mathbf{G}_2 , \mathbf{F}_2 je fyzická roviny téže grafické roviny, $\varphi : \mathbf{L}_2 \rightarrow \mathbf{F}_2$ mapování, $\langle \mathbf{L}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ světová souřadná soustava logické roviny \mathbf{L}_2 . Uspořádanou čtveřici $\langle O; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ nazýváme světovou souřadnou soustavou roviny \mathbf{G}_2 indukovanou mapováním φ . Podrobně značíme $\langle O; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle_\varphi$.

14. Definice: Mějme světovou souřadnou soustavu $\langle \mathbf{L}_2; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2 \rangle$ libovolné logické roviny indukovanou jejím libovolným mapováním. V této soustavě mějme bod $O = [o_1; o_2]$ a vektory $\mathbf{i} = (i_1; 0); \mathbf{j} = (0; j_2)$. Uspořádanou trojici $\langle O; \mathbf{i}; \mathbf{j} \rangle$ nazýváme uživatelskou souřadnou soustavou. Přímkou určenou bodem $O = [o_1; o_2]$ a směrovým vektorem $\mathbf{i}(\mathbf{j})$ nazýváme osou $x(y)$, vektor $\mathbf{i}(\mathbf{j})$ je jednotkový vektor na ose $x(y)$.

15. Definice: Necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina s rozlišením (w/h) , φ je libovolné mapování, $v : \langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle \rightarrow \mathbf{F}_2$ zobrazení takové, že pro každé $[x; y] \in \langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle$ je $v([x; y]) = F_{ij}$ právě tehdy, když $i = \varphi^{-1} \left((x - x_1) \cdot \frac{w}{x_2 - x_1} \right); j = \varphi^{-1} \left((y_2 - y) \cdot \frac{h}{y_2 - y_1} \right)$. Pak toto zobrazení nazýváme uživatelskou transformací. Součin $\langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle$ nazýváme uživatelskou plochou.

16. Věta: Necht' \mathbf{G}_2 je grafická rovina, \mathbf{F}_2 její fyzická rovina, $F_{i,j}$ její fyzické pixely. Zobrazení

$${}^{(2)}\mathbf{E}_{\mathbf{F}} : \mathbf{F}_2 \times \mathbf{F}_2 \rightarrow \mathbf{R} \text{ takové, že } {}^{(2)}\mathbf{E}_{\mathbf{F}}(F_{i,j}; F_{k,l}) = \sqrt{(k-i)^2 + (l-j)^2};$$

$${}^{(2)}\mathbf{P}_{\mathbf{F}} : \mathbf{F}_2 \times \mathbf{F}_2 \rightarrow \mathbf{R} \text{ takové, že } {}^{(2)}\mathbf{P}_{\mathbf{F}}(F_{i,j}; F_{k,l}) = |k-i| + |l-j|;$$

$${}^{(2)}\mathbf{C}_{\mathbf{F}} : \mathbf{F}_2 \times \mathbf{F}_2 \rightarrow \mathbf{R} \text{ takové, že } {}^{(2)}\mathbf{C}_{\mathbf{F}}(F_{i,j}; F_{k,l}) = \max\{|k-i|; |l-j|\}$$

jsou metriky na \mathbf{F}_2 .

2.2. Grafický prostor

1. Definice: Necht' jsou dány intervaly $I = \langle i_1; i_2 \rangle$; $J = \langle j_1; j_2 \rangle$; $K = \langle k_1; k_2 \rangle$ Dále necht' $D_x = \{x_i\}_{i=0}^m$; $m > 1$ je ekvidistantní dělení intervalu I , $D_y = \{y_i\}_{i=0}^n$; $n > 1$; je ekvidistantní dělení intervalu J , $D_z = \{z_k\}_{k=0}^s$; $s > 1$ je ekvidistantní dělení intervalu K . Kvádr $F_{i,j,k} = \langle x_i; x_{i+1} \rangle \times \langle y_j; y_{j+1} \rangle \times \langle z_k; z_{k+1} \rangle$; $i = 0, 1, \dots, m-1$, $j = 0, 1, \dots, n-1$, $k = 0, 1, \dots, s-1$ nazýváme fyzickým voxelem. Čísla $v_x = x_{i+1} - x_i$; resp $v_y = y_{j+1} - y_j$ resp. $v_z = z_{k+1} - z_k$ nazýváme rozměry fyzického voxelu $F_{i,j,k}$. Kvádr $I \times J \times K$ spolu s děleními D_x, D_y, D_z nazýváme grafickým prostorem, podrobně značíme $\mathbf{G}_3 = (I \times J \times K, D_x, D_y, D_z)$.

2. Věta: Odpovídající si rozměry všech fyzických voxelů $F_{i,j,k}$ téhož grafického prostoru \mathbf{G}_3 jsou si rovny.

3. Věta: Množina $\mathbf{F}_3 = \{F_{i,j,k} = \langle x_i; x_{i+1} \rangle \times \langle y_j; y_{j+1} \rangle \times \langle z_k; z_{k+1} \rangle \mid i \in \{0, \dots, m-1\}, j \in \{0, \dots, n-1\}, k \in \{0, \dots, s-1\}\}$ všech fyzických voxelů grafického prostoru \mathbf{G}_3 je rozkladem grafického prostoru \mathbf{G}_3 .

4. Věta: Necht' \mathbf{G}_3 je grafický prostor, \mathbf{F}_3 množina z věty 3. Relace ρ definovaná na \mathbf{G}_3 vztahem $\rho(A, B) \Leftrightarrow (\exists F_{ijk} \in \mathbf{F}_3) [A \in F_{ijk} \wedge B \in F_{ijk}]$ je ekvivalence na \mathbf{G}_3 .

5. Definice: Necht' \mathbf{G}_3 je grafický prostor. Faktorovou množinu $\mathbf{F}_3 = \mathbf{G}_3 / \rho$, kde ρ je ekvivalence z předcházející věty, nazýváme fyzickým prostorem prostoru \mathbf{G}_3 . Rozlišením fyzického prostoru \mathbf{F}_3 rozumíme rozlišení příslušného grafického prostoru \mathbf{G}_3 .

6. Definice: Necht' \mathbf{G}_3 je grafická rovina, \mathbf{F}_3 její fyzická rovina, v_x resp. v_y resp. v_z rozměry jejích fyzických voxelů $F_{i,j,k}$. Dále necht'

pro $c < v_x$ je ${}_c I = \{r_k \in \mathbf{R} \mid \forall k \in \{0, 1, \dots, m-1\} : r_k \in \langle x_k; x_{k+1} \rangle \wedge r_k - x_k = c\}$
 resp. pro $d < v_y$ je ${}_d J = \{s_k \in \mathbf{R} \mid \forall k \in \{0, 1, \dots, n-1\} : s_k \in \langle y_k; y_{k+1} \rangle \wedge s_k - y_k = d\}$
 resp. pro $e < v_z$ je ${}_e J = \{t_k \in \mathbf{R} \mid \forall k \in \{0, 1, \dots, s-1\} : t_k \in \langle y_k; y_{k+1} \rangle \wedge t_k - z_k = e\}$

a $P = [c, d, e]$. Pak množinu ${}_P \mathbf{L}_3 = {}_c I \times {}_d J \times {}_e J$ nazýváme logickým prostorem, její prvky ${}_P L_{i,j,k}$ pak logické voxely.

7. Věta: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický prostor grafického prostoru \mathbf{G}_3 , ${}_P \mathbf{L}_3$ libovolný logický prostor téhož grafického prostoru a ${}_P \phi : \mathbf{F}_3 \rightarrow {}_P \mathbf{L}_3$ zobrazení takové, že pro

každé $i = 0, 1, \dots, m-1$, $j = 0, 1, \dots, n-1$, $k = 0, 1, \dots, s-1$ je

${}_P\varphi(F_{i,j,k}) = {}_P L_{i,j,k} \Leftrightarrow {}_P L_{i,j,k} \in F_{i,j,k}$. Pak zobrazení ${}_P\varphi$ je bijekce.

8. Definice: Zobrazení ${}_P\varphi: \mathbf{F}_3 \rightarrow {}_P\mathbf{L}_3$ z předchozí věty nazýváme mapováním fyzického prostoru.

9. Definice: Mapování ${}_V\varphi: \mathbf{F}_3 \rightarrow {}_V\mathbf{L}_3$, kde $V = [x_0; y_0; z_0]$ nazýváme vrcholovým mapováním. Mapování ${}_S\varphi: \mathbf{F}_3 \rightarrow {}_S\mathbf{L}_3$, kde

$S = \left[\frac{1}{2}(x_0 + x_1); \frac{1}{2}(y_0 + y_1); \frac{1}{2}(z_0 + z_1) \right]$ nazýváme středovým mapováním.

10. Definice: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický prostor, $F_{i,j,k}$ jeho fyzický voxel. Uspořádanou trojici $[i, j, k]$ nazýváme souřadnicemi fyzického voxelu $F_{i,j,k}$.

11. Definice: Necht' \mathbf{L}_3 je libovolný logický prostor fyzického prostoru \mathbf{F}_3 . Označme $\mathbf{e}_1 = (v_x; 0; 0)$; $\mathbf{e}_2 = (0; v_y; 0)$; $\mathbf{e}_3 = (0; 0; v_z)$; $S = L_{000}$. Pak uspořádanou pěticí $\langle \mathbf{L}_3; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2; \mathbf{e}_3 \rangle$ nazýváme světovou souřadnou soustavou logického prostoru \mathbf{L}_3 .

12. Definice: Necht' \mathbf{L}_3 je logický prostor, $\langle \mathbf{L}_3; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2; \mathbf{e}_3 \rangle$ jeho světová souřadná soustava. Dále necht' \mathbf{F}_3 je fyzický prostor, pro který existuje inverzní mapování takové, že $\varphi^{-1}: \mathbf{F}_3 \rightarrow \mathbf{L}_3$. Soustavu $\langle \mathbf{L}_3; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2; \mathbf{e}_3 \rangle$ nazýváme světovou souřadnou soustavou fyzického prostoru \mathbf{F}_3 indukovanou mapováním φ . Značíme $\langle \mathbf{F}_3; S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2; \mathbf{e}_3 \rangle_\varphi$.

13. Věta: Necht' \mathbf{G}_3 je grafický prostor, \mathbf{F}_3 jeho fyzický prostor, $F_{i,j,k}$ jeho fyzické voxely. Zobrazení

${}^{(3)}\mathbf{E}_{\mathbf{F}}: \mathbf{F}_3 \times \mathbf{F}_3 \rightarrow \mathbf{R}$ takové, že ${}^{(3)}\mathbf{E}_{\mathbf{F}}(F_{i,j,k}; F_{l,m,n}) = \sqrt{(l-i)^2 + (m-j)^2 + (n-k)^2}$;

${}^{(3)}\mathbf{P}_{\mathbf{F}}: \mathbf{F}_3 \times \mathbf{F}_3 \rightarrow \mathbf{R}$ takové, že ${}^{(3)}\mathbf{P}_{\mathbf{F}}(F_{i,j,k}; F_{l,m,n}) = |l-i| + |m-j| + |n-k|$;

${}^{(3)}\mathbf{C}_{\mathbf{F}}: \mathbf{F}_3 \times \mathbf{F}_3 \rightarrow \mathbf{R}$ takové, že ${}^{(3)}\mathbf{C}_{\mathbf{F}}(F_{i,j,k}; F_{l,m,n}) = \max\{|l-i|; |m-j|; |n-k|\}$

jsou metriky na \mathbf{F}_3 .

2.3. Obraz

1. Definice: Necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina, $C_r = \{c \in N; 0 \leq c < r; r > 1\}$. Zobrazení $O: \mathbf{F}_2 \rightarrow C_r$ nazýváme obrazovou maticí nebo stručně obrazem. Je-li na \mathbf{F}_2 definována světová souřadná soustava, hovoříme o mapovaném obrazu. Množinu C_r nazýváme r-barevnou množinou. Je-li $O: F_{ij} \rightarrow c$, pak číslo c nazýváme

hodnotou nebo též barvou pixelu F_{ij} . Rozlišením obrazu rozumíme rozlišení příslušné fyzické roviny.

2. Definice: Barevnou množinu C_r , pro kterou je $r = z^n; z > 1$, nazýváme n -chromatickou množinou. Speciálně pro $n = 3$ nazýváme barevnou množinu trichromatickou. Číslo z nazýváme rozlišením barevné množiny.

3. Věta: Necht' C_r je barevná množina trichromatického systému s rozlišením z , $c_0; c_1; c_2; c_i = 0, 1, \dots, z-1$. Pak existuje bijekce $\beta: C_r \rightarrow C_z^3$, taková, že pro každé $c \in C_r$ je $\beta(c) = (c_0; c_1; c_2) \Leftrightarrow c = c_0 z^0 + c_1 z^1 + c_2 z^2$. Na množině C_z^3 existuje uspořádání $(c_0; c_1; c_2) < (d_0; d_1; d_2) \Leftrightarrow c_0 z^0 + c_1 z^1 + c_2 z^2 < d_0 z^0 + d_1 z^1 + d_2 z^2$

4. Definice: Množinu C_z^3 z předchozí věty nazýváme trichromatickým systémem.

5. Definice: Necht' C_r je r -barevná množina, $P \subseteq C_r$ její nejméně dvouprvková podmnožina, $<_P$ uspořádání množiny P . Pak množinu P nazveme paletou vybranou z r -barevné množiny C_r .

6. Definice: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický barevný prostor, $F_{i,j,k}, F_{l,m,n}$ jeho fyzické voxely, $\bar{F}_{i,j,k}, \bar{F}_{l,m,n}$ jejich uzávěry. Voxel $F_{l,m,n}$ nazveme sousedem voxelu $F_{i,j,k}$ právě tehdy, když $\bar{F}_{l,m,n} \cap \bar{F}_{i,j,k} \neq \emptyset$.

7. Definice: Necht' C_r je barevná množina trichromatického systému, \mathbf{F}_3 jeho fyzický barevný prostor $P \subseteq C_r$ je paleta trichromatického systému. Necht' v paletě existují nejvýše dva fyzické voxely $F_{i,j,k}, F_{l,m,n}$, které mají právě jednoho souseda různého od sebe sama (počáteční resp. koncový voxel palety), ostatní voxely necht' mají nejméně dva sousedy různé od sebe sama. Pak paletu P nazveme plynulou.

Ke konstrukci plynulých palet můžeme použít parametricky zadaných spojitých křivek $\alpha \subset \mathbf{G}_3$, a to následujícím způsobem: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický barevný prostor, $(S; \mathbf{e}_1; \mathbf{e}_2; \mathbf{e}_3)$ jeho světová souřadná soustava indukovaná libovolným mapováním. V této souřadné soustavě necht' je určena spojitá křivka parametrickými rovnicemi $x = \varphi(t); y = \psi(t); z = \tau(t); t \in \langle t_1; t_2 \rangle$. Označme $A_1 = [\varphi(t_1); \psi(t_1); \tau(t_1)] \in \mathbf{G}_3$, $A_2 = [\varphi(t_2); \psi(t_2); \tau(t_2)] \in \mathbf{G}_3$. Necht' $F^{(1)}$ je fyzický voxel, pro který je $A_1 \in F^{(1)}$; $F^{(2)}$ pak fyzický voxel, pro který je $A_2 \in F^{(2)}$. Konstrukce plynulé palety pak spočívá v rekurzivním půlení intervalu $\langle t_1; t_2 \rangle$. Volba vhodné palety může velmi přispět k vizualizaci prostorového objektu promítnutého do roviny.

3. VIZUALIZACE 3D OBJEKTU

3.1. Barevná mapa plochy

Barevná mapa plochy není popsána v literatuře, přestože se jedná o relativně jednoduchý prostředek vizualizace trojrozměrných objektů.

1. Definice: Mějme uživatelskou plochu $\langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle$ a funkci $z = f(x; y)$, která je na ní spojitá a jejíž obor hodnot je $H = \langle z_0; z_n \rangle$. Dále necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina, $F_{i,j}$ její fyzické pixely a $v: \langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle \rightarrow \mathbf{F}_2$ je uživatelská transformace. Dále necht' $P \subseteq C_r$ je n prvková paleta, $D_z = \{z_0; z_1; \dots; z_n\}$ je ekvidistantní dělení H a $\tau: H \rightarrow P$ zobrazení takové, že $\tau(z) = k$ právě tehdy, když $z \in \langle k-1; k \rangle$. Pak obraz $O: \mathbf{F}_2 \rightarrow P$ nazýváme barevnou mapou plochy.

Konstrukci barevné mapy pro funkce zadané funkčním předpisem $z = f(x; y)$ jsem již popsal v [21]. Tento algoritmus jsem testoval na ploše sestrojené metodou přesouvání středního bodu ve 2D (publikováno opět v [21]).

3.2. Vrstevnice

Vrstevnicemi plochy $z = f(x; y)$ rozumíme rovinné křivky $f(x; y) = konst$. Je-li funkce $f(x; y)$ spojitá, jsou spojitě i její vrstevnice. Na výstupním zařízení počítače můžeme tyto křivky sestrojít následujícím způsobem - všimneme si nejdříve křivky $f(x; y) = 0$: Výstupní zařízení je fyzická rovina \mathbf{F}_2 , její rozlišení necht' je $(w; h)$. Tuto fyzickou rovinu opatříme uživatelskou souřadnou soustavou $\langle O; i; j \rangle$ s uživatelskou plochou $\langle x_1; x_2 \rangle \times \langle y_1; y_2 \rangle$. Rozměry fyzických pixelů fyzické roviny v uživatelských souřadnicích jsou $p_x = \frac{w}{x_2 - x_1}$; $p_y = \frac{h}{y_2 - y_1}$. Dále sestrojíme logickou rovinu \mathbf{L}_2 a vrcholové mapování. V grafické rovině \mathbf{G}_2 je pak uzavřený fyzický pixel $\overline{F}_{i,j}$ obecně obdélník $L_{i,j}L_{i+1,j}L_{i+1,j+1}L_{i,j+1}$. Funkce $f(x; y)$ je podle předpokladu spojitá. Jestliže tedy $f(L_{i,j})f(L_{i+1,j}) < 0$, pak existuje bod $X \in L_{i,j}L_{i+1,j}$ takový, že $f(X) = 0$. Fyzickou rovinu \mathbf{F}_2 musíme tedy projít po jednotlivých pixelech. Fyzický pixel bude sestrojen tehdy a jen tehdy, existuje-li alespoň jedna dvojici jeho vrcholů, ve kterých má funkce $z = f(x; y)$ různá znaménka. Chceme-li sestrojít vrstevnic více, musíme pracovat s rovnicí $f(x; y) = konst$, tj sestrojovat křivky $f(x; y) - C = 0$. K cyklům přes fyzickou rovinu tedy přibývá cyklus pro $C \in \langle c_1; c_2 \rangle$ krokem hC .

3.3. Promítací metody

1. Definice: Necht' \bar{E}_3 je rozšířený Euklidovský prostor, $\pi \subset \bar{E}_3$ jeho vlastní rovina, $S \notin \pi$ jeho bod. Zobrazení $\rho: \bar{E}_3 \rightarrow \pi$ nazveme středovým promítáním právě tehdy, když pro každé $X \in \bar{E}_3$ platí: $\rho(X) = X' \Leftrightarrow X' \in SX \equiv p \wedge X' \in \pi$. Bod S nazýváme středem promítání, přímkou p promítací přímkou. Je-li střed promítání vlastní, nazýváme promítání lineární perspektivou. Je-li nevlastní, nazýváme promítání axonometrií. Přitom je-li $p \perp \pi$ mluvíme o axonometrii kolmé, v opačném případě o axonometrii kosoúhlé.

2. Věta: Necht' E_3 Euklidovský prostor, E_2 rovina v tomto prostoru, $x', y', z' \subset E_2$ navzájem různé přímky v této rovině takové, že $x' \cap y' \cap z' = \{O'\}$. Pak existuje souřadná soustava $\langle O, \mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k} \rangle$ prostoru E_3 s osami x, y, z a axonometrie Z taková, že $Z: O \rightarrow O', x \rightarrow x', y \rightarrow y', z \rightarrow z'$.

V tomto zobrazení se osy x, y, z souřadné soustavy $\langle O, \mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k} \rangle$ zobrazí na trojici přímek x', y', z' v rovině π , jednotkové vektory $\mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k} \in E_3$ na vektory $\mathbf{i}', \mathbf{j}', \mathbf{k}' \in \pi$, bod O na bod O' . Průmětnu π tedy ztotožníme s nákretnou (obrazovkou počítače), a opatříme ji souřadnou soustavou $O'' = \langle O'', \mathbf{i}'', \mathbf{j}'' \rangle$, kde $O'' = O'$. Vektory $\mathbf{i}', \mathbf{j}', \mathbf{k}'$ necht' mají v této souřadné soustavě souřadnice $\mathbf{i}' = (i_1'; i_2')_{O''}$; $\mathbf{j}' = (j_1'; j_2')_{O''}$; $\mathbf{k}' = (k_1'; k_2')_{O''}$. Necht' $Z: X \rightarrow X', X = [x_1; x_2; x_3] \in E_3, X' = [x_1''; x_2'']_{O''} \in \pi$. Pak platí:

$$\begin{aligned} x_1'' &= i_1' x_1 + j_1' x_2 + k_1' x_3 \\ x_2'' &= i_2' x_1 + j_2' x_2 + k_2' x_3 \end{aligned} \quad (1)$$

Prostorové vztahy lépe odráží axonometrie kolmá, která lépe odpovídá reálnému zrakovému vjemu. Je to axonometrie, jejíž promítací přímky jsou kolmé na průmětnu. Je určena soustavou (1) pro speciální hodnoty $i_1'; i_2'; j_1'; j_2'; k_1'; k_2'$.

Lineární perspektiva: je středové promítání na rovinu. Kolmici spuštěnou ze středu $S \notin \pi$ promítání na průmětnu π nazýváme hlavní paprsek. Opět určíme směr pohledu do souřadné soustavy $\langle O, \mathbf{i}, \mathbf{j}, \mathbf{k} \rangle$. Zvolený horizontální a vertikální úhel bude nyní určovat směr hlavního paprsku. Toto promítání je vhodné na realistické znázorňování prostorových objektů pozorovaných ve větších zorných úhlech. Odvození zobrazovacích rovnic kolmé axonometrie a lineární perspektivy, jakož i řešení viditelnosti, stínování a modelování průhledných a průsvitných objektů se vymyká rozsahu těchto tezí, tuto problematiku autor publikoval v [20], [21].

4. KONVENČNÍ MIKROSKOP

Konvenční mikroskop je centrovaná soustava dvou spojných čoček. Čočka přivrácená k předmětu - objektiv - má velmi malou ohniskovou vzdálenost f_1 (několik mm), čočka přivrácená k oku či snímacímu zařízení - okulár - má ohniskovou vzdálenost f_2 řádově desetkrát větší (několik cm). V reálných optických zařízeních mohou být ovšem objektiv i okulár složité optické soustavy. Vzdálenost mezi obrazovou ohniskovou rovinou objektivu φ_1' a předmětovou ohniskovou rovinou okuláru φ_2 nazýváme optický interval a značíme Δ . Zobrazovaný předmět můžeme pozorovat buď prostým okem, nebo zaznamenávat na snímacím zařízení. Není-li mikroskop určen k pozorování prostým okem, lze celé zařízení principiálně zjednodušit. Snímací zařízení může nahradit celý okulár a snímat objekt přímo z předmětové ohniskové roviny.

Geometrická optika používá termíny předmětový resp. obrazový prostor (ozn. P_3 resp. P_3'). V prostoru P_3 se zavádí pravoúhlá souřadná soustava $\langle O, \mathbf{x}, \mathbf{y}, \mathbf{z} \rangle$, v P_3' pak pravoúhlá soustava $\langle O', \mathbf{x}', \mathbf{y}', \mathbf{z}' \rangle$. Osy \mathbf{x}, \mathbf{x}' se nazývají hlavní osy, leží-li v téže přímce, nazývá se zobrazení centrované. V dalším se budeme zabývat jen centrovaným zobrazením. Zobrazení se uskutečňuje přímými paprsky procházející v předmětovém prostoru zobrazovaným bodem P , které optická soustava změní v konjugované paprsky procházející obrazovým prostorem a protínajících se v obrazu P' bodu P .

1. Definice: Projektivní zobrazení $\mathbf{G} : P_3 \rightarrow P_3'$ předmětového prostoru P_3 do obrazového prostoru P_3' nazveme geometrickou projekcí právě tehdy, když:

- Existují body $H \in x$; $H' \in x'$ (předmětový resp. obrazový hlavní bod). takové, že $\mathbf{G}(H) = H'$ a pro každou přímku p ; $H \in p$ je $p \parallel \mathbf{G}(p)$. Roviny $\chi; \chi'$ proložené předmětovým resp. obrazovým hlavním bodem kolmo k hlavní ose jsou předmětová resp. obrazová hlavní rovina.
- Existuje rovina $\varphi : \varphi \subset P_3 \wedge \varphi \perp x$ (předmětová ohnisková rovina) taková, že $\mathbf{G}(\varphi) \in P_3'$ je nevlastní rovina obrazového prostoru. Bod $F \in \varphi \cap x$ nazýváme předmětové ohnisko. Délka $|FH| = f$ je předmětová ohnisková vzdálenost.
- Existuje rovina $\varphi' : \varphi' \subset P_3' \wedge \varphi' \perp x'$ (obrazová ohnisková rovina) taková, že $\mathbf{G}^{-1}(\varphi') \in P_3$ je nevlastní rovina předmětového prostoru. Bod $F' \in \varphi' \cap x'$ nazýváme předmětové ohnisko. Délka $|F'H'| = f'$ je obrazová ohnisková vzdálenost.

2. Definice: Necht' $\mathbf{G} : P_3 \rightarrow P_3'$ je geometrická projekce, φ_2 předmětová ohnisková rovina snímacího zařízení. Rovinu ω , pro kterou je $\mathbf{G}^{-1} : \varphi_2 \rightarrow \omega$ nazýváme rovinou ostrosti.

Zobrazení reálným konvenčním mikroskopem nesplňuje postuláty geometrické optiky nikdy zcela přesně, a to z několika důvodů:

- Omezená šířka svazku paprsků.** Je-li $\langle O, \mathbf{x}, \mathbf{y}, \mathbf{z} \rangle$ souřadná soustava předmětového prostoru a $\mathbf{u} = [u_1; u_2; u_3]$ směrový vektor optického paprsku, pak geometrické zobrazování bodu P se uskutečňuje svazkem paprsků $\mathbf{S} = \{\bar{p} \subset P_3; P \in \bar{p}; u_1, u_2 < 0\}$. Označíme-li \mathbf{A} množinu velikostí všech úhlů, které navzájem svírají paprsky tohoto svazku, pak $\sup \mathbf{A} = \pi$. Reálný mikroskop má vždy $\sup \mathbf{A} < \pi$. Nadále budeme tedy písmenem \mathbf{S} značit svazek paprsků, který prochází reálným optickým mikroskopem.
- Vlnová podstata světla** má za následek jeho ohyb. Obrazem bodu P není bod, ale množina bodů – vlnová stopa
- Nekomplanárnost preparátu** způsobí, že svazek \mathbf{S} protne předmětovou ohniskovou rovinu φ_2 snímacího zařízení opět v množině bodů – Euklidovské stopě.
- Rozlišovací schopnost snímacího zařízení** má za následek, že se bod P zobrazí na fyzický pixel $F_{i,j}$ o rozměrech $p_x = w^{-1}$; $p_y = h^{-1}$

1. Definice: Necht' $\mathbf{M}_V \subset \omega \times \varphi_2$ je relace taková, že

$$[P; Q] \in \mathbf{M}_V \Leftrightarrow Q \in \mathbf{S}_V^P = \left\{ X \in \varphi_2 \mid |XP| \leq \frac{\lambda_0}{4A} \wedge P' = \mathbf{G}(P) \right\}$$

Relaci \mathbf{M}_V nazýváme vlnovým mikroskopováním. Množinu \mathbf{S}_V^P nazýváme vlnovou stopou bodu P , číslo $d(\mathbf{S}_V^P) = \sup_{X, Y \in \mathbf{S}_V^P} \{a \in \mathbb{R} \mid a = |X; Y|\} = \frac{\lambda_0}{2A}$ nazýváme jejím průměrem (zde je λ_0 vlnová délka světla, A numerická apertura mikroskopu).

2. Definice: Necht' P_3 je předmětový prostor mikroskopu, $\mathbf{G} : P_3 \rightarrow P_3'$ geometrická projekce. Dále necht' $\bar{P} \in P_3$; $\mathbf{G} : \bar{P} \rightarrow \bar{P}'$; \mathbf{S} je homocentrický svazek procházející bodem \bar{P} a $\mathbf{G} : \mathbf{S} \rightarrow \mathbf{S}'$. Relaci $\mathbf{M}_E \subset P_3 \times \varphi = \{[\bar{P}; \bar{P}'] \mid \exists \bar{p} \in \mathbf{S}' : \bar{P}' \in \bar{p} \cap \varphi\}$ nazýváme Euklidovským mikroskopováním. Množinu $\mathbf{S}_E^P = \{P' \in \varphi \mid [P; P'] \in \mathbf{M}_E\}$ nazýváme Euklidovskou stopou bodu P , číslo $d(\mathbf{S}_E^P) = \sup\{|X; Y|; X, Y \in \mathbf{S}_E^P\}$ nazýváme jejím průměrem.

5. REKONSTRUKCE SNÍMKU Z KONVENČNÍHO MIKROSKOPU

5.1. Pásmo ostrosti, multifokální obraz

Zavedme tyto zjednodušující předpoklady:

- Pro každou vlnovou stopu \mathbf{s}_V^P existuje fyzický pixel $F_{i,j}$ snímacího zařízení, pro který je $\mathbf{s}_V^P \subset F_{i,j}$
- Nechť ${}_{(1)}P; {}_{(2)}P \in \omega$ jsou dva různé body roviny ostrosti, $\mathbf{G} : P \rightarrow P'$ geometrická projekce, $\mathbf{G}({}_{(1)}P) = {}_{(1)}P'$; $\mathbf{G}({}_{(2)}P) = {}_{(2)}P'$; $F_{i,j}; F_{k,l}$ dva fyzické pixely snímacího zařízení takové, že ${}_{(1)}P' \in F_{i,j}$; ${}_{(2)}P' \in F_{k,l}$. Je-li ${}_{(1)}P \neq {}_{(2)}P$; pak $F_{i,j} \neq F_{k,l}$.
- Euklidovská stopa \mathbf{s}_E^P bodu $P \notin \omega$ je Euklidovský kruh.

Pokud by bylo možno v rovině zobrazovat Euklidovské body, znamenal by každý nenulový průměr Euklidovské stopy rozostřený obraz. Je-li však fyzickou rovinou s fyzickými pixely, pak se neostrost projeví pouze tehdy, je-li $d(\mathbf{s}_E^P) > p$, kde $p = \min\{p_x; p_y\}$. Jestliže $d(\mathbf{s}_E^P) \leq p$, můžeme považovat obraz za ostrý.

1. Definice: Nechť $P \in P_3$ je bod předmětového prostoru, $\mathbf{M}_E \subset P_3 \times \varphi$ Euklidovské mikroskopování, \mathbf{F}_2 je fyzická rovina ohniskové roviny φ , $p_x; p_y$ rozměry jejich fyzických pixelů, $d(\mathbf{s}_E^P)$ průměr Euklidovské stopy bodu P . Množinu ${}_{(O)}P_3 = \{P \in P_3 \mid d(\mathbf{s}_E^P) < p; p = \min\{p_x; p_y\}\}$ nazýváme otevřeným pásmem ostrosti mikroskopu.

2. Definice: Nechť $P = [p_1; p_2; p_3]$; $Q = [q_1; q_2; q_3]$ jsou body otevřeného pásma ostrosti ${}_{(O)}P_3$. Číslo
$$v({}_{(O)}P_3) = \sup\{|p_1 - q_1|; P = [p_1; p_2; p_3]; Q = [q_1; q_2; q_3]; P, Q \in {}_{(O)}P_3\}$$
 nazýváme výškou pásma ostrosti ${}_{(O)}P_3$.

Části preparátu, které se nacházejí v pásmu ostrosti, budou zobrazeny ostře, části mimo pás ostrosti budou rozostřeny. Množinu všech bodů preparátu, které se nacházejí v pásmu ostrosti mikroskopu, budeme nazývat optickým řezem:

3. Definice: Nechť \mathbf{P} je pozorovaný preparát, ${}_{(O)}\bar{P}_3$ pásmo ostrosti mikroskopu. Množinu $\mathbf{R} = \mathbf{P} \cap {}_{(O)}\bar{P}_3$ nazveme optickým řezem preparátu.

4. Definice: Necht' \mathbf{R} je optický řez preparátu. Množinu $\mathbf{S}_E^{\mathbf{R}} = \{\mathbf{S}_E^P \subset \varphi_2 | P \in \mathbf{R}\}$ nazýváme Euklidovskou stopou optického řezu \mathbf{R}

5. Definice: Necht' \mathbf{F}_2 je fyzická rovina ohniskové roviny φ_2 , $F_{i,j}^{(\varphi)}$ její fyzické pixely, \mathbf{M}_E Euklidovské mikroskopování. Zobrazení

$$\mathbf{M}_D : P_3 \rightarrow \mathbf{F}_2 : \mathbf{M}_D(P) = F_{i,j} \Leftrightarrow ([P, P'] \in \mathbf{M}_E \wedge P' \in F_{i,j})$$

nazýváme digitalizovaným mikroskopováním.

6. Definice: Necht' $\{(^{(k)}\mathbf{M}_D)\}_{k=1,\dots,n}$ je posloupnost digitalizovaných mikroskopování téhož preparátu, $\{(^{(k)}\bar{P}^3)\}_{k=1,\dots,n}$ posloupnost jejich uzavřených pásem ostrosti takových, že $\mathbf{P} \subset \bigcup_{k=1}^n (^{(k)}\bar{P}^3)$. Pak posloupnost $\{(^{(k)}O)\}_{k=1,\dots,n}$ jejich výsledků nazýváme n -fokálním obrazem. Posloupnost $\{(^{(k)}\mathbf{M}_D)\}_{k=1,\dots,n}$ nazýváme n -fokálním digitalizovaným mikroskopováním.

5.2. Složení ostrého obrazu

2D zpracování n -fokálního obrazu bude zřejmě spočívat ve složení nového obrazu tak, aby se tento nový obraz skládal pouze z obrazů optických řezů jednotlivých digitalizovaných mikroskopování $(^{(k)}\mathbf{M}_D)$. Naším úkolem je nyní stanovit vhodná kritéria pro jednotlivé fyzické pixely obrazů $\{(^{(k)}O)\}_{k=1,\dots,n}$, která by co nejlépe příslušnost k řezu $(^{(k)}\mathbf{R})$ co nejlépe indikovala.

1. Věta: Necht' $K_{i,j} = (F_{i,j}; r)$ je kruh ve fyzické rovině \mathbf{F}_2 výstupního zařízení v libovolné metrice dle odst. 1.1., v16, $(^{(k)}P_{i,j}) : K_{i,j} \rightarrow C_n$ podobraz obrazu $(^{(k)}O)$ z n -fokálního obrazu $\{(^{(k)}O)\}_{k=1,\dots,n}$, $\mathbf{S}_{i,j} = 2^{K_{i,j}}$ je množina všech podmnožin kruhu $K_{i,j}$. Dále necht' $(^{(k)}C_{r,s})$ je hodnota fyzického pixelu $F_{r,s}$ obrazu $(^{(k)}O)$, $(^{(k)}C) = \sum_{K_{r,s}} (^{(k)}C_{r,s})$ součet těchto hodnot přes kruh $K_{i,j}$ v obrazu $(^{(k)}O)$. Definujme

zobrazení $(^{(k)}P) : \mathbf{S}_{i,j} \rightarrow \mathbf{R}$ takto:

$$\text{a) } (^{(k)}P(\{F_{r,s}\})) = \frac{(^{(k)}C_{r,s})}{(^{(k)}C)}$$

$$\text{b) } A, B \in \mathbf{S}_{i,j} \wedge A \cap B = \emptyset \Rightarrow (^{(k)}P(\{A \cup B\})) = (^{(k)}P(\{A\})) + (^{(k)}P(\{B\}))$$

Pak $(K_{i,j}; \mathbf{S}_{i,j}; (^{(k)}P))$; $k=1,\dots,n$ jsou pravděpodobnostní prostory, zobrazení

$(^{(k)}X) : K_{i,j} \rightarrow \mathbf{R} : (^{(k)}X(\{F_{r,s}\})) = \frac{(^{(k)}C_{r,s})}{(^{(k)}C)}$ jsou diskrétní integrovatelné náhodné veličiny.

2. Definice: Zobrazení ${}^{(k)}X : K_{i,j} \rightarrow \mathbf{R}$ z předchozí věty nazýváme zaostření fyzického pixelu $F_{i,j}$ na obrazu ${}^{(k)}O$.

Střední hodnoty definovaných zaostření pixelů $F_{i,j}$ obrazů ${}^{(k)}O$ jsou zřejmě

$E({}^{(k)}X) = \sum_{K_{i,j}} \frac{{}^{(k)}C_{r,s}}{{}^{(k)}C}$ a variačními rozpětími jsou čísla

$$v({}^{(k)}X) = \frac{1}{{}^{(k)}C} \left(\max_{F_{r,s} \in K_{i,j}} \{{}^{(k)}C_{r,s}\} - \min_{F_{r,s} \in K_{i,j}} \{{}^{(k)}C_{r,s}\} \right) \quad (1)$$

kde ${}^{(k)}C_{r,s}$ je hodnota fyzického pixelu $F_{r,s}$ v obrazu ${}^{(k)}O$, tj. ${}^{(k)}C_{r,s} = {}^{(k)}O(F_{r,s})$

Také ${}^{(k)}Y = ({}^{(k)}X - E({}^{(k)}X))^2 : K_{i,j} \rightarrow \mathbf{R} : {}^{(k)}Y(F_{r,s}) = \left(\frac{{}^{(k)}C_{r,s}}{{}^{(k)}C} - \sum_{K_{i,j}} \frac{{}^{(k)}C_{r,s}}{{}^{(k)}C} \right)^2$ jsou

diskrétní integrovatelné náhodné veličiny a

$$D({}^{(k)}X) = \frac{1}{{}^{(k)}C} \sum_{K_{i,j}} \left(\frac{{}^{(k)}C_{r,s}}{{}^{(k)}C} - \sum_{K_{i,j}} \frac{{}^{(k)}C_{r,s}}{{}^{(k)}C} \right)^2 \quad (2)$$

jsou rozptyly náhodných veličin ${}^{(k)}X$ definovaných na kruhu $K_{i,j}$ ve fyzické rovině \mathbf{F}_2 výstupního zařízení.

3. Definice: Výraz (1) nazýváme variační kritérium, výraz (2) rozptylové kritérium.

Ke konstrukci posledního kritéria použijeme dvojrozměrné diskrétní Fourierovy transformace. Je-li $\mathbf{D} : \{{}^{(k)}C_{r,s}\} \rightarrow \{{}^{(k)}X_{m,n}\}$ diskrétní Fourierova transformace,

${}^{(k)}X_{m,n} = {}^{(k)}U_{m,n} + i {}^{(k)}V_{m,n}$; $m, n = 0, 1, \dots, 2\varepsilon$, pak výrazy $|{}^{(k)}X_{m,n}| = \sqrt{{}^{(k)}U_{m,n}^2 + {}^{(k)}V_{m,n}^2}$

představují hodnoty amplitud prostorových frekvencí přítomných v okolí $K_{i,j}$ fyzického pixelu $F_{i,j}$ na jednotlivých obrazech ${}^{(k)}O$. Vzhledem k vlastnostem

těchto frekvencí stačí uvažovat pouze hodnoty ${}^{(k)}U_{m,n}$; ${}^{(k)}V_{m,n}$; $m, n = 0, 1, \dots, \varepsilon$. Vyšší

hodnoty indexů m, n znamenají vyšší prostorové frekvence, které indikují vyšší

kontrast drobných detailů na zkoumaném okolí a tím i lepší zaostření. Jako kritérium

zaostření obrazu tedy může sloužit výraz obsahující frekvence $|{}^{(k)}X_{m,n}|$, který

vyšším indexům m, n přisuzuje vyšší váhu. K identifikaci pásma ostrosti jsem použil výraz

$${}^{(k)}T(X_{m,n}) = \sum_{m=0}^H \sum_{n=0}^H (m+n) \sqrt{{}^{(k)}U_{m,n}^2 + {}^{(k)}V_{m,n}^2}; \quad H \leq \varepsilon \quad (3)$$

4. **Definice:** Výraz (3) nazýváme frekvenční kritérium.

Dosavadní výsledky ukazují, že maxima výrazů (1), (2), (3) velmi dobře detekují maximální zaostření pixelu a mohou být použity ke složení ostrého obrazu.

5.3. 3D rekonstrukce

Metoda řezů konstantní výšky: Z fyzikální podstaty vzniku multifokálního obrazu je zřejmé, že je-li ${}^{(0)}O(F_{i,j}) = k$, pak fyzický pixel $F_{i,j}$ nese informaci o bodu P preparátu \mathbf{P} , pro který je $P \in {}^{(k)}P$. Jsou-li otevřená pásma ${}^{(k)}P$ po dvou disjunktní, lze bodům v pásmu ${}^{(k)}P$ přiřadit stejnou výšku a obržet tak funkci dvou proměnných, jejíž graf přibližně odpovídá pozorovaného preparátu. Označíme-li v celkovou výšku preparátu, pak výška pásma ostrosti n fokálního obrazu je v/n a funkci $f(i, j)$, která přibližně popisuje pozorovaný preparát je $f(i, j) = \frac{1}{n} {}^{(0)}O(F_{i,j})$. Tato operace je podstatou metody řezů konstantní výšky

Metoda filtrovaných řezů: Mějme multifokální obraz $\{ {}^{(k)}O \} k = 1; \dots; n$ a funkci $f(i, j)$ sestrojenou z tohoto obrazu metodou řezů konstantní výšky.

1. Definice: Necht' \mathbf{A} je reálná matice typu (m, n) , $m, n > 2\varepsilon; \varepsilon \in \mathbf{N}$, $a_{i,j} \in \mathbf{R}$ její libovolný prvek, $O_\varepsilon(a_{i,j})$ ε -ové okolí prvku $a_{i,j}$, $\varepsilon \leq i \leq m - \varepsilon; \varepsilon \leq j \leq n - \varepsilon$, $\bar{a}_{i,j}$ střední hodnota prvků $a_{k,l} \in O_\varepsilon(a_{i,j})$. Matici ${}^{(\varepsilon)}\mathbf{A}$ nazveme ε -ovým průměrem matice \mathbf{A} právě tehdy, když pro každý její prvek ${}^{(\varepsilon)}a_{i,j}$ platí:

$${}^{(\varepsilon)}a_{i,j} = \begin{cases} a_{i,j} & \Leftrightarrow i, j < \varepsilon \vee i > m - \varepsilon \vee j > n - \varepsilon \\ \bar{a}_{i,j} & \text{jinak} \end{cases}$$

Funkci f můžeme vyjádřit jako matici typu (w, h) s reálnými koeficienty. Můžeme tedy sestrojít funkci ${}^{(\varepsilon)}f$, která je ε -ovým průměrem funkce f . Tato funkce podstatně lépe aproximuje pozorovaný preparát. Tato operace je podstatou metody filtrovaných řezů.

Metoda přímého určení výšky: Uvažujeme-li geometrickou projekci $\mathbf{G} : P_3 \rightarrow P'_3$, pak je $P \in \omega \Rightarrow \mathbf{G}(P) = P' \in \varphi_2; Q \notin \omega \Rightarrow \mathbf{G}(Q) = Q' \notin \varphi_2$. Pro Euklidovské stopy $\mathbf{s}_E^P; \mathbf{s}_E^Q$ bodů $P \in \omega; Q \notin \omega$ pak je $\mathbf{s}_E^P = \{P'\}$, tedy $d(\mathbf{s}_E^P) = 0; d(\mathbf{s}_E^Q) > 0$. Je-li ${}^{(k)}X : F_{ij} \rightarrow \mathbf{R}$ zaostření obrazu ${}^{(k)}O$ multifokálního obrazu O , $v({}^{(k)}X)$ resp. $D({}^{(k)}X)$ resp. $T({}^{(k)}X)$ hodnoty variačního resp. rozptylového popř.

frekvenčního kriteriia na tomtěž obrazu $^{(k)}O$, polořme: $v^{(\max X)} = \max\{v^{(k)X}\}_{^{(k)}O \in O}$; $D^{(\max X)} = \max\{D^{(k)X}\}_{^{(k)}O \in O}$; $T^{(\max X)} = \max\{T^{(k)X}\}_{^{(k)}O \in O}$. Metoda přímého určení výřky vychází z předpokladu, ře hodnoty kriterií zaostření závisí na průměru Euklidovské stopy $d^{(k)}\mathbf{s}_E^Q$ bodu Q při digitalizovaném mikroskopování $^{(k)}\mathbf{M}_D$ resp. na úseřce délky $^{(k)}\mathbf{l}$, která jej nahrazuje při tomtěř mikroskopování, tj, ře existují funkce $v^{(k)X} = f_v(^{(k)}\mathbf{l})$ resp. $D^{(k)X} = f_D(^{(k)}\mathbf{l})$ resp. $T^{(k)X} = f_T(^{(k)}\mathbf{l})$. Ukázal jsem, ře k těmto funkcím existují funkce inverzní $k = f_v^{-1}$; $k = f_D^{-1}$; $k = f_T^{-1}$, které dovolují určit průměr stopy na základě hodnot kriterií zaostření:

$$^{(k)}\mathbf{l} = f_v^{-1} = c \cdot \frac{v^{(\max X)}}{v^{(k)X}}; \quad ^{(k)}\mathbf{l} = f_D^{-1} = c \cdot \frac{D^{(\max X)}}{D^{(k)X}}; \quad ^{(k)}\mathbf{l} = f_T^{-1} = c \cdot \frac{T^{(\max X)}}{T^{(k)X}} \quad (1)$$

Zároveň jsem odvodil závislost průměru d Euklidovské stopy \mathbf{s}_E^Q bodu $Q \notin \omega$ na jeho vzdálenosti h od roviny ostrořti ω : $h = \frac{df(\Delta + f)}{\Delta(s'+d)}$. Tento výraz spolu

s rovnicemi (1) umožňuje přímo určit vzdálenost daného pixelu od roviny ostrořti, a tím i prostorovou rekonstrukci preparátu.

6. KONFOKÁLNÍ MIKROSKOP

Konfokální mikroskop má pásmo ostrořti ve srovnání s mikroskopem konvenčním velmi úzké a body preparátu, leřící v množině neostrořti prakticky nezobrazuje. Odpadá zde detekce řeřů a ke sloření ostrého obrazu lze použít několik oprací, známých z obrazové analýzy. Multiohnskový obraz se může skládat až z několika desítek obrazů, přičemř Euklidovské stopy optických řeřů mohou mít neprázdný průnik. Znamená to, ře snímaný preparát je průhledný, tj. na jeho jednotlivých vrstvách je světelný paprsek řástečně odrařen a řástečně prochází preparátem, aby byl odrařen jinou jeho vrstvou. Je-li tomu tak, dochází k mířání barev v odrařeném a prošlém světle. Operace s obrazy jsem tedy zobecnil pro libovolný počet složek a přidal jejich váření. Aby toto váření mělo fyzikální opodstatnění, musí váha zřejmě záviset na pořadí vrstev dle průchodu světla, zobecněním tedy tyto operace ztratí komutativitu. Jako nejvýhodnější se jeví operace definovat indukci, přičemř váhy, které mohou mít význam poměru prošlého a odrařeného světla by měly mít v každém kroku součet jedna, neboť nepředpokládáme pohlcování světla preparátem.

6.1. Složení optických řezů

V dalším textu je $\mathbf{o} = \{(k)O\}$ $k = 1, \dots, n$ multifokální obraz v systému RGB, tj. posloupnost obrazů $(k)O: \mathbb{F}_2 \rightarrow C_{256^3}$. Označme $(k)O(F_{i,j}) = {}^{(k)}_0c_{i,j} + 256{}^{(k)}_1c_{i,j} + 256^2{}^{(k)}_2c_{i,j}$ barvu fyzického pixelu $F_{i,j}$ na obraze $(k)O$ (koeficienty ${}^{(k)}_0c_{i,j}$ resp. ${}^{(k)}_1c_{i,j}$ resp. ${}^{(k)}_2c_{i,j}$ značí tedy hodnotu barevné složky R resp. G resp. B pixelu $F_{i,j}$ na obraze $(k)O$). Dále necht' je dán obraz $O: \mathbb{F}_2 \rightarrow C_{256^3}$ v systému RGB, kde $O(F_{i,j}) = {}_0c_{i,j} + 256{}_1c_{i,j} + 256^2{}_2c_{i,j}$.

1. Definice: Obraz O nazveme kompresním váženým součtem multifokálního obrazu \mathbf{o} právě tehdy, když pro hodnoty ${}_m c_{i,j}; m = 0, 1, 2$ barevných složek

každého pixelu $F_{i,j}$ obrazu $O = \bigoplus_{k=1}^n (k)O$ platí:

a) ${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}_m c_{i,j}; m = 0, 1, 2$ pro $n = 1$

b) jsou-li $\sum_m^n c_{i,j}$ hodnoty barevných složek obrazu $\sum^n O(F_{i,j}) = \bigoplus_{k=1}^n (k)O(F_{i,j})$, pak

pro hodnoty $\sum_m^{(n+1)} c_{i,j}$ barevných složek obrazu $\sum^{(n+1)} O(F_{i,j}) = \bigoplus_{k=1}^{n+1} (k)O(F_{i,j})$ platí

$$\sum_m^{(n+1)} c_{i,j} = \text{Trunc} \left[p \cdot \sum_m^n c_{i,j} + (1-p) \cdot {}^{(n+1)}_m c_{i,j} \right]; p \in (0; 1)$$

2. Definice: Obraz $O = \bigotimes_{k=1}^n (k)O$ nazveme váženým kompresním součinem multifokálního obrazu \mathbf{o} právě tehdy, když pro hodnoty ${}_m c_{i,j}; m = 0, 1, 2$ barevných složek každého jeho pixelu $F_{i,j}$ platí:

a) ${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}_m c_{i,j}; m = 0, 1, 2$ pro $n = 1$

b) jsou-li $\prod_m^n c_{i,j}$ hodnoty barevných složek obrazu $\prod^n O(F_{i,j}) = \bigotimes_{k=1}^n (k)O(F_{i,j})$, pak

pro hodnoty $\prod_m^{(n+1)} c_{i,j}$ barevných složek obrazu $\prod^{(n+1)} O(F_{i,j}) = \bigotimes_{k=1}^{n+1} (k)O(F_{i,j})$ platí

$$\prod_m^{(n+1)} c_{i,j} = \begin{cases} \prod_m^n c_{i,j} & \text{pro } {}^{(n+1)}_m c_{i,j} = 0 \\ \text{Trunc} \left[\frac{1}{256} \prod_m^n c_{i,j}^p \cdot {}^{(n+1)}_m c_{i,j}^{1-p} \right] & \text{pro } {}^{(n+1)}_m c_{i,j} > 0 \end{cases}; p \in (0; 1)$$

Z definičního vztahu kompresního součinu je zřejmé, že každým násobením klesá hodnota zpracovávaného pixelu. Má-li v daném fyzickém pixelu $F_{i,j}$ větší počet

obrazů $^{(k)}O$ nenulovou hodnotu (tj. v případě, že se zde nachází silná vrstva preparátu), klesne hodnota součinu v tomto pixelu pod předem určenou mez. Jestliže v tom případě obarvíme pixel barvou pozadí, dostaneme jako výsledek obraz, který obsahuje jen tenké vrstvy preparátu a neobsahuje vrstvy silné. Síla zobrazených vrstev závisí na volbě parametru p .

3. Definice: Obraz $O = \div_{k=1}^n {}^{(k)}O$ nazveme kompresním váženým inverzním součinem multifokálního obrazu \mathbf{O} právě tehdy, když pro hodnoty ${}_m c_{i,j}; m = 0,1,2$ barevných složek každého jeho pixelu $F_{i,j}$ platí:

a) ${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2$ pro $n = 1$

b) jsou-li $\Pi^n {}_m c_{i,j}$ hodnoty barevných složek obrazu $\Pi^n O(F_{i,j}) = \div_{k=1}^n {}^{(k)}O(F_{i,j})$, pak

pro hodnoty $\Pi^{(n+1)} {}_m c_{i,j}$ barevných složek obrazu $\Pi^{(n+1)} O(F_{i,j}) = \div_{k=1}^{n+1} {}^{(k)}O(F_{i,j})$ platí

$$\Pi^{(n+1)} {}_m c_{i,j} = \begin{cases} \Pi^n {}_m c_{i,j} & \text{pro } {}^{(n+1)} {}_m c_{i,j} = 0 \\ \text{Trunc} \left[\frac{256}{\Pi^n {}_m c_{i,j}^p \cdot {}^{(n+1)} {}_m c_{i,j}^{1-p}} \right] & \text{pro } {}^{(n+1)} {}_m c_{i,j} > 0 \end{cases}; \quad p \in (0;1)$$

Z definičního vztahu kompresního inverzního součinu je opět zřejmé, že každým dělením hodnota zpracovávaného pixelu roste. Má-li v daném fyzickém pixelu $F_{i,j}$ nenulovou hodnotu malý počet obrazů $^{(k)}O$ (tj. v případě, že se zde nachází tenká vrstva preparátu), nestoupne hodnota inverzního součinu v tomto pixelu nad předem určenou mez. Jestliže v tom případě obarvíme pixel barvou pozadí, dostaneme jako výsledek obraz, který obsahuje jen silné vrstvy preparátu a neobsahuje vrstvy tenké. Síla zobrazených vrstev opět závisí na volbě parametru p .

4. Definice: Obraz $O = \vee_{k=1}^n {}^{(k)}O$ nazveme disjunkcí multifokálního obrazu \mathbf{O} právě tehdy, když pro hodnoty ${}_m c_{i,j}; m = 0,1,2$ barevných složek každého jeho pixelu $F_{i,j}$ platí:

a) ${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2$ pro $n = 1$

b) jsou-li $\vee^n {}_m c_{i,j}$ hodnoty barevných složek obrazu $\vee^n O(F_{i,j}) = \vee_{k=1}^n {}^{(k)}O(F_{i,j})$, pak

pro hodnoty $\vee^{(n+1)} {}_m c_{i,j}$ barevných složek obrazu $\vee^{(n+1)} O(F_{i,j}) = \vee_{k=1}^{n+1} {}^{(k)}O(F_{i,j})$ platí

$$\vee^{(n+1)} {}_m c_{i,j} = \text{Max} \left\{ \vee^{(n+1)} {}_m c_{i,j}; {}^{(n+1)} {}_m c_{i,j} \right\}$$

Vzhledem k tomu, že pro disjunkci jako jedinou uvedenou operaci postrádá fyzikální smysl vážení a komprese, jedná se v podstatě o disjunkci ve smyslu vícedhodnotové Lukaszewiczově logiky. V této logice může pravdivostní ohodnocení výroků všech hodnot z intervalu $\langle 0;1 \rangle$. Je-li ${}_m c_{i,j}; m=0,1,2$ hodnota červené ($m=0$), zelené ($m=1$), resp. modré ($m=2$) složky barvy pixelu $F_{i,j}$, pak za pravdivostní ohodnocení daného pixelu v jednotlivých barevných složkách můžeme považovat čísla $\frac{{}_m c_{i,j}}{256}; m=0,1,2$. Disjunkci těchto ohodnocení

v Lukaszewiczově smyslu lze pak psát jako $\bigvee^n \left(\frac{{}_m c_{i,j}}{256} \right) = \bigvee_{k=1}^n \frac{{}_m c_{i,j}}{256} = \text{Max} \left\{ \frac{{}^{(k)} c_{i,j}}{256} \right\}$. Pro

hodnoty barevných složek disjunkce multifokálního obrazu pak zřejmě dostaneme

$\bigvee^n O(F_{i,j}) = \bigvee_{k=1}^n {}^{(k)} O(F_{i,j}) = 256 \cdot \text{Max} \left\{ \frac{{}^{(k)} c_{i,j}}{256} \right\} = \text{Max} \left\{ {}^{(k)} c_{i,j} \right\}; F_{i,j} \in \mathbf{F}_2$. Tato operace

sestavuje obrazy maximálně kontrastní za cenu ztráty možnosti modelovat průhlednost.

6.2. 3D rekonstrukce

1. Definice – obálka 3D objektu: Necht' $\mathbf{P} \subset \mathbf{F}_3$ je 3D objekt, \mathbf{F}_3 je fyzický grafický prostor prostoru \mathbf{G}_3 s rozlišením (m, n, p) . Dále necht' \mathbf{F}_2 je fyzická grafická rovina roviny \mathbf{G}_2 s rozlišením (m, n) a konečně funkce $f: \mathbf{F}_2 \rightarrow \mathbf{R}$, pro kterou platí: Jestliže pro fyzický pixel $F_{i,j} \in \mathbf{F}_2$ o souřadnicích $[i, j]$ existuje fyzický voxel $F_{i,j,k} \in \mathbf{P}$ o souřadnicích $[i, j, k]$, pak $f(F_{i,j}) = \max \{ k \in \mathbf{N} | F_{i,j,k} \in \mathbf{P} \}$, jinak $f(F_{i,j}) = 0$. Funkci f nazýváme obálkou objektu \mathbf{P} nad rovinou \mathbf{G}_2 .

2. Definice – voxelová rekonstrukce: Mějme grafický prostor \mathbf{G}_3 , jeho fyzický prostor \mathbf{F}_3 s fyzickými voxely $F_{i,j,k}$ o rozměrech p_x, p_y, p_z a $\mathbf{P} \subset \mathbf{F}_3$ 3D objekt. Jestliže každý fyzický voxel $F_{i,j,k} \in \mathbf{P}$ sestrojíme jako kvádr $\mathbf{K} \subset \mathbf{G}_3$ s jedním vrcholem $A = [i, j, k]$ s hranami o velikostech p_x, p_y, p_z rovnoběžnými se souřadnými osami, řekneme, že jsme provedli voxelovou rekonstrukci 3D objektu \mathbf{P} .

Voxelová rekonstrukce dává při dostatečném rozlišení optických řezů (zhruba od 200×200) a jejich dostatečném počtu (cca 10 a výše) poměrně dobrou představu o 3D objektu. Nicméně při stínování působí poněkud nepřírodně. Objekt je totiž podobně jako v kpt. 3.6. sestroyen pomocí stěn rovnoběžných se souřadnými rovinami, a proto existují pouze tři různé normály, které mají vliv na vlastní stín. Situaci lze zlepšit prostorovým průměrováním.

3. Definice – reálné zobecnění fyzického prostoru: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický prostor, $F_{i,j,k}$ jeho fyzické voxely, \mathbf{L}_3 logický prostor téhož grafického prostoru, $L_{i,j,k}$ jeho logické pixely $m = \max\{i \in \mathbf{N} \mid L_{i,j,k} \in \mathbf{P}\}$, $n = \max\{j \in \mathbf{N} \mid L_{i,j,k} \in \mathbf{P}\}$, $o = \max\{k \in \mathbf{N} \mid L_{i,j,k} \in \mathbf{P}\}$, \mathbf{F}_2 fyzická rovina s rozlišením (m,n) . Množinu ${}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3 = \mathbf{F}_2 \times \mathbf{R}$ nazveme reálným zobecněním fyzického prostoru \mathbf{F}_3 .

4. Definice – reálné zobecnění 3D objektu: Necht' \mathbf{F}_3 je fyzický prostor, ${}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3$ jeho reálné zobecnění, $\mathbf{P} \subset \mathbf{F}_3$ 3D objekt, $\rho: \mathbf{F}_3 \rightarrow {}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3$ je zobrazení takové, že pro každý fyzický voxel $F_{i,j,k} = [i, j, k] \in \mathbf{F}_3$ a každý prvek $P \in {}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3$ platí $\rho(F_{i,j,k}) = P \Leftrightarrow P = (i, k, j)$. Pak množinu ${}^{\mathbf{R}}\mathbf{P} = \rho(\mathbf{P})$ nazveme reálným zobecněním 3D objektu \mathbf{P} . Prvek $P \in {}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3$ nazveme bodem reálného zobecnění, uspořádanou trojici (i, k, j) nazveme jeho souřadnicemi. Zapisujeme $P = (i, k, j)$.

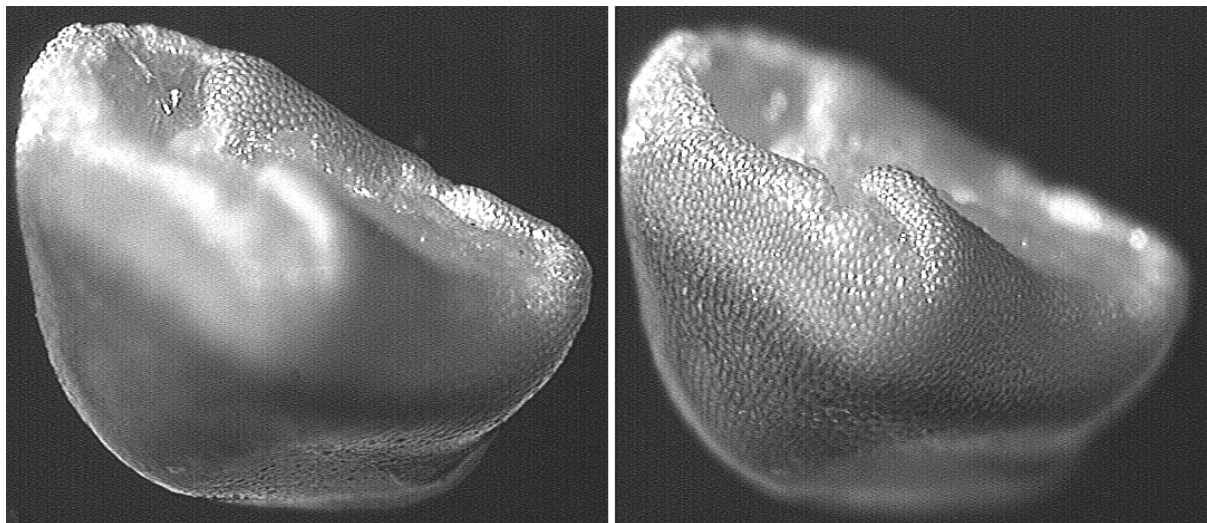
5. Definice – ε ový průměr 3D objektu: Necht' \mathbf{P} je 3D objekt, ${}^{\mathbf{R}}\mathbf{P}$ jeho reálné zobecnění. Dále necht' $O_\varepsilon(F_{i,j,k})$ je ε -ové okolí pixelu $F_{i,j,k}$, $\varepsilon \leq i \leq m - \varepsilon; \varepsilon \leq j \leq n - \varepsilon; \varepsilon \leq k \leq o - \varepsilon$. Označme $T_{i,j,k} = \{w \in \mathbf{N} \mid [u, v, w] \in O_\varepsilon(F_{i,j,k})\}$ a $\bar{t}_{i,j,k}$ střední hodnotu všech prvků množiny $T_{i,j,k}$. Pak množinu $\bar{\mathbf{P}} = \{(i, j, p) \in {}^{\mathbf{R}}\mathbf{F}_3 \mid p = \bar{t}_{i,j,k}\}$ nazveme ε -ovým průměrem 3D objektu \mathbf{P} .

Použijeme-li místo voxelové rekonstrukce ε -ového průměru, dostáváme objekt s poměrně hladkým povrchem a přirozeně působícími stíny. Vhodná volba průměru ε umožňuje znázornit větší či menší detaily a navíc lze snadno modelovat průhlednost.

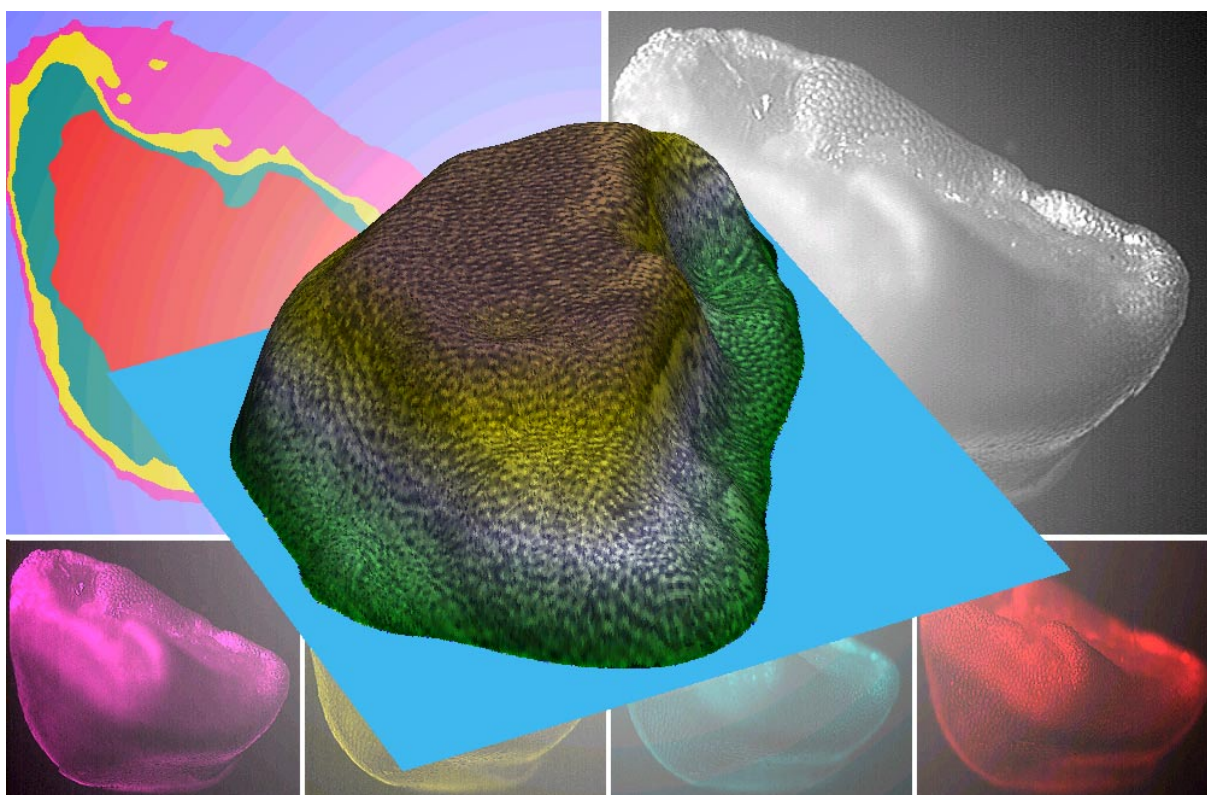
7. Softwarové zpracování

Popis softwarového zpracování by byl poněkud rozsáhlejší, není proto součástí těchto tezí. Jak je však patrné z výstupů, jsou výsledky přímo použitelné v praxi.

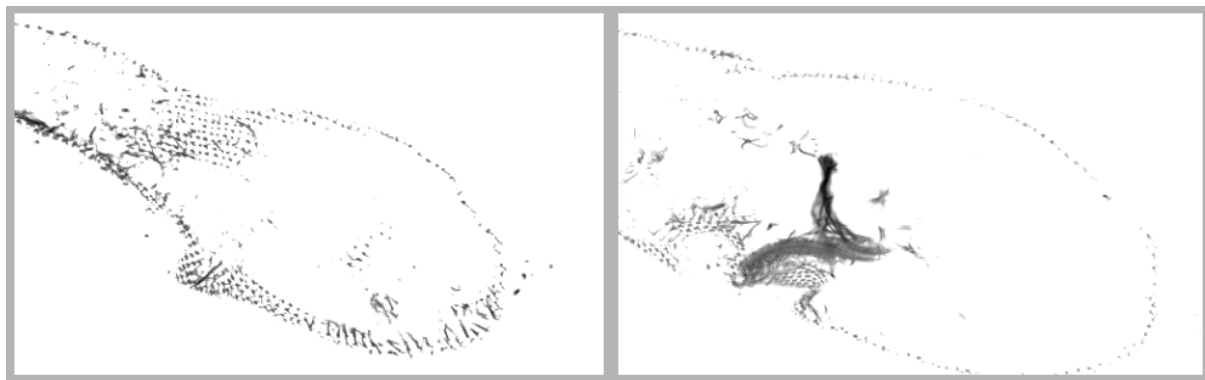
Obr. 1.: Vstupní data pro konvenční mikroskop



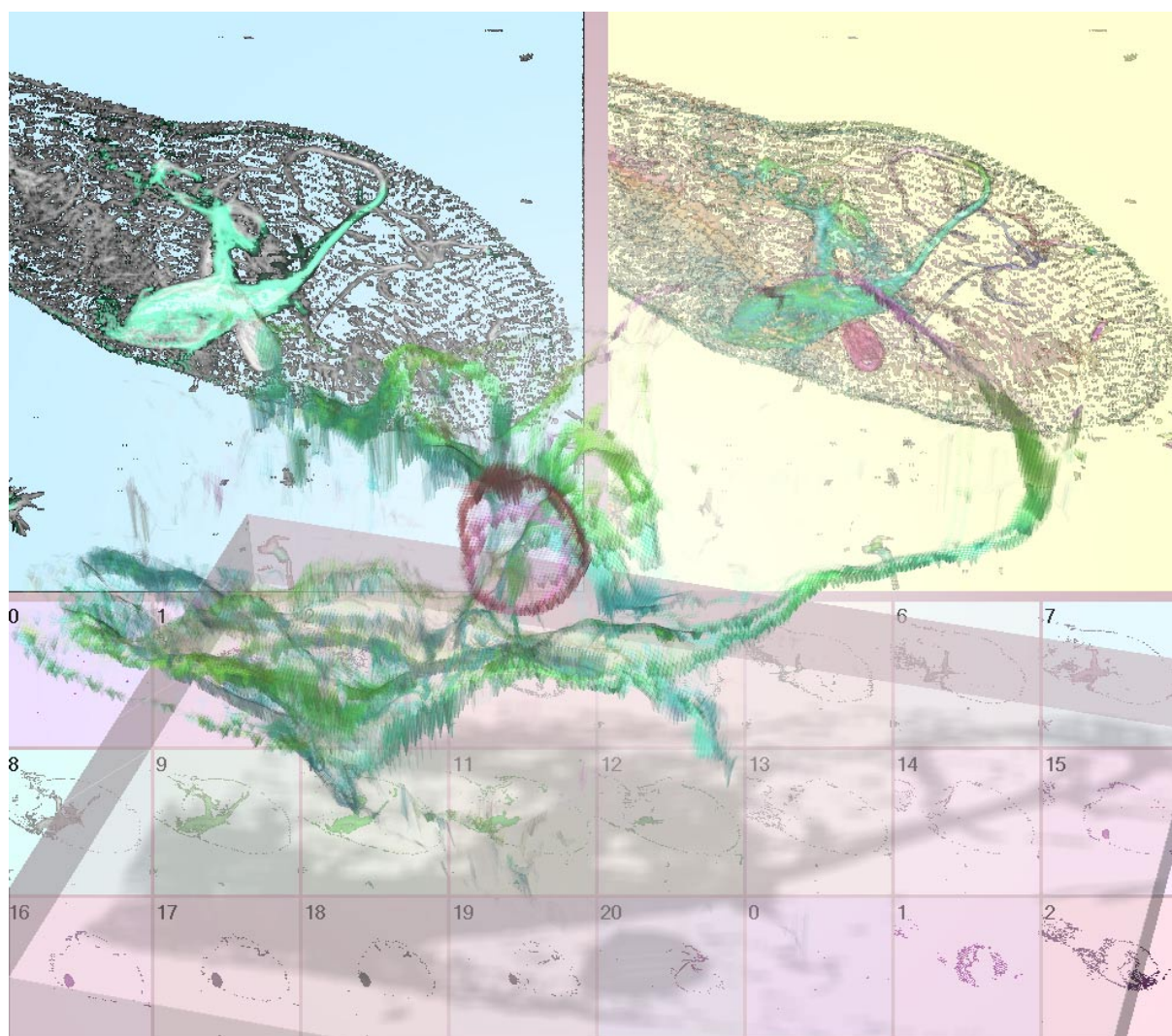
Obr. 2.: Výstup programu Konvenční mikroskop.exe
(semeno kaktusu *Astrophytum Ornatum*)



Obr. 3.: Vstupní data pro konfokální mikroskop (ukázka)



Obr. 4.: Výstup programu Konfokální mikroskop.exe
(orgány prvoka z rodu *Paramethyum*)



ABSTRACT

My dissertation discusses the possibilities of images reconstruction, these images are provided by optical microscopes, which are confocal and conventional too. Processing these pictures by software tools can greatly evaluate the outputs of these equipments (and thereby the equipments themselves). How it is evident from the results, which are in this work presented, it is possible to carry out relatively comfortable way such as two- as three-dimensional reconstruction of observe objects.

The first part summarises the fundamental mathematical constructions, which are used in dissertation (metric and linear space, projective space, measure, integral, Fourier transformation etc ..)

The second part discusses the fundamental constructions in a plane and in a space. Fundamental defined conceptions - pixel and voxel - are not satisfactorily mathematically defined. This part of the work builds these fundamental constructions of computer graphic on a mathematical basis, that has not till been this time published and which enables quite original constructions. There is presented a conception of a graphic plane as mathematical structure $\mathbf{G}_2 = (I \times J, D_x, D_y)$, where $I = \langle i_1; i_2 \rangle \in \mathbf{R}$, $J = \langle j_1; j_2 \rangle \in \mathbf{R}$ are intervals, and $D_x = \{x_i\}_{i=0}^m$, $D_y = \{y_i\}_{i=0}^n$ their equidistant divisions. Physical pixel is defined as a box $F_{i,j} = \langle x_i; x_{i+1} \rangle \times \langle y_j; y_{j+1} \rangle$, and the logical pixel as its representative. The set of all physical (logical) pixels is called the physical (logical) plane. The analogous constructions are implemented for the graphic space $\mathbf{G}_3 = (I \times J \times K, D_x, D_y, D_z)$ and its elements - physical and logical voxels too. The image is defined as the mapping of a physical plane into so-called colour set: $O: \mathbf{F}_2 \rightarrow C_r$; $C_r = \{c \in N; 0 \leq c < r; r > 1\}$. The pallet is defined as a subset of the colour set.

The third part generally discusses the problems of a displaying of three-dimensional objects on computer output device. Some constructions are again quite original, though the others are known, but they are either implemented in professional graphic systems, or they are described in available literature, but absolutely insufficient and unusable. In the dissertation there is described the construction of so-called colour map of a surface and contour lines, further oblique and vertical axonometry and median projection. There is been solving the visibility, shading, spreading of texture and construction of transparent objects.

The fourth part describes the displaying of the objects by optical microscope. Fundamental principles are naturally known. These principles are standing on mathematical basis, which till this time were not published. The centre of this part of

the work is a study of phenomenons, which are routinely not discussed in literature. These are phenomena, which are usually understood as defects or bounds of an optical displaying, because they pass a frame of geometrical optics. Just these phenomena depend on geometry of an observed object and enable its three-dimensional reconstruction. The display by real conventional microscope does not exactly conform to postulates of the geometrical optics, namely for several reasons:

a) limited width of ray beam. Lets $\langle O, \mathbf{x}, \mathbf{y}, \mathbf{z} \rangle$ is a co-ordinate system of an objective space, $\mathbf{u} = [u_1; u_2; u_3]$ is a directive vector of an optical ray. Geometrical displaying of a point P is realised by beam of rays $\mathbf{S} = \{\bar{p} \subset P_3; P \in \bar{p}; u_1, u_2 < 0\}$. If we mark \mathbf{A} the set of all size angles, which mutually clutch rays of this beam, then $\sup \mathbf{A} = \pi$. Real microscope has always $\sup \mathbf{A} < \pi$. We shall also mean by letter \mathbf{S} a beam of rays, which goes through a real optical microscope.

b) the wave substance of light results in its bend. Image of the point P is not a point, but the set of points – the wave trace of a point. There is defined a relation called a wave microscoping $\mathbf{M}_V \subset \omega \times \varphi_2$ between the plane, on that the microscope is focused, and an objective plane scanner:

$[P; Q] \in \mathbf{M}_V \Leftrightarrow Q \in \mathbf{S}_V^P = \left\{ X \in \varphi_2 \mid |XP| \leq \frac{\lambda_0}{4A} \wedge P' = \mathbf{G}(P) \right\}$. The set \mathbf{S}_V^P is called a

wave trace of the point P , number $d(\mathbf{S}_V^P) = \sup_{X, Y \in \mathbf{S}_V^P} \{a \in R \mid a = |X; Y|\} = \frac{\lambda_0}{2A}$ we call its average (here λ_0 is wave length of using lights, A numerical aperture of a microscope).

The noncomplanarity of the preparation causes, that the beam \mathbf{S} crosses the objective focal plane φ_2 of the scanner again in the set of points - in Euclidean trace. In the dissertation there is defined a relation which is called Euclidean microscoping $\mathbf{M}_E \subset P_3 \times \varphi = \{[\bar{P}; \bar{P}'] \mid \exists \bar{p} \in \mathbf{S}': \bar{P}' \in \bar{p} \cap \varphi\}$ between an objective space of a microscope and an objective plane of a scanner. The set $\mathbf{S}_E^P = \{P' \in \varphi \mid [P; P'] \in \mathbf{M}_E\}$ we call Euclidean trace of a point P , the number $d(\mathbf{S}_E^P) = \sup\{X; Y; X, Y \in \mathbf{S}_E^P\}$ we call its average.

The scanner resolution results, that the point P is displayed on a physical pixel $F_{i,j}$ with nonzero dimensions $p_x; p_y$.

The fifth part discusses the reconstruction of the outputs from a conventional microscope. There are presumed these simplifying postulates:

- d) For any wave trace \mathbf{s}_V^P exists a physical pixel $F_{i,j}$ of a scanner, for that is

$$\mathbf{s}_V^P \subset F_{i,j}$$
- e) Lets ${}_{(1)}P; {}_{(2)}P \in \omega$ are two different points of plane sharpness, $\mathbf{G} : P \rightarrow P'$ is a geometrical projection, $\mathbf{G}({}_{(1)}P) = {}_{(1)}P'$, $\mathbf{G}({}_{(2)}P) = {}_{(2)}P'$; $F_{i,j}; F_{k,l}$ are two physical pixels of a scanner, that ${}_{(1)}P' \in F_{i,j}$; ${}_{(2)}P' \in F_{k,l}$. If ${}_{(1)}P \neq {}_{(2)}P$ then $F_{i,j} \neq F_{k,l}$.
- f) Euclidean trace \mathbf{s}_E^P of a point $P \notin \omega$ is an Euclidean circle.

Should was a possibility in a plane to display Euclidean points, then every nonzero average of Euclidean trace would be the defocusing image. If there is a physical plane with physical pixels, then unsharpness shows only that time, when $d(\mathbf{s}_E^P) > p$, where $p = \min\{p_x; p_y\}$. If $d(\mathbf{s}_E^P) \leq p$, then we can consider the image as sharp. The sharpness zone is defined as

$${}_{(O)}P_3 = \{P \in P_3 \mid d(\mathbf{s}_E^P) < p; p = \min\{p_x; p_y\}\}$$

and its height

$$v({}_{(O)}P_3) = \sup\{|p_1 - q_1|; P = [p_1; p_2; p_3]; Q = [q_1; q_2; q_3]; P, Q \in {}_{(O)}P_3\}.$$

Parts of the preparation, which are situated in a zone of sharpness, will be displayed sharply, parts out of zone of sharpness will be defocused. The set of all points of the preparation, which are situated in the sharpness zone of microscope, is called an optical cut. Then the digitize microscoping is defined as:

$$\mathbf{M}_D : P_3 \rightarrow \mathbf{F}_2 : \mathbf{M}_D(P) = F_{i,j} \Leftrightarrow ([P, P'] \in \mathbf{M}_E \wedge P' \in F_{i,j})$$

and n - focal image is defined as a sequence $\{^{(k)}O\} k=1, \dots, n$ of the digitize microscoping results of the same preparation. For an observed preparation \mathbf{P} is

$$\mathbf{P} \subset \bigcup_{k=1}^n {}_{(O)}^{(k)}\bar{P}^3. 2\text{-D processing } n \text{ - focal image will evidently consist in the}$$

composition of a new picture, so that this new picture consists of images of optical cuts of the single digitized microscopings $^{(k)}\mathbf{M}_D$ only. In the dissertation there are fixed term criteria for single physical pixels of the images $\{^{(k)}O\} k=1, \dots, n$, which indicate the pertinence to cut $^{(k)}\mathbf{R}$. Formally there is defined the focusing of a physical pixel. As the criteria of this focusing is taken variation span resp. diffusion, resp. substitution high spatial frequency in the sense of Fourier transformation, namely on the certain surrounding of tested pixel. Results show, that maxims of introduced expressions, which I call variation, resp. dispersal resp. frequency criteria, detect very well the maximum focalized pixel and they may be used in a composition of a sharp image. From the physical principle of a multifocal picture rise it is evident, that if ${}^{(0)}O(F_{i,j}) = k$, then physical pixel $F_{i,j}$ bears the information about a point P of the preparation \mathbf{P} , for that is $P \in {}^{(k)}P$. If the

opening zones $^{(k)}P$ are by twos disjointed, it is possible to assign to points in the zone $^{(k)}P$ the identical heights and obtain function of two variables, whose graph matches with an observed preparation approximately. If we mark v a total height of the preparation, then the zone sharpness height of n -focal picture is v/n . The function $f(i, j)$, which approximately describes an observed preparation, is $f(i, j) = \frac{1}{n} {}^{(0)}O(F_{i,j})$. This method I call a method of constant high cuts. Further I generalise linear filters known from image processing, so that there was a possibility to apply them to the above-cited function. In that way filtered function approaches an observed preparation essentially better. This application is a principle of a method, which I call method of filtered cuts.

The method of direct height diagnosis : If we think the geometrical projection $\mathbf{G} : P_3 \rightarrow P_3'$, then it is $P \in \omega \Rightarrow \mathbf{G}(P) = P' \in \varphi_2 ; Q \notin \omega \Rightarrow \mathbf{G}(Q) = Q' \notin \varphi_2$. For Euclidean traces $\mathbf{s}_E^P ; \mathbf{s}_E^Q$ of the points $P \in \omega ; Q \notin \omega$ it is $\mathbf{s}_E^P = \{P'\}$, then $d(\mathbf{s}_E^P) = 0 ; d(\mathbf{s}_E^Q) > 0$. If $^{(k)}X : F_{ij} \rightarrow \mathbf{R}$ is a focusing of the image $^{(k)}O$ from multifocal image O , $v^{(k)}X$ resp. $D^{(k)}X$ resp. $T^{(k)}X$ value of the variation, resp. dispersal resp. frequency criteria on the same image $^{(k)}O$, lets $v^{(\max X)} = \max\{v^{(k)}X\}_{^{(k)}O \in O}$; $D^{(\max X)} = \max\{D^{(k)}X\}_{^{(k)}O \in O}$; $T^{(\max X)} = \max\{T^{(k)}X\}_{^{(k)}O \in O}$. The method of direct height diagnosis presumes, that values of focusing criteria depend on an average Euclidean trace $d^{(k)}(\mathbf{s}_E^Q)$ of the point Q in the digitize microscoping $^{(k)}\mathbf{M}_D$ resp. on abscissae length $^{(k)}\mathbf{l}$, which substitutes this average at the same microscope. From that follows, that there are the functions $v^{(k)}X = f_v(^{(k)}\mathbf{l})$ resp. $D^{(k)}X = f_D(^{(k)}\mathbf{l})$ resp. $T^{(k)}X = f_T(^{(k)}\mathbf{l})$. I show, that there exist functions $k = f_v^{-1}$, $k = f_D^{-1}$, $k = f_T^{-1}$, which are inverse to these functions. These inverse functions allow to determine a trace average on funds of focusing criteria values:

$$^{(k)}\mathbf{l} = f_v^{-1} = c \cdot \frac{v^{(\max X)}}{v^{(k)}X} \quad ^{(k)}\mathbf{l} = f_D^{-1} = c \cdot \frac{D^{(\max X)}}{D^{(k)}X} \quad ^{(k)}\mathbf{l} = f_T^{-1} = c \cdot \frac{T^{(\max X)}}{T^{(k)}X} \quad (1)$$

At the same time I derive the dependence average d of Euclidean trace \mathbf{s}_E^Q of the point $Q \notin \omega$ on his distance h from plane sharpness $\omega : h = \frac{df(\Delta + f)}{\Delta(s'+d)}$. This expression together with equations (1) makes it possible to directly determine the given pixel distance from sharpness plane, and thereby 3D reconstruction of the preparation.

The sixth part discusses the reconstructions of outputs from confocal microscope. This microscope has the zone sharpness very narrow and practically does not display the preparation points, which are situated in set of unsharpness. The cut detection is not necessary and some operations, known from image processing, can be used for composition of a sharp picture. Multifocal image can be consist as far as of several tens images, whereas preparation can be transparent. The operation with pictures I generalize for arbitrary number components and add their weighing. Hereafter text is $O = \{^{(k)}O\} k = 1; \dots; n$ the multifocal image in system RGB. I defined:

compression weighted sum of images as a image, for whose coloured components is ${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2 \text{ for } n = 1,$

$$\Sigma {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = \text{Trunc} \left[p \cdot \Sigma {}^n{}_m c_{i,j} + (1-p) \cdot {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} \right]; p \in (0;1)$$

(this operation make possible to model transparency preparation),

weighted direction compression of images as a image, for which coloured components are

$${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2 \text{ for } n = 1$$

$$\Pi {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = \begin{cases} \Pi {}^n{}_m c_{i,j} \text{ pro } {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = 0 \\ \text{Trunc} \left[\frac{1}{256} \Pi {}^n{}_m c_{i,j}^p \cdot {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j}^{1-p} \right] \text{ for } {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} > 0 \end{cases}; p \in (0;1)$$

(this operation displays thin layers of preparation),

weighted inverse direction compression of images as a image, for which coloured components are

$${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2 \text{ for } n = 1$$

$$\Pi {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = \begin{cases} \Pi {}^n{}_m c_{i,j} \text{ for } {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = 0 \\ \text{Trunc} \left[\frac{256}{\Pi {}^n{}_m c_{i,j}^p \cdot {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j}^{1-p}} \right] \text{ for } {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} > 0 \end{cases}; p \in (0;1)$$

(this operation displays robust layers of preparation),

disjunction of images as a image, for which coloured components are

$${}_m c_{i,j} = {}^{(1)}c_{i,j}; m = 0,1,2 \text{ for } n = 1, \vee {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} = \text{Max} \left\{ \vee {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j}, {}^{(n+1)}{}_m c_{i,j} \right\}$$

(this operation builds up most contrasty image)

This part contains method of 3D reconstruction for confocal microscope, most considerable is a voxel reconstruction, which models voxels preparation as transparent boxes and cubic averaging, which apply generalised low-pass filters on previous construction and preparation is getting smoother.

The seventh part describes a software processing of all problems.

Použitá literatura:

1. Kolmogorov, A.N., Fomin, S V.: Základy teorie funkcí a funkcionální analýzy, SNTL, Praha 1975
2. Mc Lane, S., Birkhoff, G.: Algebra, Mac Millan, New York 1965
3. Mc Lane, S., Birkhoff, G.: Survey of Modern Algebra, Mac Millan, New York 1965
4. Katriňák, T.: Algebra a teoretická aritmetika, Alfa, Bratislava 1985
5. Nečas, J. a kol: Aplikovaná matematika, SNTL, Praha 1977
6. Ženíšek, A.: Lebesgueův integrál a základy funkcionální analýzy, VUT Brno, 1998
7. Čížek, V.: Diskrétní Fourierova transformace a její použití, SNTL, Praha, 1989
8. Lamoš, F., Potocký, R. : Pravděpodobnost' a matematická statistika, Alfa, Bratislava 1989
9. Hátle, J., Likeš, J.: Základy počtu pravděpodobnosti a matematické statistiky, SNTL Alfa, Praha, 1974
10. Vitásek, L.: Numerická matematika, SNTL Praha 1987
11. Žára a kol.: Počítačová grafika - principy a algoritmy, Grada, Praha 1992
12. Žára a kol.: Moderní počítačová grafika, Computer Press, Praha, 1998
13. Sobota, B.: Počítačová grafika a jazyk C, Kopp, České budějovice 1996
14. Wirth, N.: Algoritmy a struktury údajov, Alfa, Bratislava, 1988
15. Horák, Z., Krupka, F.: Fyzika, SNTL, Praha 1976
16. Druckmüller, M., Heriban, P.: Digital Image Processing System for Windows, ver. 5.0., SOFO, Brno 1996
17. Dunford, N.: Schwartz, J., T.: Linear Operators, Part I: General Theory, New York, Interscience Publishers, Inc. 1958
18. Murray, D.J., vanRyper, W.: Encyclopedia of graphics file formats, Inc of Sebastopol, California 1994
19. Murray, D.J., vanRyper, W.: Encyklopedie grafických formátů, Computer Press Praha, 1994

Použité publikace autora :

20. Martišek, D.: Počítačová grafika pro matematické inženýry, ÚM FSI VUT Brno 1999
21. Martišek, D.: Počítačová geometrie a grafika, VUTIUM Brno 2000
22. Martišek, D.: Automatic Detection and Correction of Defective Pixel Clusters by Means of Nonlinear Regression, Digital Image Processing, An International Workshop, České Budějovice, 1996
23. Martišek, D., Cápál, J.: Složení víceohniskového obrazu užitím statistických metod, in: Sborník 37. sjezdu České anatomické společnosti s mezinárodní účastí, Brno 1996
24. Martišek, D.: Animace ve výuce počítačové grafiky specializovaných oborů, in: Sborník konference FS VUT, Brno 1996
25. Martišek, D., Martišek, I.: Softwarové zaostřování snímků z optických mikroskopů, in: Pedagogický software - sborník přednášek a programů, České Budějovice, 1998
27. Martišek, D.: 3D rekonstrukce snímků z optického mikroskopu, 38. zjazd Slovenskej anatomickej spoločnosti s medzinárodnou účasťou, zborník abstraktov, Bratislava 1999
28. Martišek, D.: Fraktální geometrie a modelování přírodních útvarů, in Sborník XVII mezinárodního vědeckého kolokvia o řízení osvojovacího procesu zaměřeného na problémy modelování a simulace, Vyškov, 1999
29. Martišek, D., Martišek, I.: Vrstevnice a systémy nelineárních rovnic, in: Pedagogický software - sborník přednášek a programů, České Budějovice, 1999
30. Martišek, D.: Měření fraktálů, in Sborník XVIII mezinárodního vědeckého kolokvia o řízení osvojovacího procesu zaměřeného na problémy modelování a simulace, Vyškov, 2000
31. Ficker, T., Druckmüller, M., Martišek, D.: Unconventional Multifractal Formalism and Image Analysis of Natural Fractals, Czechoslovak Journal of Physics, Vol 49 (1999), No. 10

Dalibor Martišek

- Narozen : 29. května 1956 v Hodoníně
- Střední škola : 1971 - 1975: gymnázium Lerchova 63, Brno
- Vysoká škola : 1975 - 1979: Pedagogická fakulta, UJEP Brno
(dnešní Masarykova univerzita Brno)
1981 - 1983 Přírodovědecká fakulta UJEP Brno
(dnešní MU Brno) rekvalifikační studium
- Doktorát : 1981 Pedagogická fakulta UJEP Brno, titul PaedDr.
- Zaměstnání : 1979 - 1985 SOU VS - středoškolský profesor
1986 - dosud: Ústav matematiky FSI VUT v Brně.
- Vyučování : Matematika, počítačová geometrie a grafika.,
programování
- Odborné zájmy : Počítačová geometrie a grafika, Image Processing, 3D
rekonstrukce objektů