VĚDECKÉ SPISY VYSOKÉHO UČENÍ TECHNICKÉHO V BRNĚ

Edice PhD Thesis, sv. 730

ISSN 1213-4198

Ing. Jan Mikulka

Segmentační metody ve zpracování biomedicínských obrazů

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA ELEKTROTECHNIKY
A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV TEORETICKÉ A EXPERIMENTÁLNÍ ELEKTROTECHNIKY

Ing. Jan Mikulka

SEGMENTAČNÍ METODY VE ZPRACOVÁNÍ BIOMEDICÍNSKÝCH OBRAZŮ

SEGMENTATION METHODS IN BIOMEDICAL IMAGE PROCESSING

Zkrácená verze Ph.D. Thesis

Obor:	Teleinformatika
Školitel:	prof. Ing. Eva Gescheidtová, CSc.
Oponenti:	doc. Ing. Otto Dostál, CSc. (Masarykova Univerzita) Dr. Ing. Jiří Přibil (Slovenská akadémia vied)
Datum obhajoby:	6. září 2011

Klíčová slova:

Zpracování obrazů, segmentace obrazů, klasifikace objektů, aktivní kontury, rozpoznání eliptických tvarů, automatická klasifikace tkání.

Keywords

Image processing, image segmentation, image classification, active contours, ellipse fitting, automatic tissue classification.

Disertační práce je k dispozici v knihovně FEKT na Technické 10, 616 00 Brno.

© Jan Mikulka, 2014

ISBN 978-80-214-4886-5

ISSN 1213-4198

OBSAH

1 ÚVOD 5

1.1 Přehled současných segmentačních metod 5

2 CÍLE DISERTACE 7

3 NAVRŽENÁ ŘEŠENÍ 8

3.1 Segmentace MR obrazů 8

3.2 Zpracování mikroskopických obrazů 11

3.2.1 Zpracování obrazů vnitřní cirkulární a vnější longitudinální vrstvy 11

3.2.2 Zpracování obrazů nervových uzlin střevní stěny 14

4 VÝSLEDKY NAVRŽENÝCH ŘEŠENÍ 15

4.1 Segmentace MR obrazů 15

4.2 Zpracování mikroskopických obrazů 16

5 EXPERIMENTÁLNÍ APLIKACE 20

5.1 Segmentace disku čelistního kloubu 21

5.2 Automatické počítání buněk 22

6 ZÁVĚR 25

7 POUŽITÁ LITERATURA 26

ABSTRAKT 29

ABSTRACT 29

1 ÚVOD

Disertační práce pojednává o moderních metodách a přístupech ke zpracování obrazů. Zpracování obrazu se stalo během posledních několika let velmi aktivní disciplínou. Aplikace metod zpracování obrazu (statických i dynamických) můžeme najít v mnoha výrobních procesech jako nástroj pro měření kvalitativních i kvantitativních parametrů předmětu výroby. Významným odvětvím je zpracování medicínských obrazů [1]. V oblasti zdravotnictví pomáhá zpracování obrazů zjednodušit diagnostikování chorob [2, 3], sledování vývoje onemocnění, resp. léčby. V dnešní době se nejčastěji setkáváme s tomografickými metodami pro získání obrazu měkkých (magnetická rezonance) nebo tvrdých (rentgen) tkání. Mezi významnými zdroji obrazových dat nelze opomenout ani mikroskopy pro sledování velmi malých struktur. Bez mikroskopu by zřejmě nedocházelo k velmi významným objevům v biologii a medicíně. Běžně se takové snímky zpracovávají manuálně, což vede k plýtvání časem kvalifikovaných osob zapojených do velmi drahých výzkumů. Je to způsobeno nedostatkem aplikací pro automatické zpracování a vyhodnocování obrazů. Implementací moderních metod pro zpracování obrazů s ohledem na rychlost, efektivitu, přesnost a robustnost se věnuje právě tato disertační práce, během které byly takové aplikace realizovány.

V disertační práci jsou uvedeny příklady aplikací, ve kterých byly navržené segmentační metody použity. Navržené segmentační metody jsou založeny na řešení parciálních diferenciálních rovnic [4]. Jedná se o moderní přístupy zpracování obrazů – aktivní kontury. Tento přístup ke zpracování obrazů je velmi výhodný u segmentace reálného obrazu, který je zatížený šumem, má neostré hrany a přechody mezi objekty.

Posledním směrem, kterým se disertační práce zabývá, je obrazová klasifikace objektů, popř. binární klasifikace zdravých/postižených tkání na základě parametrů vytěžených z obrazu. Podobné aplikace byly popsány např. v [5, 6, 7].

1.1 PŘEHLED SOUČASNÝCH SEGMENTAČNÍCH METOD

Parametry pro určení kvality segmentační metody lze shrnout takto: odolnost vůči přerušeným hranám, odolnost vůči šumu, schopnost rozpoznat překryté objekty, odolnost vůči globálním lineárním/skokovým jasovým, resp. kontrastním změnám, možnost řídit segmentaci modelem.

Nejjednodušším, ale nejpracnějším přístupem segmentace je **manuální segmentace** [8, 9]. Tu lze provést tvorbou grafického rozhraní pro experta, který na základě své vlastní znalosti ohraničuje objekty v obraze. Značením bodů v obraze tak vzniká hranice, přičemž její tvar záleží na metodě interpolace. Označené body lze jednoduše spojit přímkami, výsledkem bude **po částech lineární křivka.** V tomto případě bude přesnost ohraničení velmi závislá na počtu značek. Přesnost lze zvýšit interpolací polynomiální křivkou, např. kubickou interpolací. Často používanou metodou pro **poloautomatické segmentování** je metoda označovaná jako **live-wire** [10]. Tato metoda je založená na algoritmu stanovení nejkratší cesty, který hledá optimální cestu mezi dvěma body analýzou okolních obrazových dat.

Nejrychlejší a nejsnadnější segmentační metodou je **prahování** [1, 6]. Tento princip segmentace obrazu vychází z předpokladu, že snímané objekty vykazují v celém obraze rozdílnou intenzitu než pozadí. Mezi intenzitou pozadí a objekty lze potom stanovit hodnotu jedné nebo více hraničních intenzit – prahů, které segmentují obraz do dvou nebo více podoblastí. Volba prahu T je však velmi zásadní při segmentaci reálných obrazů. Práh můžeme stanovit podle procentuálního pokrytí oblasti, kterou tvoří snímaný objekt na ploše obrazu. Ve většině případů vychází hodnota prahu z analýzy histogramu. V nejjednodušším případě se práh stanoví na hodnotu lokálního minima mezi dvěma špičkami histogramu. Problém hledání špiček a lokálního minima nastává v zašuměných histogramech. Tento práh také není vždy pro segmentaci optimální. Popsanou nevýhodu řeší **metoda optimálního prahu** [11, 12]. Optimální hodnotu prahu určíme z předpokladu, že histogram tvoří součet dvou nebo více rozdělení pravděpodobnosti výskytu intenzit v obraze. Optimální práh potom leží v místě, kde se tato rozdělení překrývají, což v praxi nemusí vždy odpovídat

lokálnímu minimu. Problémem je, že neznáme tvar předpokládaných rozložení pravděpodobnosti. Řešením může být aproximace tvaru těchto distribucí za předpokladu, že známe předem jejich počet. Potom ovlivňuje určení optimálního prahu kvalita aproximace. Příkladem může být použití množiny Gaussových funkcí GMM. Pokročilejší metodou vycházející z prahování je **shluková analýza** [13], která se řadí do skupiny adaptivního prahování. U metody shlukování se každý bod obrazu zařadí do jedné ze dvou skupin pod nebo nad prahem tak, aby hodnota jeho intenzity byla bližší jedné nebo druhé průměrné hodnotě intenzit pozadí, resp. snímaného objektu. Obecně lze konstatovat, že metody prahování většinou nedávají dobré výsledky. Výstup těchto segmentačních metod nelze bez dalšího zpracování použít. Objekty nejsou reprezentovány homogenními oblastmi, obsahují „díry“, popř. jsou nespojité apod. Tento problém lze částečně kompenzovat statistickou segmentační metodou využívající **Markovská náhodná pole** (MRF) [14, 15]. Statistická segmentační metoda MRF vychází z toho, že v reálném obraze většina bodů obrazu patří do stejného segmentu jako body sousední. Ve výsledném segmentovaném obraze se minimalizují „děravé“ segmenty a velmi malé oblasti (1 bod), protože jejich výskyt v obraze má velmi malou pravděpodobnost. Nevýhodou je složitější určování řídících parametrů ovlivňujících sílu vazeb mezi body obrazu a použití těchto metod je výpočetně velmi náročné. Popsané statistické metody segmentace lze použít nejen pro hledání vhodného, či optimálního prahu ve snímaném obraze, ale také pro **prahování transformovaných obrazů** [6]. V praxi se jedná převážně o obrazy, které vzniknou hranovou analýzou původního obrazu. U obrazů detekovaných hran se následně hledá buď jeden práh, nebo limity hystereze pro hledání určitého rozsahu intenzit hran. V druhém případě jsou nalezené hrany reprezentované křivkou o šířce několika bodů s postupně klesající intenzitou. Tento obraz musí být dále zpracován metodou matematické morfologie – ztenčování. Hranovou analýzu obrazu lze provést mnoha způsoby. Existují metody pro hledání hran v obraze nezávisle na jejich tvaru. K tomu slouží obecné hranové detektory, které jsou popsané v každé literatuře zabývající se zpracováním obrazu. Hranové detektory byly zmíněny v předchozí kapitole pro stanovení parametrů pro segmentaci obrazů.

Jiným přístupem analýzy hranového obrazu je metoda **sledování hranice** [1, 6]. Postup je obecně aplikovatelný i na jiné obrazy než po hranové analýze a to především tam, kde jsou hranice objektu reprezentovány přibližně stejnou jasovou intenzitou. Tato metoda je ovšem náchylná na šum v obraze a může mít problémy s detekcí složitějších tvarů hledaných objektů. Pro zajištění správné detekce objektu i s přerušenými hranami je vždy nutné přizpůsobit algoritmus hledání hranice dané aplikaci. Za zmínku stojí **Houghova transformace obrazu** [1, 6, 16]. Jde o transformaci hranového (binárního) obrazu do Houghova prostoru, jehož počet dimenzí odpovídá počtu proměnných analytického popisu hledaných tvarů v obraze. Tento druh segmentace patří do skupiny metod s předem známou informací – o tvaru hledaného objektu. Houghovu transformaci lze použít nejen pro hledání jednoduchých analyticky popsatelných křivek, ale tzv. zobecněnou Houghovou transformací lze nalézt v obraze jakoukoliv obecnou strukturu. V obraze lze hledat např. kruhové, eliptické a další struktury, ovšem nevýhodou této metody je příliš velká výpočetní náročnost stoupající s počtem neznámých parametrické rovnice hledaného tvaru. Vedle statistických metod prahování a hranové analýzy je možné obraz segmentovat také analýzou oblastí. Oblastní segmentační metody se snaží ve vstupním obraze najít celistvé oblasti podle předem daného pravidla homogenity, ve většině případů podle úrovně intenzity, ale může se jednat také o barvu, popř. texturní parametry. Typickým zástupcem těchto přístupů je metoda **dělení a spojování oblastí** [1, 6, 17, 18]. Metody analyzující oblasti vykazují lepší výsledky než metody založené na hranové analýze v obrazech zatížených šumem. Vychází to z jejich principu, který není založen na hledání entit charakterizovaných vyššími složkami frekvenčního spektra, kam patří jak hrany, tak právě i šum. Metoda dělení a spojování oblastí vznikla z původní metody jednoduchého dělení oblastí a z metody spojování oblastí. Výhodou této metody může být odolnost vůči šumu a částečně přerušeným hranám snímaných objektů. Metodou dělení a spojování oblastí lze také segmentovat obrazy s plošnou jasovou degradací, jelikož nemusí být nutně stanoveno jedno kriterium homogenity pro spojování oblastí v celé ploše obraze. Jde ovšem o segmentaci dvoufázovou, čili velmi záleží na stanovení vhodné

kombinace parametrů tvaru struktury a kritéria homogenity. Na podobném principu jako je metoda dělení a spojování oblastí je založena metoda **rozvodí** [1, 19, 20]. Dělení obrazu zde nahrazuje hledání lokálních minim ve funkci jasových intenzit. Metoda se inspiruje zaplavením nížin, ze kterých vyvěrá voda. Hladina vody stoupá a v místě, kde se slívá voda ze dvou zřídel, se postaví hráz, která odpovídá hranici mezi dvěma oblastmi. Algoritmus končí v momentě, kdy je celá „krajina" zaplavena vodou, čili všechna lokální maxima jasové funkce jsou pod prahem, který se postupně zvyšuje. Po tomto dělení oblastí je obraz rozdělen do velkého množství podoblastí, které je třeba podle předem stanoveného kriteria homogenity zvolit. Ze samotného principu vyplývá, že metoda je citlivá na šum (hledání lokálních minim) a v zašuměných obrazech dává přesegmentované výsledky. Tento nedostatek je třeba řešit v předzpracování obrazu potlačením šumu, popř. upravit algoritmus hledání minim apod. Mezi pokročilé metody segmentace, využívající oproti standardní binární segmentaci inteligentní fuzzy přístupy, patří např. metoda zvaná **fuzzy propojenost** [21]. Výhodou této metody je sledování nejen úrovně homogenity oblasti, ale také strukturních informací. Obecně tato metoda segmentuje obraz na principu výpočtu podobnosti objektů váhováním sumy intenzit a obrazových derivací v okolí bodů. Metoda je také odolná vůči pomalým změnám pozadí obrazu. Tím je vyřešen problém globálního prahování u tohoto typu obrazů. Je nutné ovšem poznamenat, že výsledky této metody jsou silně závislé na stanovení fuzzy pravidel a vlastnostech obrazových oblastí. Metoda neumožňuje využití jakýchkoliv znalostí o tvaru segmentovaného objektu. Nově se můžeme setkat také s vývojem metod segmentací obrazu pomocí **neuronové sítě** [22, 23]. Umělou neuronovou síť je třeba k segmentaci obrazů natrénovat. Obecně lze tento proces rozdělit na „učení bez učitele" a „učení s učitelem". První typ neuronové sítě hledá v předloženém obraze charakteristické vlastnosti a klasifikuje je do tříd bez další interpretace (může připomínat klasifikátor PCA apod.). Druhý typ – učení s učitelem – značí trénování neuronové sítě s trénovací množinou ručně segmentovaných obrazů. Vstupem neuronové sítě je vektor příznaků obrazu. Segmentace s použitím neuronových sítí může dávat dobré výsledky, avšak kvalita segmentace je velmi závislá na zkušenostech se sestavováním struktury, trénováním a vyžaduje ručně segmentovaná data. Celý proces návrhu je příliš složitý. Za zmínku stojí znalostní metody segmentace, i když tyto metody většinou v lékařství, kdy pořízené snímky zobrazují poškozené tkáně lišící se tvarem podle velikosti a stupně postižení, nemají příliš velké uplatnění. Mohou být ale použité např. v kombinaci s jinými metodami pro registraci obrazů, pro hledání nepoškozených orgánů apod. V poslední době je velmi rozšířenou metodou **AAM** [24]. Předpokladem pro segmentaci metodou AAM je dostatek ručně segmentovaných obrazů, ze kterých se statistickou metodou PCA [5] vytvoří model. Na základě modelu lze dále zjistit přítomnost objektu v obraze. Výhodou metody je bezpochyby její rychlost. Moderní přístupy zpracování obrazů, a to nejen segmentace, jsou založené na řešení parciálních diferenciálních rovnic. Tyto metody v oblasti segmentace obrazů jsou označovány jako **aktivní kontury** [25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35]. Jedná se o iterační algoritmy s počátečními podmínkami, jejichž řešením se tvaruje křivka umístěná v obraze. Ustáleným řešením je křivka ohraničující oblasti v obraze, která splňuje hledané minimum energetické funkce matematického modelu dané metody. Sestavení energetické funkce významně ovlivňuje vlastnosti metody a může se tak přizpůsobit dané aplikaci. Metodu aktivních kontur lze přizpůsobit tak, aby nebyla citlivá na šum, na přerušené hrany a ohraničila problematické objekty v obraze i bez předchozího předzpracování, resp. post-zpracování segmentovaných dat. Stejně tak lze metodu upravit pro odolnost vůči globálním jasovým změnám v obraze.

2 CÍLE DISERTACE

Cílem disertace je návrh a implementace metod pro segmentaci měkkých i tvrdých tkání v MR obrazech, u kterých nelze použít tradičních metod vzhledem k mnohdy nepříznivým vlastnostem obrazů. Obrazy pořízené magnetickou rezonancí jsou sice známé větším kontrastem oproti jiným tomografickým metodám, ale často je třeba segmentovat

oblasti, které jsou obklopené „pozadím“ s velmi málo rozdílnou intenzitou. Vzhledem k přítomnosti šumu se pak segmentace nízkokontrastní lokální oblasti obrazu stává problémem složitějšího zpracování.

Disertační práce představuje také návrh metod pro zpracování mikroskopických obrazů tkání s výskytem buněk eliptického tvaru, jejich automatickou segmentaci, kvantitativní vyhodnocování parametrů a určování parametrů pro klasifikaci.

Disertační práce řeší následující problémy:

- návrh metody pro zpracování MR obrazů s důrazem na segmentaci měkkých i tvrdých tkání,
- návrh metody pro kvantitativní vyhodnocení parametrů snímaných objektů,
- návrh metody pro automatické zpracování obrazů s eliptickými objekty (buňkami) s důrazem na segmentaci a rozpoznání objektů.

Aplikací navržených metod se usnadní a zrychlí práce při diagnostikování chorob (segmentace a vizualizace MR dat) a zefektivní vytěžování informací z obrazových dat. To vše s ohledem na robustnost navržených metod.

3 NAVRŽENÁ ŘEŠENÍ

Z kritického zhodnocení současného stavu segmentačních metod vyplývají nedostatky tradičních přístupů k segmentaci obrazů. Mezi hlavní nedostatky patří především:

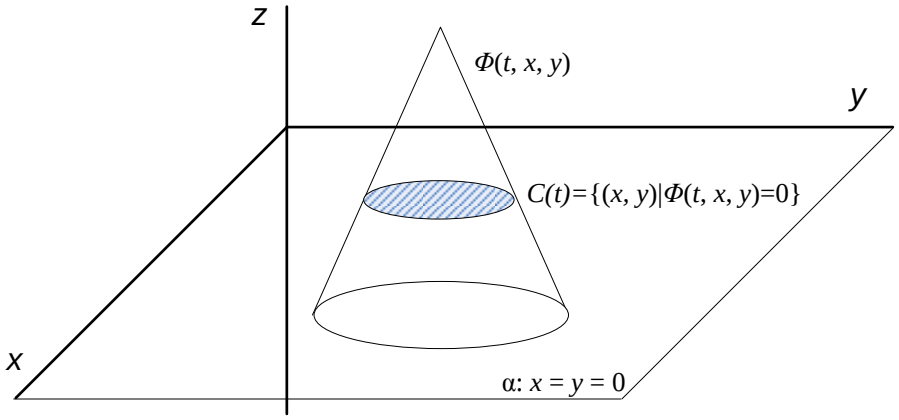
- nutné individuální předzpracování obrazů pro potlačení nepříznivých vlastností obrazů (přítomnost šumu v obraze, nevýrazné hrany, nízký kontrast),
- nutnost individuálního přizpůsobení segmentační metody podle počtu hledaných podoblastí v obraze (segmentace do dvou – pozadí/objekt nebo více podoblastí),
- nutnost manuálního učení některých segmentačních metod pro jejich správnou funkci,
- omezení pouze na hranovou analýzu nebo na oblastní analýzu a nemožnost metody přistupovat k obrazovým informacím z obou hledisek,
- citlivost na přerušené hrany,
- omezení segmentace pouze podle statistiky rozložení intenzity bodů (oblastí) v obraze bez možnosti zahrnout informace o tvaru hledaného objektu (segmentace modelem),
- a mnoho dalších nedostatků, které je třeba hledat v konkrétních aplikacích při srovnání výsledků tradičních segmentačních metod.

Je zřejmé, že oblast výzkumu segmentačních metod není v žádném případě u konce a je to velmi aktuální téma. Jak už bylo uvedeno, vždy je pro danou aplikaci třeba najít vhodnou segmentační metodu. Existuje spousta aplikací, u kterých se vyplatí řídit pravidlem „v jednoduchosti je síla“, kdy zdánlivě složitý segmentační problém vyřeší triviální prahování s automatickým hledáním prahu a jiné sofistikované segmentační metody mohou mnohdy celý proces zpracování obrazu jen zkomplikovat.

3.1 SEGMENTACE MR OBRAZŮ

Jak již bylo zmíněno, zpracování MR obrazů se vymyká tradičním přístupům vzhledem k často nepříznivým vlastnostem snímaných obrazů. Velmi často mají MR obrazy nízký kontrast právě v místě hledání určitého vzoru, obrazy bývají zatížené šumem a hledané oblasti mohou být velmi malé vzhledem k velikosti obrazového bodu. Byly popsané metody [10, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38], které se dokážou se zpracováním obrazů s takovými vlastnostmi vypořádat. Obecně se jedná o metody založené na řešení parciálních diferenciálních rovnic vyplývajících z variačního počtu. Segmentační metody založené na tomto principu jsou nazývány jako **aktivní kontury**. Bylo popsáno mnoho variant aktivních kontur, přičemž základem je vždy energetický funkcionál definující

chování křivky, resp. plochy ve 2D, resp. 3D obraze. Křivka je často popisována geometricky [26]. V tomto případě křivka není zadaná předem známým počtem bodů, a jejich vazbami, ale průnikem roviny se vzdálenostní funkcí tak, jak je to znázorněno na obr. 1.



Obr. 1 Geometrické vyjádření křivky pomocí průniku roviny se vzdálenostní funkcí

Křivka, která se v obraze z počátečního řešení vyvíjí k ustálenému stavu je tedy definovaná vztahem [30]:

$$C(t) = \left\{ (x, y) \middle| \phi(t, x, y) = 0 \right\}, \tag{1}$$

kde $\phi(t, x, y)$ je tzv. úrovňová funkce, která se vyvíjí v čase *t* v rovině *xy*.

Obecná rovnice popisující chování úrovňové funkce je daná vztahem [30]:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + F\left|\nabla \phi\right| = 0, \tag{2}$$

kde *F* je rychlostní funkce ovlivňující chování křivky v obraze. V případě segmentace obrazu bude rychlostní funkce přizpůsobovat tvar křivky tak, aby ohraničovala hledanou oblast.

K úplnosti přidáme hraniční a počáteční podmínky:

$$\frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{d}t} = 0 \text{ na hranicích oblasti } \Omega, \tag{3}$$

$$\phi(0, x, y) = \bar{d}(x, y, c_0) = \begin{cases} +d(x, y, c_0) & \text{pokud } x \text{ je vně } c_0 \\ -d(x, y, c_0) & \text{pokud } x \text{ je uvnitř } c_0 \end{cases}, \tag{4}$$

kde $d(x, y, c_0)$ je euklidovská vzdálenost od počáteční křivky c_0.

V oblasti segmentace obrazu volíme funkci *F* tak, aby byla závislá na obrazových datech (intensity pixel. v obraze, hrany v obraze) a na vlastní LS funkci. Vzhledem k přístupu segmentační metody k obrazovým datům (funkci intenzit) můžeme metodu aktivních kontur rozdělit na dva základní typy: hranová segmentace [25, 29] a oblastní segmentace [25, 31].

Hranová segmentační metoda iteračním řešením parciální diferenciální rovnice deformuje LSM funkci tak, aby se křivka co nejvíce blížila k hranám nalezeným v obraze. Z toho plyne aplikovatelnost metody spíše na segmentaci obrazu s výraznějšími hranami. LSM rovnice je v tomto případě rozšířena na tvar:

$$\frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{d}t} = g\left(|\nabla I|\right)\mathrm{div}\left(\frac{\nabla\phi}{|\nabla\phi|}\right) + \alpha g\left(|\nabla I|\right)|\nabla\phi| + \nabla g \cdot \nabla\phi\,, \tag{5}$$

kde I je vstupní obraz, α je stabilizující konstanta zajišťující konvergenci řešení a g je funkce ukončující vývoj úrovňové funkce v místě dosažení křivky k hraně objektu. Funkce g je dána rovnicí:

$$g = \frac{1}{1+\left|\nabla G_\sigma * I\right|^2}\,. \tag{6}$$

Výraz ve jmenovateli funkce je konvolucí vstupního obrazu s gaussovským filtrem, počítá se tedy s vyhlazeným obrazem.

Oblastní segmentační metoda je výhodnější v případě segmentace obrazu, ve kterém se nevyskytují ostré přechody, resp. v případě, kdy máme požadavek na extrakci objektu v obraze, pokud známe statistické vlastnosti intenzit v místě hledaného objektu. Uváděný přístup tedy z principu nehledá žádné hrany v obraze, ale snaží se nahlížet na oblasti v obraze podle místní statistiky intenzit a podle daných vlastností obraz rozdělit do dvou nebo více oblastí. V případě segmentace obrazu, kdy je výstupem binární obraz, můžeme aplikovat metodu aktivních kontur, která je daná následující rovnicí [29]:

$$\frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{d}t} = \delta_\varepsilon\left(\phi\right)\left[\nu\,\mathrm{div}\left(\frac{\nabla\phi}{|\nabla\phi|}\right) - \left(I-c_1\right)^2 + \left(I-c_2\right)^2\right], \tag{7}$$

kde I je vstupní obraz, ν je kladná konstanta pro váhování členu pro minimalizaci délky křivky. c_1 a c_2 jsou konstanty vyjadřující vlastnosti extrahovaných oblastí.

Výsledkem oblastní segmentační metody nemusí být binární obraz. Výstupem může být i obraz s více oblastmi, z nichž má každá jinou úroveň. Jde tedy už o jistou klasifikaci objektů během segmentace do více než dvou skupin. V případě, že v obraze hledáme více oblastí s různými středními hodnotami intenzit, můžeme použít tzv. **vícefázovou segmentační oblastní LSM metodu**. Jedná se o zobecnění popsané dvoufázové metody. Metoda je popsána energetickým funkcionálem [31]:

$$F_n\left(\mathbf{c},\mathbf{\Phi}\right) = \sum_{1\le u\le n=2^m}\int_\Omega \left(I-c_u\right)^2 \chi_u \mathrm{d}x\mathrm{d}y + \sum_{1\le i\le m}\nu\int_\Omega \left|\nabla H\left(\phi_i\right)\right|, \tag{8}$$

kde n udává počet hledaných oblastí, $\mathbf{c}$ je vektor konstant průměrných intenzit hledaných oblastí, $\mathbf{\Phi}$ je vektor LS funkcí (funkcí musí být $\log_2 n$). Pro čtyřfázovou segmentaci dostaneme vztah [31]:

$$\begin{aligned} F_4\left(\mathbf{c},\mathbf{\Phi}\right) = &\int_\Omega \left(I-c_{11}\right)^2 H\left(\Phi_1\right)H\left(\Phi_2\right)\mathrm{d}x\mathrm{d}y \\ &+\int_\Omega \left(I-c_{10}\right)^2 H\left(\Phi_1\right)\left(1-H\left(\Phi_2\right)\right)\mathrm{d}x\mathrm{d}y + \int_\Omega \left(I-c_{01}\right)^2\left(1-H\left(\Phi_1\right)\right)H\left(\Phi_2\right)\mathrm{d}x\mathrm{d}y\,, \\ &+\int_\Omega \left(I-c_{00}\right)^2\left(1-H\left(\Phi_1\right)\right)\left(1-H\left(\Phi_2\right)\right)\mathrm{d}x\mathrm{d}y + \nu\int_\Omega\left|\nabla H\left(\Phi_1\right)\right| + \nu\int_\Omega\left|\nabla H\left(\Phi_2\right)\right|, \end{aligned} \tag{9}$$

kde $\mathbf{c} = (c_{11}, c_{10}, c_{01}, c_{00})$ je vektor středních hodnot intenzit a $\mathbf{\Phi} = (\Phi_1, \Phi_2)$. Minimalizací energetického funkcionálu F_4 vzhledem k $\mathbf{c}$ a $\mathbf{\Phi}$ dostaneme odpovídající Euler-Lagrangeovy rovnice.

Přínosem disertační práce v oblasti segmentace obrazů je:

- volba vhodného matematického modelu segmentační metody pro danou aplikaci a vhodná volba parametrů vybraného modelu:
    - hranová LSM: iterační krok dt, koeficient směru a rychlosti rozpínání α, koeficient vyhlazení Diracovy funkce ε, směrodatná odchylka jádra Gaussova filtru σ, velikost masky Gaussova filtru, počáteční tvar LS funkce Φ, počet iterací,
    - oblastní LSM: počet fází segmentovaného obrazu, iterační krok dt, koeficient zakřivení ν, koeficient vyhlazení Heavisideovy a Diracovy funkce ε, počáteční tvar LS funkce Φ, počet iterací.

3.2 ZPRACOVÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH OBRAZŮ

Pro zpracování mikroskopických obrazů v aplikacích, uvedených v této disertační práci, bylo použito zcela jiných přístupů než při segmentaci MR obrazů. Nejprve je třeba uvést, že cílem bylo navrhnout metodiku pro zpracování velkého množství obrazů několika typů a vlastností, které reprezentovaly jednotlivé svalové vrstvy snímaných tkání. Postupně byla navržena metodika pro tyto skupiny obrazů:

- obrazy vnitřní cirkulární vrstvy (VCV) a obrazy vnější longitudinální vrstvy (VLV),
- obrazy nervových uzlin střevní stěny (NUSS).

Algoritmy pro zpracování těchto dvou skupin obrazů bylo třeba navrhnout odděleně, protože se vlastnosti obrazů spadajících do jedné nebo druhé skupiny velmi liší.

3.2.1 Zpracování obrazů vnitřní cirkulární a vnější longitudinální vrstvy

Cílem návrhu metodiky pro zpracování obrazů vnitřní cirkulární vrstvy (VCV) a vnější longitudinální vrstvy (VLV) bylo zjistit, zda jsou rozdíly mezi hustotou buněčných jader v obrazech zdravých a postižených tkání a dále zjistit, zda jsou rozdíly v morfologii buněčných jader v obrazech. Tyto dva problémy byly řešeny odděleně.

Pro počítání buněčných jader byl navržen vhodný algoritmus pro zpracování mikroskopických obrazů zmíněných tkání s co nejnižší chybou, a tím pádem nutností manuálního post-zpracování. Algoritmus sestává z redukce obrazové informace oddělením barevných kanálů a podvzorkováním obrazu, mediánového vyhlazení, zvolení segmentačního prahu, segmentace, skeletonizace, analýzy koster, vlastního počítání, vykreslení značek nalezených buněk, následné manuální supervize a určení základních statistických hodnot ze zpracovaných obrazů. Blokové schéma algoritmu je ukázáno na obr. 2.

zmenšení obrazu na 50%	rozdělení barevných kanálů	mediánové vyhlazení	prahování	určení koster a jejich analýza	počítání a statistika	manuální post-zpracování

Obr. 2 Zjednodušený postup zpracování obrazů VCV (zleva doprava) k určení počtu buněčných jader.

Nejdříve jsou obrazy zmenšeny na poloviční velikost (z 1600x1200 bodů na 800x600 bodů). Toto měřítko bylo zvoleno empiricky tak, aby došlo ke snížení výpočetní náročnosti při zachování dostatečného počtu bodů reprezentujících zobrazované objekty konečné velikosti. Dále jsou tyto barevné obrazy rozděleny do jednotlivých barevných kanálů, tj. vzniknou tři oddělené obrazy s červenou, zelenou a modrou složkou s ohledem na vztah:

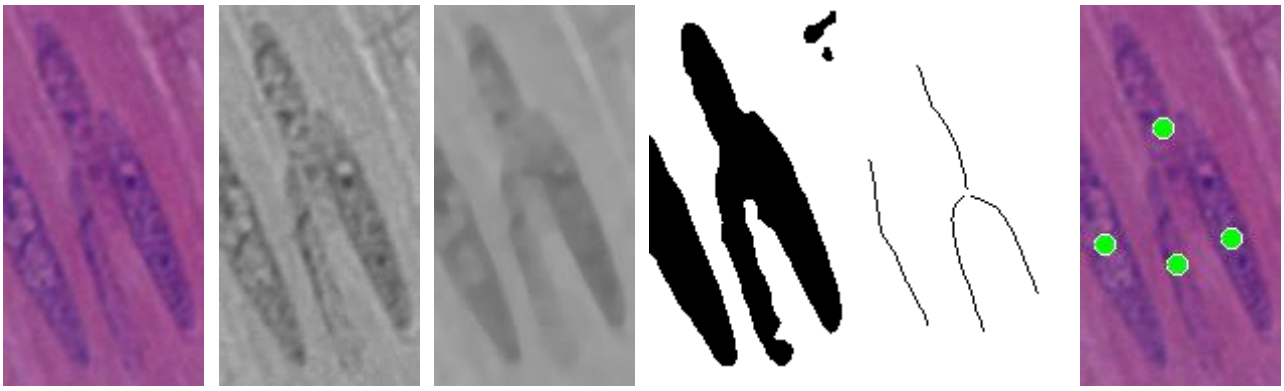
$$\mathbf{Y} = 0,3 \cdot \mathbf{R} + 0,59 \cdot \mathbf{G} + 0,11 \cdot \mathbf{B}\,, \tag{10}$$

kde **R**, **G** a **B** jsou matice intenzit jednotlivých barevných složek (červená, zelená a modrá), **Y** je matice šedotónového obrazu, který vznikne sloučením třech barevných kanálů.

Na základě subjektivního porovnávání velké množiny takto rozložených obrazů byla pro další zpracování zvolena červená složka obrazů. Zpracování zmenšeného šedotónového obrazu výrazně snižuje výpočetní náročnost. Další fází zpracování těchto upravených obrazů je vyhlazení a filtrace šumu. Byl zvolen mediánový filtr, který dokáže spojit přerušené objekty a zároveň nerozmazává hrany v obraze. Velikost mediánové masky byla stanovena na 10x10 bodů jako kompromis pro dostatečné doplňování chybějící informace v obrazu avšak bez nežádoucího spojování objektů, které si nepřísluší. Vyhlazený obraz je dále segmentován prahováním s automatickým určením prahu trojúhelníkovou metodou [39]. Jedná se o geometrickou metodu určení prahu z histogramu.

Výstupem segmentace je binární obraz, tedy s oddělenými buněčnými jádry od pozadí. Segmentovaný obraz je třeba dále zpracovat vzhledem k tomu, že některé buňky se v obraze překrývají a v segmentovaném obraze jsou jejich masky spojené. Pro řešení tohoto problému je navržena metoda určení a analýzy koster objektů. Myšlenka vychází z předpokladu, že buněčná jádra v obrazech VCV vykazují eliptický tvar. Elipsy v obrazech je možné hledat několika způsoby, např. segmentací pomocí modelu [40] nebo Houghovou transformací obrazu [1, 6]. Obě metody, zvláště druhá z nich, jsou ovšem časově náročné a citlivé na zvolení parametrů segmentace. V navrženém přístupu se analýza tvaru objektu zjednodušuje na analýzu kostry objektu [6]. Předpokladem je, že kostra eliptického objektu je v ideálním případě úsečka, která leží na jeho hlavní ose. Analýzou tvaru kostry lze potom určit případ, kdy jsou buňky částečně překryté a to podle: a) změny základního tvaru kostry, b) určení délky kostry a c) sledování změny intenzity okolí kostry v původním obraze.

Výpočet kostry objektu v binárním obraze je možné realizovat několika způsoby publikovanými v [41]. Výsledky metod se příliš neliší, rozdíly mohou být např. ve výpočetní náročnosti. V tomto případě byla použita metoda postupného ztenčování objektu odebíráním bodů na hraně objektu s pozadím až na objekt o tloušťce jednoho bodu [42]. Dalším možným přístupem určení kostry objektu může být algoritmus vepsaných kružnic, u kterého kostra vznikne spojením středů všech kružnic, které se vnitřních hranic objektů dotýkají minimálně ve dvou bodech [43]. Mezivýsledky jednotlivých fází zpracování vybraného obrazu jsou zobrazeny na obr. 3.



Obr. 3 Mezivýsledky zpracování mikroskopických obrazů v jednotlivých fázích, a) výřez z původního obrazu, b) oddělený červený kanál výřezu, c) výsledek mediánové filtrace, d) segmentovaný obraz, e) nalezené kostry buněčných jader, f) původní obraz s označenými nalezenými buněčnými jádry.

V kostře jsou hledané tzv. křížové body, tj. body, které mají ve svém okolí více jak dva další body kostry. Z tohoto bodu jasně vychází více křivek, čili kostra se dělí na více dalších koster. Okolí křížových bodů je označeno barvou pozadí a tím se jednotlivé kostry oddělí. Dále je možné rozeznat problematický případ, kdy dvě buňky na sebe navazují a překrývají se pouze svými konci. Kostra segmentovaného objektu v tomto případě vykazuje do jisté míry

eliptický tvar, jehož kostra může být také úsečka. Pokud jsou obě buněčná jádra dostatečně dlouhá, lze kostru např. rozdělit uprostřed s využitím předem stanoveného prahu pro maximální délku kostry. Navržený algoritmus zkoumá v okolí kostry jasovou informaci v původním obraze. V místě překrytí totiž dochází vlivem vyšší koncentrace kontrastní látky ke zvýšení kontrastu oproti pozadí – místo překrytí je tmavší než barevný odstín jednoduchého buněčného jádra. Analýzou jasové informace po „cestě“ kostry lze stanovit místo překrytí dvou nebo více buněk a v tomto místě opět kostru rozdělit. Zda mají funkční změny tkání souvislost s jejich morfologickými změnami, není jen otázkou počtu buněk, resp. buněčných jader. V obrazech VCV je dále možné vyhodnotit také morfologii jednotlivých buněčných jader – jejich tvar, texturní vlastnosti apod. K tomuto účelu byla navržena metoda poloautomatického vyhodnocení morfologie buněčných jader v celé předložené databázi obrazů VCV. Metoda spočívá v předzpracování obrazů a následné segmentaci, přičemž tyto kroky se shodují s předzpracováním a segmentací pro účely počítání buněk. Nalezené segmenty jsou manuálně zkontrolovány a odděleny v problematických oblastech, kde se buňky překrývají. Dále jsou u všech segmentů vyhodnoceny jejich hranice. Body jednotlivých hranic jsou použity pro aproximaci nalezené hranice elipsou. Postup určení eliptického tvaru buněčného jádra znázorňuje obr. 4. Na obrázku vlevo je výsledek segmentace výřezu z původního obrazu, uprostřed je vykreslena nalezená hranice objektu do původního obrazu. Je zřejmé, že hranice přesně ohraničuje buněčné jádro a to i v místě porušené hrany, kde dochází k částečnému „přerušení“ jádra. Všechny body nalezené hranice jsou použity k aproximaci elipsou, která je již vykreslena na obrázku vpravo ve výřezu z původního obrazu.

Obr. 4 Postup při aproximaci tvaru buněčného jádra elipsou, a) segmentovaný obraz s vyznačenými hranami segmentu, b) hrana segmentu v původním obraze, c) výsledek aproximace hrany segmentu elipsou.

Metod pro aproximaci hraničních bodů elipsou bylo popsáno mnoho [44, 45]. V naší aplikaci byla vybraná metoda implementovaná v prostředí ImageJ, která prokládá zvolené body elipsou určenou z centrálních momentů množiny **Q** nalezených hraničních bodů [46]. Centrální moment řádu *pq* množiny bodů **Q** je definován:

$$\mu_{pq} = \sum_{x,y\in\mathbf{Q}} (x - x_c)^p (y - y_c)^q , \tag{11}$$

kde x a y jsou souřadnice bodů množiny **Q** a x_c a y_c jsou souřadnice bodu těžiště, které lze vypočítat jako průměrné hodnoty všech souřadnic v množině **Q**, čili:

$$(x_c, y_c) = \left(\frac{1}{S}\sum x_i, \frac{1}{S}\sum y_i \right), \tag{12}$$

kde S je počet bodů množiny **Q** a platí:

$$1 \le i \le S\,. \tag{13}$$

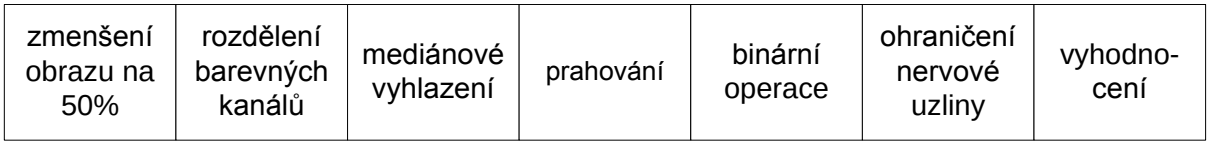
Úhel natočení elipsy lze potom určit z vypočítaných centrálních momentů podle vztahu:

$$\theta = 0,5\,\mathrm{arctg}\left(\frac{2\mu_{11}}{\mu_{20} - \mu_{02}}\right). \tag{14}$$

Při zkoumání rozdílů mezi zdravými a postiženými tkáněmi byla všechna buněčná jádra pomocí této metody proložena elipsou a byly vyhodnoceny následující parametry: plocha jádra, délka jádra (délka hlavní osy aproximující elipsy), tloušťka jádra (délka vedlejší osy aproximující elipsy) a úhel natočení jádra (shodný s úhlem natočení aproximující elipsy). Dále byly vyhodnoceny základní statistické vlastnosti rozložení uvedených parametrů ve zdravých a postižených tkáních – odhad střední hodnoty, medián, směrodatná odchylka, maximální a minimální hodnota – a to vždy v rámci jednoho obrazu. V obrazech VCV a VLV však nakonec nebyly nalezeny žádné rozdíly mezi zdravými a postiženými tkáněmi ani v počtu buněčných jader, ani v jejich morfologii. Všechny distribuční funkce znázorňující rozložení vybraných parametrů se překrývaly. Závěr z tohoto výzkumu je – nelze klasifikovat divertikulární chorobu dle počtu a morfologie buněčných jader ve vnitřní cirkulární a vnější longitudinální vrstvě.

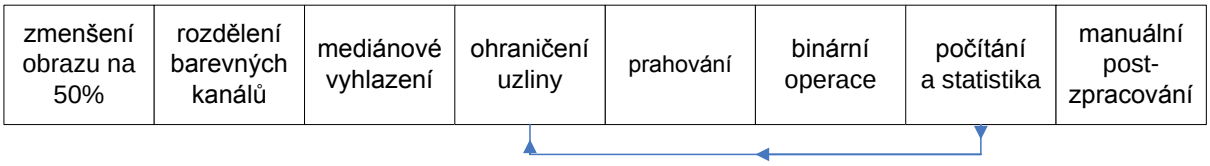
3.2.2 Zpracování obrazů nervových uzlin střevní stěny

Cílem zpracování obrazů nervových uzlin střevní stěny (NUSS) je zjištění hustoty neuronů a gliových buněk v nervových uzlinách. Nejprve je třeba určit hranice jednotlivých uzlin v obrazech a vypočítat plochy uzlin. Dalším krokem je segmentace neuronů a segmentace gliových buněk s následným určením hustoty jejich výskytu na ploše nervové uzliny. Byly použity dva druhy chemických látek, přičemž každá z nich zabarví buď neurony nervové uzliny hnědou barvou, nebo gliové buňky hnědou barvou. Podle toho se následně pořizují obrazy pro zjištění hustoty neuronů, resp. gliových buněk. Navržená metodika pro zpracování obrazů NUSS pro ohraničení uzliny je podobná metodice zpracování obrazů VCV a VLV. Navržený algoritmus je zobrazen na obr. 5.



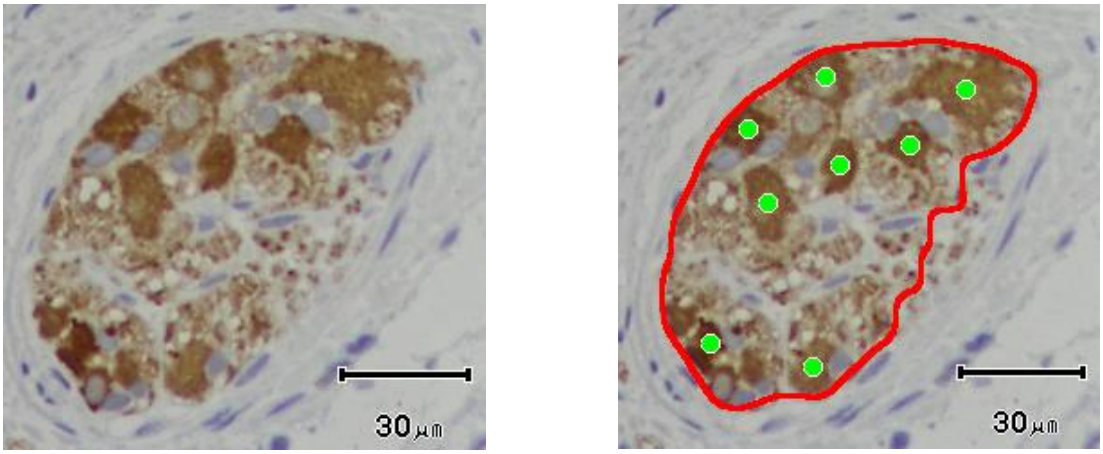
Obr. 5 Zjednodušený postup zpracování obrazů NUSS (zleva doprava) pro nalezení a ohraničení nervové uzliny.

Ohraničené oblasti nervových uzlin můžeme následně zpracovat. Nejprve se zaměříme na segmentaci neuronů. Neurony jsou v obrazech NUSS reprezentované tmavě hnědými oblastmi. Pozadí nervové uzliny má světlejší odstín hnědé, který střídá světlé modré pozadí celého obrazu. Pro segmentaci neuronů byla navržena metodika, jejíž fáze ukazuje obr. 6.



Obr. 6 Zjednodušený postup zpracování obrazů NUSS (zleva doprava) pro vyhodnocení počtu neuronů v uzlinách.

Nejprve je obraz zmenšen na poloviční velikost pro urychlení jeho dalšího zpracování. Dále je barevný obraz rozdělen na tři jeho barevné kanály. Empiricky byl pro další zpracování zvolen opět modrý kanál, jelikož v tomto kanále vykazují oblasti neuronů nejvyšší kontrast vzhledem k pozadí nervové uzliny. Modrý kanál je dále vyhlazen mediánovým filtrem o velikosti masky 3. Následně se zpracovávají pouze oblasti uzlin, což zvyšuje efektivitu zpracování, jelikož vlastnosti obrazu se mohou v okolí jednotlivých uzlin lišit (špatné osvětlení mikroskopu, jasová degradace apod.). V ohraničené uzlině se vypočítá lokální histogram rozložení jasových úrovní a na základě jeho znalosti se určí automaticky segmentační práh trojúhelníkovou metodou. Obraz je segmentován vypočítaným prahem v oblasti ohraničené uzliny; dostáváme segmentovanou oblast dané nervové uzliny. Podle obr. 6 následuje zpracování binárního obrazu. Jde pouze o vyplnění děr v binárním obraze pro následný výpočet poloh těžišť jednotlivých objektů pro vykreslení značek nalezených neuronů. Následuje výpočet hustoty výskytu neuronů na ploše nervové uzliny. Pokud se v obraze nalézá více uzlin, algoritmus se opakuje. Tím automatické zpracování obrazu NUSS končí a následuje fáze manuálního post-zpracování. Mezivýsledky jednotlivých fází navrženého algoritmu pro segmentaci neuronů v obrazech NUSS jsou zobrazeny na obr. 7.



a) **b)**

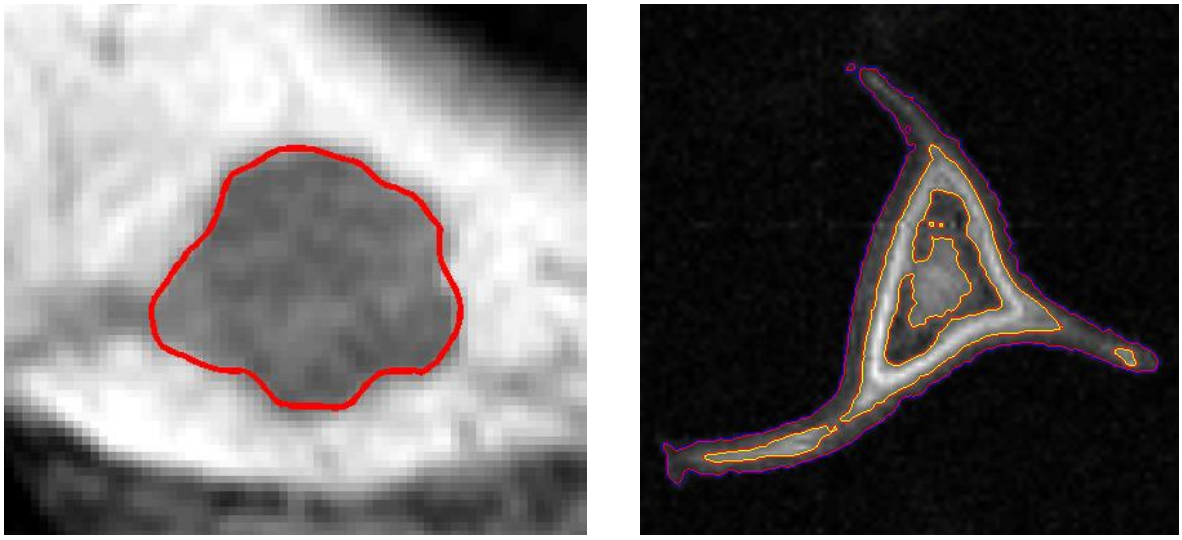
Obr. 7 Výsledek zpracování obrazů NUSS s cílem označit neurony v oblasti nervové uzliny, a) výřez z původního obrazu s viditelnou nervovou uzlinou, b) výsledek zpracování obrazu s označenými neurony v ohraničené nervové uzlině.

Jednotlivé segmenty jsou dále sčítány a v každé ohraničené uzlině je určen jejich celkový počet. Tím je možné určit střední hustotu gliových buněk/neuronů. Hustota gliových buněk, hustota neuronů a poměr mezi těmito hodnotami jsou dále použity jako parametry pro klasifikaci tkání do skupiny zdravých a postižených tkání.

4 VÝSLEDKY NAVRŽENÝCH ŘEŠENÍ

4.1 SEGMENTACE MR OBRAZŮ

Výsledky segmentace MR obrazů v oblastech zájmu lze ukázat na několika příkladech. Pro srovnání jsou použity dva obrazy − řez jaterním tumorem a řez Euphorbií. Jak bylo v této kapitole ukázáno, byla použita metoda, která ohraničila oblast hledaného jaterního tumoru hranovou segmentační metodou aktivních kontur. Obraz řezu Euphorbií byl segmentován oblastní čtyřfázovou segmentační metodou aktivních kontur, přičemž touto metodou byly nalezeny celkem tři podoblasti s různou střední hodnotou jasu. Na obr. 8 jsou uvedeny výsledky segmentace zmíněných obrazů. Dále je ukázáno srovnání segmentace těchto obrazů s jinými tradičními segmentačními přístupy.



a) b)

Obr. 8 Obrazy segmentované navrženými metodami; a) segmentace řezu jaterního tumoru hranovou segmentační metodou aktivních kontur; b) segmentace řezu Euphorbie oblastní čtyřfázovou segmentační metodou.

Navržené parametry pro segmentaci oblasti jaterního tumoru v MR obraze:

- iterační krok dt = 10,
- koeficient směru a rychlosti rozpínání α = -1,5,
- koeficient vyhlazení Diracovy funkce ε = 0,1,
- směrodatná odchylka jádra Gaussova filtru σ = 0,1,
- velikost masky Gaussova filtru 3,
- počáteční tvar LS funkce:

$$\Phi = \begin{cases} 4 & \text{pro oblast vně manuálně zadané křivky,} \\ -4 & \text{pro oblast uvnitř manuálně zadané křivky,} \end{cases}$$

- počet iterací 1000.

Navržené parametry pro segmentaci MR obrazu Euphorbie:

- počet fází segmentovaného obrazu 4,
- iterační krok dt = 10,
- koeficient zakřivení ν = 2,
- koeficient vyhlazení Heavisideovy a Diracovy funkce ε = 10,
- počáteční tvar LS funkcí:

$$\Phi_1 = 100 - \sqrt{(200-x)^2} + \sqrt{(200-y)^2},$$

$$\Phi_2 = 50 - \sqrt{(190-x)^2} + \sqrt{(190-y)^2},$$

- počet iterací 350.

Výběr matematického modelu a návrh vhodných parametrů se odvíjí od dané aplikace.

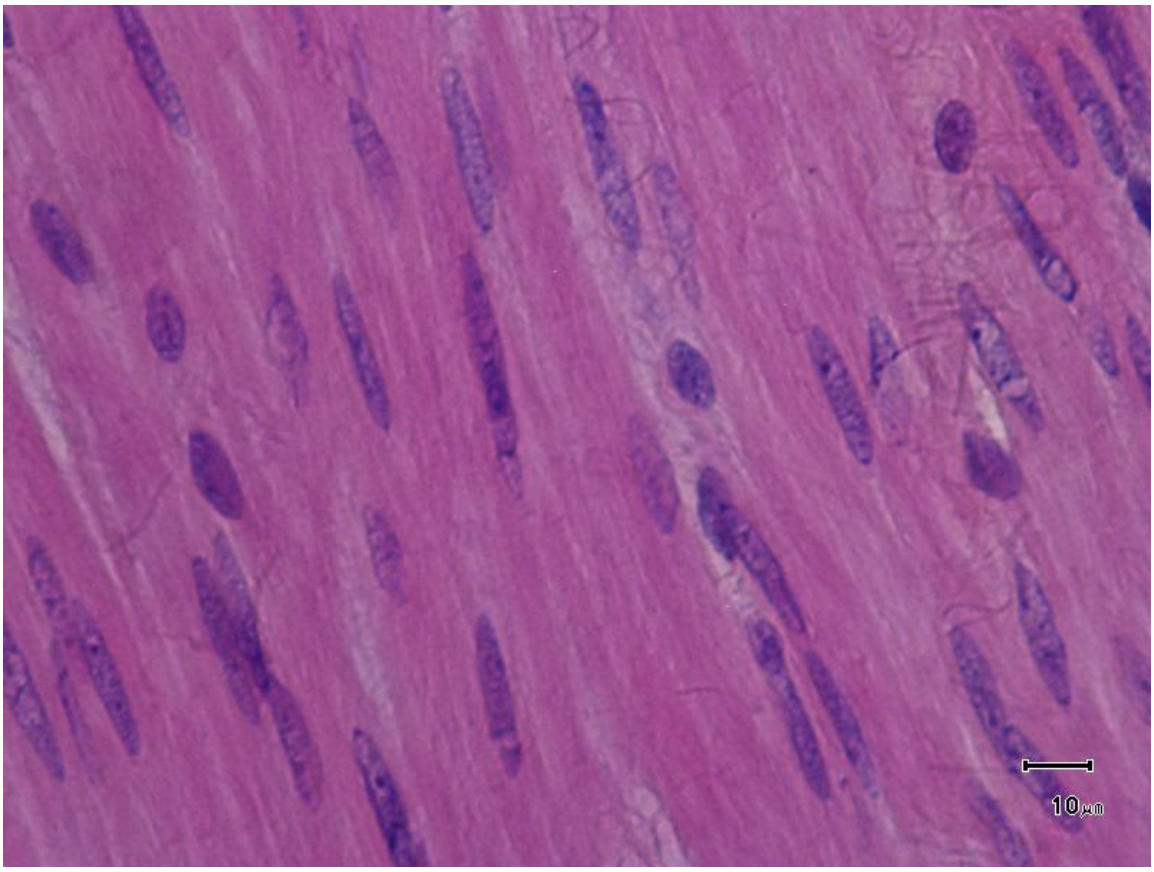
4.2 ZPRACOVÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH OBRAZŮ

Výsledky zpracování mikroskopických obrazů lze ukázat na několika příkladech. Nejdříve je nutné konstatovat, že před návrhem celé metodiky byly obrazy zpracovávané kompletně manuálně. Výsledky určování ploch oblastí, počtu objektů, a tím i určování odvozených parametrů jako hustotu výskytu a dalších statistických parametrů, bylo zatíženo

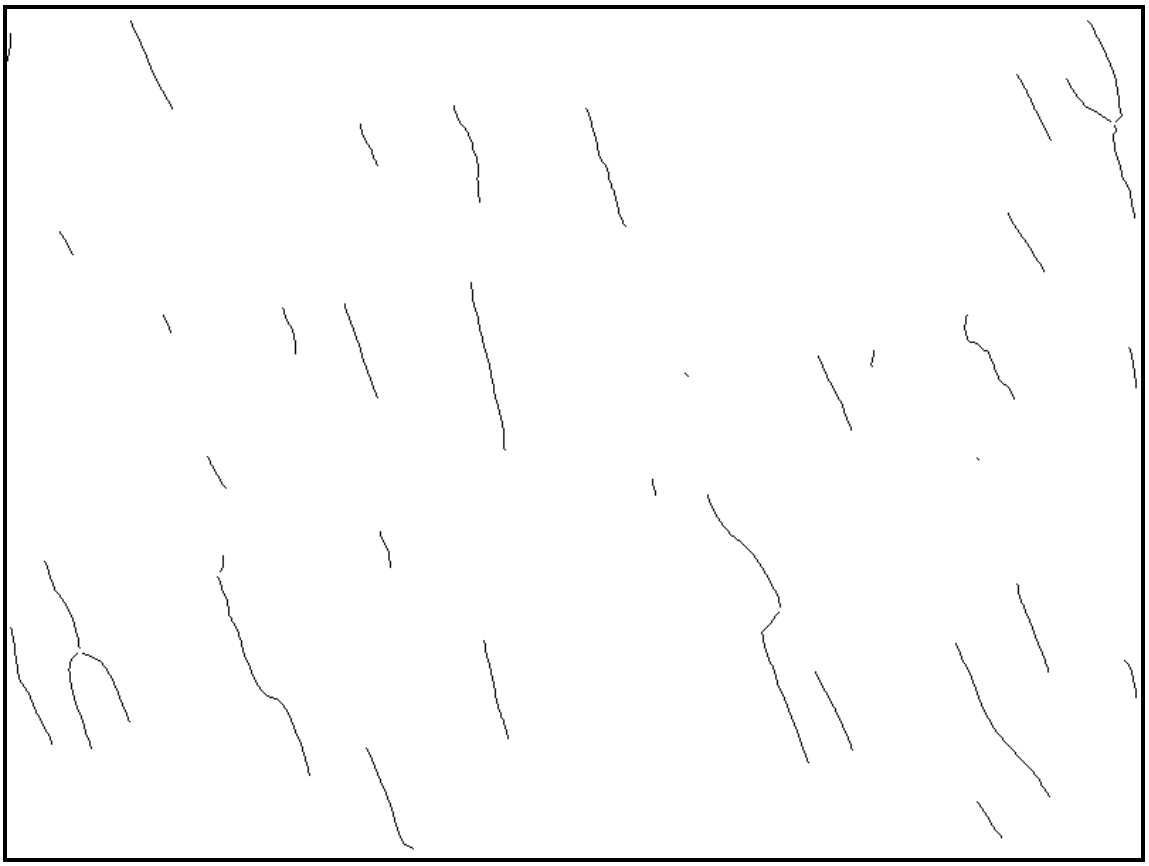
značnou chybou. Počet buněčných jader v obrazech VCV a VLV byl určován manuální cestou, spousta buněčných jader nebyla vůbec započítána, některé byly započítány vícekrát. Plochy oblastí byly určovány aproximací oblasti obdélníkovým tvarem s následným součinem délky stran a přepočítáním dle platného měřítka. Výsledek zpracování vybraného původního obrazu VCV (obr. 9) navrženou metodou je ukázán na obr. 10. Zpracování obrazu trvalo téměř 5 sekund. Výsledek je dále je možné manuálně zpracovat, vyhodnotit počet buněčných jader a vhodným způsobem zobrazit výsledný zpracovaný obraz. To už je ale věc programové implementace a aplikace, která je popsaná v kapitole 5.2. Jak již bylo řečeno, celé automatické zpracování obrazů, nejen v tomto případě, je vhodné především pro urychlení celého procesu. V mnoha případech také pro zvýšení přesnosti a potlačení negativních dopadů lidského faktoru. V tab. 1 jsou uvedeny přibližné časy potřebné pro zpracování uvedených mikroskopických obrazů. Je zřejmé, že automatickým zpracováním obrazů se v tomto případě ušetří opravdu velmi mnoho času, o chybovosti nemluvě.

Tab. 1 Srovnání přibližných časů zpracování obrazů manuálním počítáním buněk a automatickým zpracování obrazů, *) doba zpracování platí pro obraz 800 x 600 bodů se 65 buňkami, CPU Intel Core i3 350M 2,26GHz, 4GB RAM, Windows XP Prof.

	Manuální zpracování	**Automatické zpracování s následnou supervizí *)**
Doba zpracování jednoho obrazu	3 minuty	4 s. + 20 s. supervize
Dobra zpracování 26 obrazů výchozí sady	78 minut	10,4 minut
Doba zpracování obrazů 13 tkání po 5 snímcích rozšířené sady	6,5 hodiny	52 minut



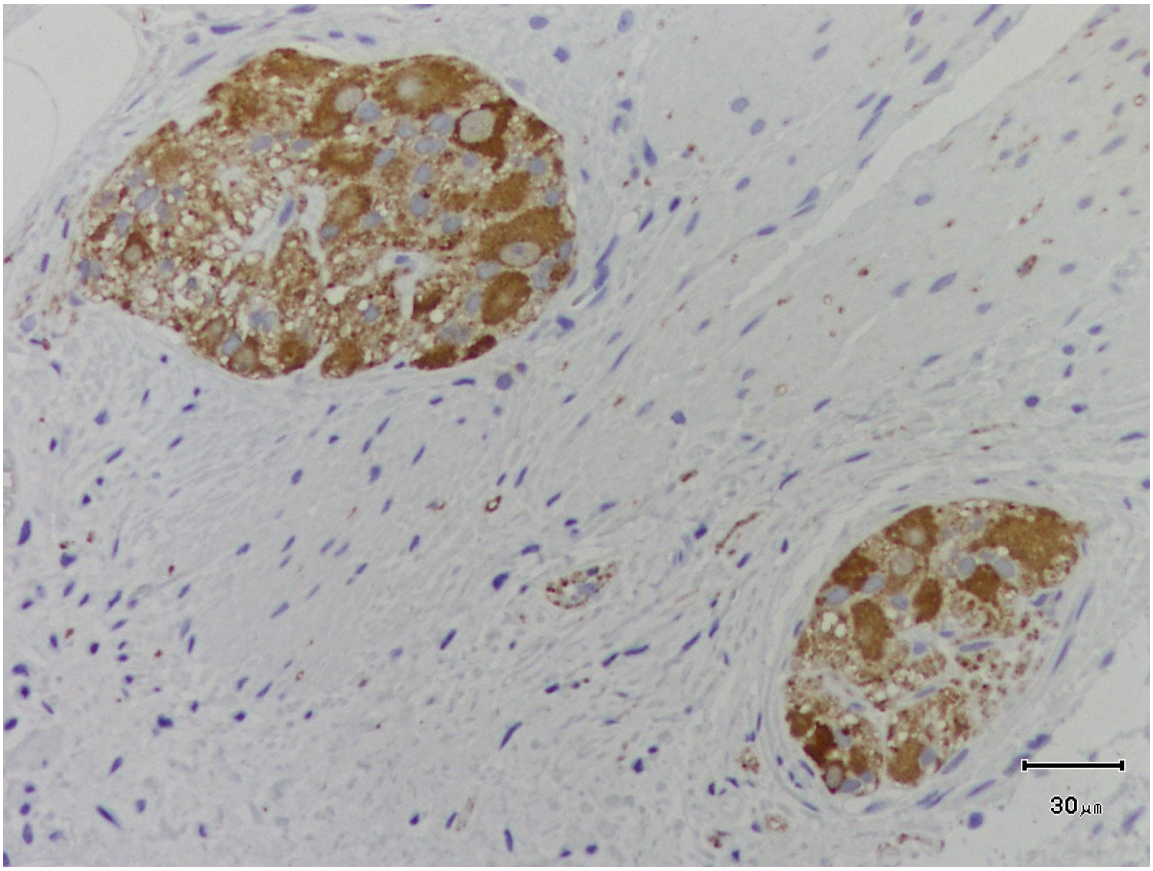
Obr. 9 Vybraný původní obraz VCV pro srovnání kvality zpracování**.**



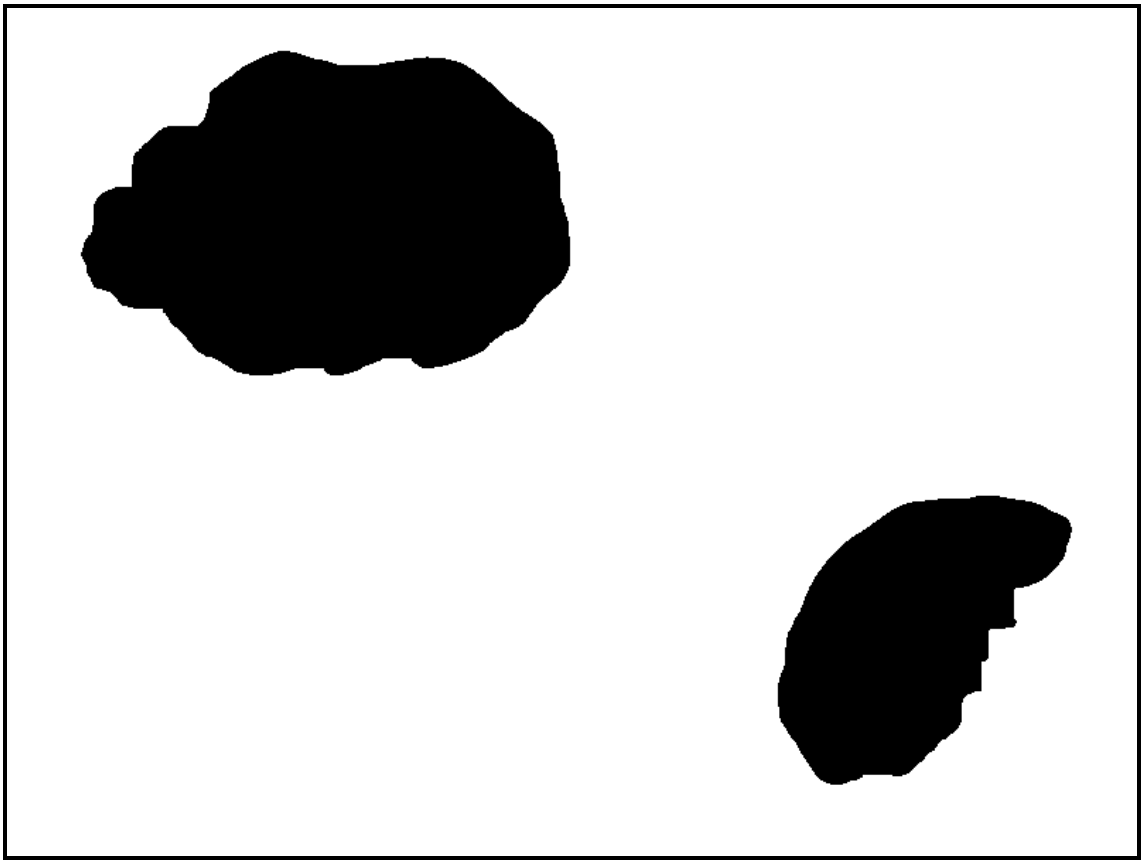
Obr. 10 Výsledek zpracování obrazu VCV navrženou metodou – binární obraz obsahující kostry nalezených buněčných jader.

Zobecněným cílem nástrojů pro zpracování mikroskopických obrazů bylo automatické rozpoznání postižených tkání divertikulární chorobou od tkání kontrolních. Na základě manuálního zpracování původní sady obrazů byly zjištěny rozdíly v počtu buněk v obrazech VCV. Jde o typický problém klasifikace obrazu [6, 7]. Prvním krokem při klasifikaci obrazů je vytvoření vektoru vlastností, na základě kterých je možné obrazy klasifikovat do dvou či více skupin. V našem případě jde o skupinu zdravých a postižených tkání. Vybranými parametry u obrazů VCV jsou počet buněčných jader, plocha buněčných jader, délka buněčného jádra (délka hlavní poloosy eliptického tvaru), šířka buněčného jádra (délka vedlejší poloosy eliptického tvaru) a úhel natočení buněčných jader. Dále byly u těchto parametrů vyhodnoceny základní statistické veličiny: odhad střední hodnoty, medián, maximální a minimální hodnota a směrodatná odchylka. Byla zpracovaná rozšířená sada obrazů VCV s cílem stanovit rozložení uvedených parametrů. Po zpracování rozšířené sady obrazů VCV bylo zjištěno, že všechna rozložení uvedených parametrů se významně překrývají a prakticky nelze najít takový vektor parametrů, který by jednoznačně nebo s určitou povolenou chybou klasifikoval obrazy do skupiny postižených nebo zdravých tkání.

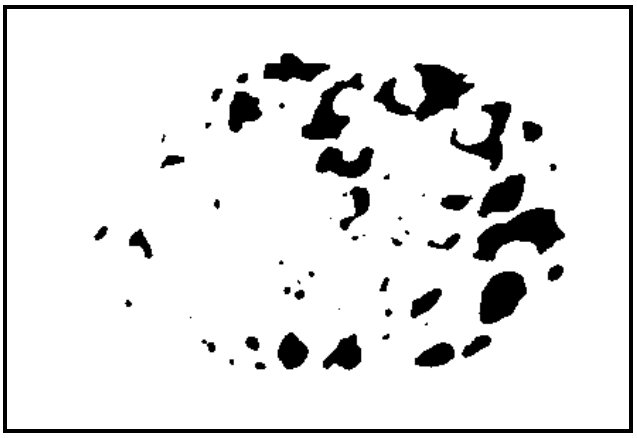
Příklad původního obrazu NUSS s viditelnými neurony lze vidět na obr. 11. Cílem zpracování obrazů NUSS je ohraničení nervových uzlin, dále segmentace neuronů a určení počtu neuronů v každé s nervových uzlin, hustoty jejich výskytu v dané uzlině a průměrné hustoty neuronů vyskytujících se v daném obraze. Výsledek segmentace obrazu NUSS je ukázán na obr. 12. Obě nervové uzliny jsou velmi dobře segmentované. Výsledek segmentace může být použitý pro určení hrany uzliny, výpočet plochy z počtu bodů apod. Je vidět, že díky binárnímu zpracování obrazu jednotlivé segmenty nejsou porušeny, neobsahují díry a mají hladkou spojitou hranu.



Obr. 11 Příklad mikroskopického obrazu nervové uzliny střevní stěny s neurony zvýrazněnými kontrastní látkou.



Obr. 12 Výsledek zpracování obrazu NUSS s nalezenými nervovými uzlinami.



Obr. 13 Výsledek zpracování obrazu NUSS s nalezenými neurony v jedné ze dvou nervových uzlin.

Segmentovanou uzlinu je pro nalezení neuronů třeba dále zpracovat. Podle navržené metodiky se dále zpracovává pouze oblast uzliny, ne celý obraz. Zaprvé to urychlí celý proces a zadruhé např. vypočítaný histogram jasových úrovní odpovídá skutečně histogramu dané uzliny a není ovlivněn artefakty ve zbytku obrazu. Každá nervová uzlina je tedy dále zpracována individuálně, jakoby se jednalo o několik samostatných obrazů s komplexním tvarem. Výsledek zpracování oblasti levé horní uzliny je zobrazen na obr. 13. V tomto zpracovaném obraze jsou od sebe již odděleny jednotlivé neurony dané nervové uzliny. Neurony je možné jednoduše počítat, vyhodnotit hustotu jejich zastoupení na ploše uzliny apod. To je věcí aplikace, která bude popsaná v kapitole 5.2. Stejně jako u obrazů VCV bylo u obrazů NUSS cílem zjistit existenci parametrů, podle kterých by bylo možné klasifikovat tkáně do skupin zdravých a postižených. Byla vybrána následující skupina parametrů: hustota neuronů v nervové uzlině, hustota gliových buněk v nervové uzlině a poměr v počtu gliových buněk a neuronů. Vyhodnocení navrženou poloautomatickou technikou opět popřelo výsledky manuálního zpracování, kterým se došlo k závěru, že mezi zdravými a postiženými tkáněmi lze najít významné rozdíly v hustotě buněk/neuronů. Tyto rozdíly se přisoudily spíše chybě manuálního vyhodnocování. Jak ukazuje tab. 2, jsou rozdíly ve vyhodnocovaných parametrech mezi zdravými a postiženými tkáněmi zanedbatelné, z čehož plyne, že nelze na těmito parametry obrazy správně klasifikovat.

Tab. 2 Srovnání vyhodnocovaných parametrů v obrazech NUSS pro zdravé a postižené tkáně.

	Myenteric plexus počet neuronů	**Myenteric plexus** počet gliových buněk	**Myenteric plexus** poměr gliových buněk/neuronů
Zdravé tkáně	500,31 ± 121,02	1543,04 ± 331,90	3,16
Postižené tkáně	451,08 ± 167,05	1879,47 ± 295,13	4,29

5 EXPERIMENTÁLNÍ APLIKACE

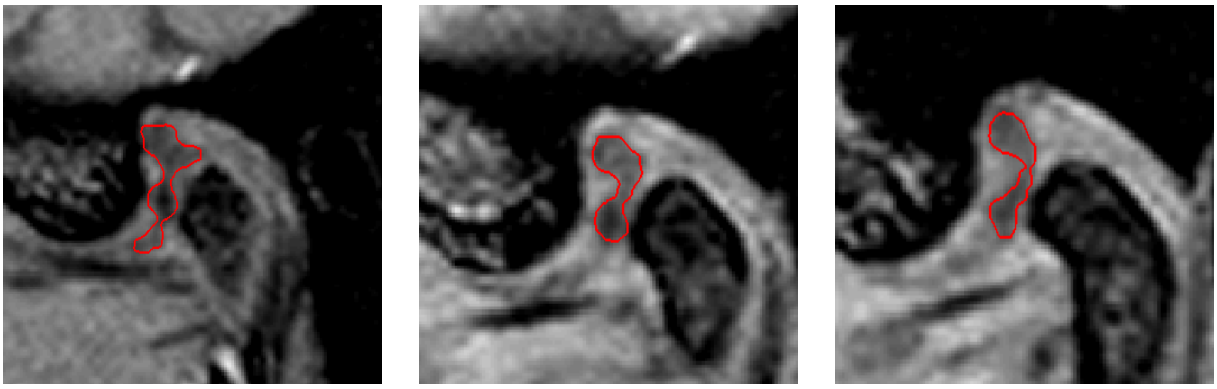
Jsou uvedeny pouze dvě vybrané aplikace navržených metod. První je z oblasti segmentace MR obrazů, konkrétně MR obrazů disku čelistního kloubu a druhá je z oblasti zpracování mikroskopických obrazů. Další aplikace jsou uvedeny v disertační práci.

5.1 SEGMENTACE DISKU ČELISTNÍHO KLOUBU

Změny polohy disku patří k nejčastějším onemocněním čelistního kloubu. Disk čelistního kloubu je chrupavčitá ploténka spojující horní kloubní prostor s čelistní hlavicí. Úlohou disku je vyrovnávat zakřivení kloubních ploch a dále působí při převodu žvýkacích sil. Při onemocnění čelistního kloubu v oblasti disku (roztržení, dislokace) je velmi důležitá správná diagnóza, která je rozhodující pro stanovení léčebného procesu. Ne vždy je třeba řešit onemocnění čelistního disku operativně. Ke správné diagnóze lze s výhodou využít moderní zobrazovací metody. Vzhledem k tomu, že disk čelistního kloubu je měkká tkáň, nabízí se použití magnetické rezonance. Možnost zobrazit měkké tkáně čelistního kloubu a vytvořit jejich 3D model přináší značný pokrok a výraznou pomoc lékařům i pacientům. Prvním problémem, který komplikuje zobrazení disku čelistního kloubu magnetickou rezonancí, je jeho velikost. Tkáň připomíná tvarem skutečně disk s průměrem kolem 1 cm a výškou několika málo milimetrů. Z toho vyplývá, že při použití standardní tomografie lidské hlavy je disk na MR snímku reprezentovaný jen několika málo obrazovými body. Druhým problémem je malý kontrast mezi oblastí kloubního disku a tvrdých tkání v jeho okolí. Vše nasvědčuje tomu, že použití tradičních segmentačních metod pro ohraničení kloubního disku by bylo komplikovanou záležitostí s nejistým výsledkem. Obr. 14 ukazuje detailní oblasti v šesti řezech s viditelným kloubním diskem. Na obr. 15 jsou výsledky segmentace. Navržené parametry segmentace jsou shrnuty v tab. 3.

a) b) c)

Obr. 14 Vybrané řezy MR snímků hlavy v oblasti čelistního kloubu, a) - c) vybrané 3 řezy čelistním kloubem.



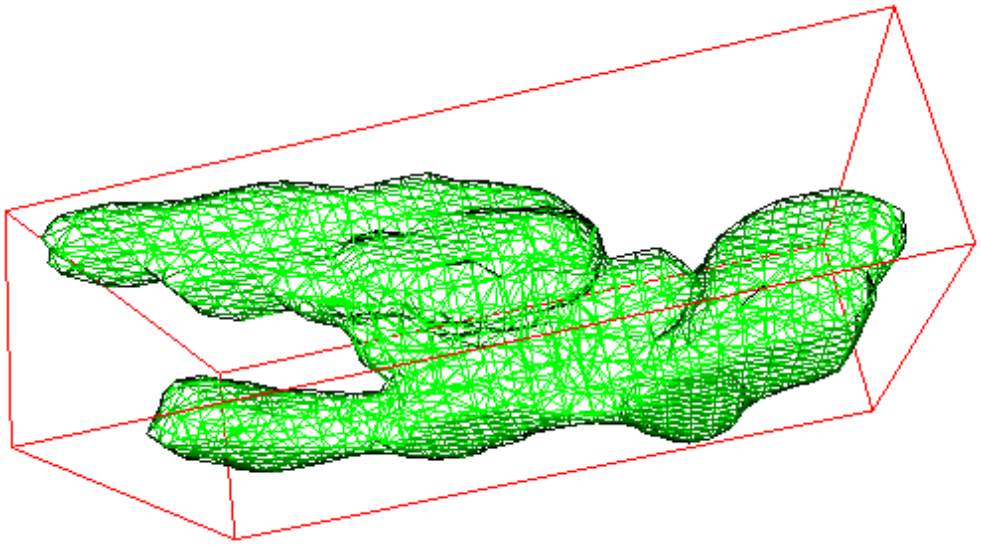
a) b) c)

Obr. 15 Výsledek segmentace čelistního kloubu v šesti vybraných řezech, a) - c) vybrané 3 řezy čelistním kloubem.

Tab. 3 Navržené parametry segmentace obrazů disku čelistního kloubu

Matematický model segmentační metody	$\frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{d}t} = g\left(\lvert\nabla I\rvert\right)\mathrm{div}\left(\frac{\nabla\phi}{\lvert\nabla\phi\rvert}\right) + \alpha g\left(\lvert\nabla I\rvert\right)\lvert\nabla\phi\rvert + \nabla g\cdot\nabla\phi$, $g = \frac{1}{1+\lvert\nabla G_\sigma * I\rvert^2}$
Iterační krok dt	10
Koeficient směru a rychlosti rozpínání α	-1,5
Koeficient vyhlazení Diracovy funkce ε	0,1
Směrodatná odchylka jádra Gaussova filtru σ	0,01
Velikost masky Gaussova filtru	5
Počáteční tvar LS funkce	$\Phi = \begin{cases} 4 & \text{pro oblast vně manuálně zadané křivky,} \\ -4 & \text{pro oblast uvnitř manuálně zadané křivky} \end{cases}$
Průměrný počet iterací	500

Z jednotlivých segmentů lze rekonstruovat odhad původního trojrozměrného tvaru kloubního disku. Kvalita rekonstruovaného objektu je však vzhledem k malému počtu řezů s viditelným diskem velmi nízká. Při trojrozměrném vyhlazení kloubního disku je nutné nalézt vhodný kompromis tak, aby nebylo znatelné vzorkování obrazu (tloušťka řezu) a zároveň se zachovaly detaily objektu v co největší míře. Trojrozměrný model disku čelistního kloubu je zobrazen na obr. 16 (síťový model).

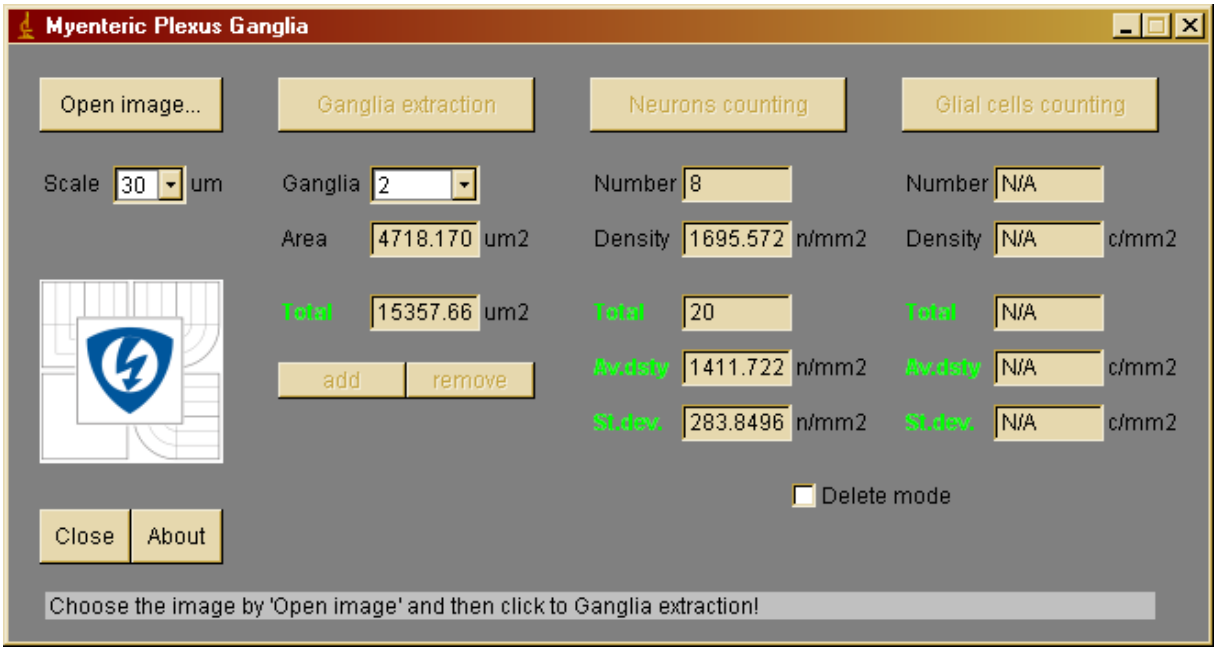


Obr. 16 Trojrozměrný síťový model disku čelistního kloubu vytvořený z 6 segmentovaných řezů.

5.2 AUTOMATICKÉ POČÍTÁNÍ BUNĚK

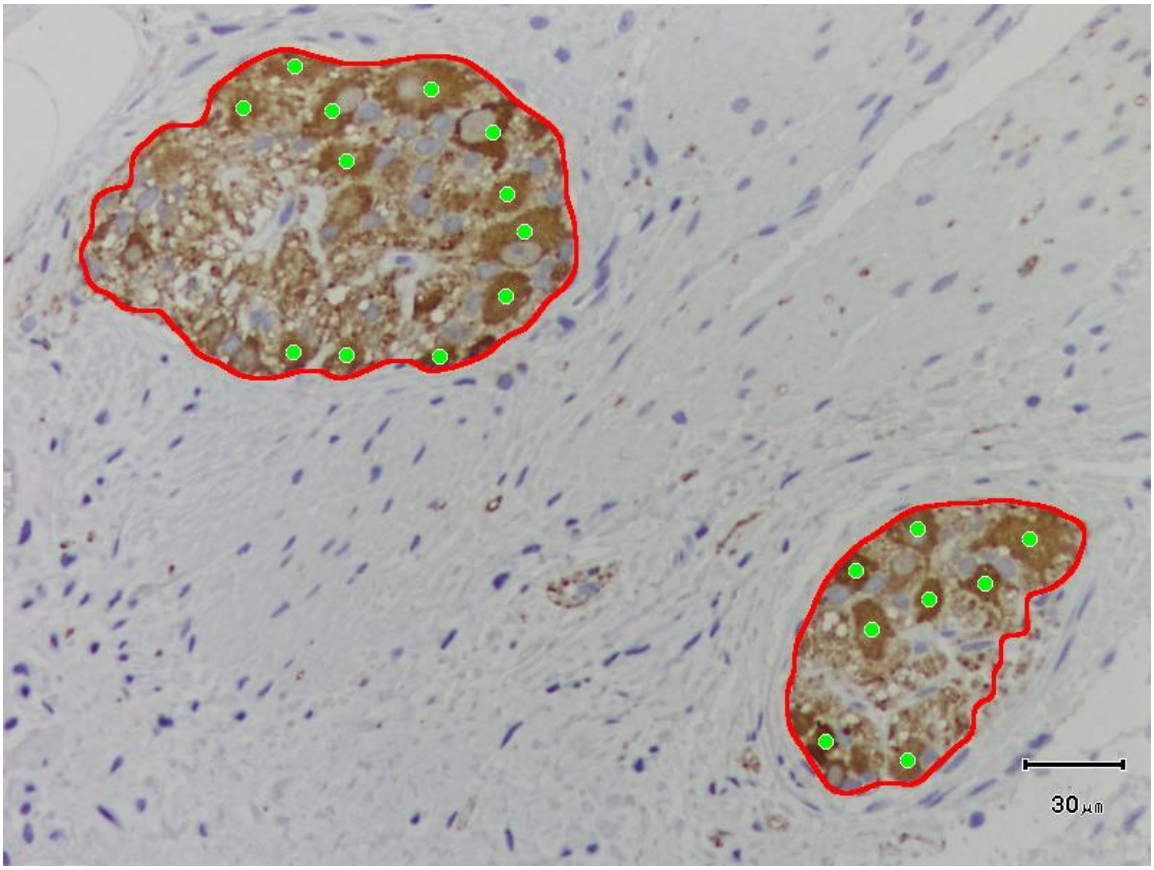
Cílem výzkumu v oblasti automatického počítání buněk v mikroskopických obrazech bylo navrhnout a implementovat algoritmus pro snadné a rychlé vyhledání buněčných jader, popř. neuronů v obsáhlé databázi obrazů získaných pro výzkum divertikulární choroby. Navržený algoritmus byl implementován v otevřeném prostředí ImageJ, které umožňuje velmi efektivní vytváření zásuvných modulů v jazyce Java. Nabízí velmi rychlé zpracování obrazů velkým množstvím integrovaných funkcí. Vyvinutá aplikace znamená velký přínos ve výzkumu divertikulární choroby a je využívána lékaři v Hospital de Mataró pro zpracování objemných databází pořízených mikroskopických

obrazů. Pro prostředí ImageJ byly vytvořeny dva plug-in moduly. Okno vybraného plug-in modulu pro zpracování mikroskopických obrazů nervových uzlin střevní stěny lze vidět na obr. 17. Modul umožňuje ohraničení uzliny, určení počtu neuronů a buněčných jader nervové tkáně a to zvlášť pro každou nalezenou uzlinu včetně určení hustoty na základě výpočtu plochy nalezené uzliny. Okno aplikace slouží pro ovládání zpracování obrazů, ale také pro vyhodnocení výsledků. Tlačítkem *Open image* se otevře dialog pro výběr mikroskopického obrazu, který má být předmětem zpracování. Tlačítkem *Ganglia extraction* se spustí algoritmus pro automatické vyhledání a ohraničení nervových uzlin. Po skončení se v roletce *Ganglia* objeví počet nalezených nervových uzlin, které je možné vybrat. Zvolením pořadového čísla nalezené uzliny, se v textovém poli *Area* objeví její plocha v μm^2. Vzhledem k velmi odlišným vlastnostem jednotlivých obrazů nervových uzlin není vždy zaručeno ohraničení celé uzliny. Plug-in modul nabízí po automatickém ohraničení uzliny manuální úpravu nalezené hranice. Pomocí systému označování oblastí nabízeného aplikací ImageJ je možné tlačítky *add* a *remove* označené oblasti buď přidávat a označit je za nově nalezené nerovové uzliny, popř. upravovat již nalezené – zmenšovat, zvětšovat, popř. měnit topologii. V textovém poli *Total* pod tlačítkem *Ganglia extraction* je zobrazena sečtená celková plocha všech nalezených nervových uzlin v μm^2. Výběrem čísla nervové uzliny v roletce *Ganglia* se také mění obsah textového pole *Number* pod tlačítky *Neurons counting*, resp. *Glial cells counting*, které zobrazuje počet nalezených neuronů, resp. gliových buněk. Textová pole *Density* pak zobrazují přepočítanou hustotu počtu neuronů, resp. gliových buněk na vypočítanou plochu a to zvlášť pro jednotlivé nervové uzliny a dále průměrnou hodnotu hustoty na celkovou plochu všech nervových uzlin v obraze (textová pole *Av.dsty*) včetně směrodatné odchylky (textová pole *St.dev.*).

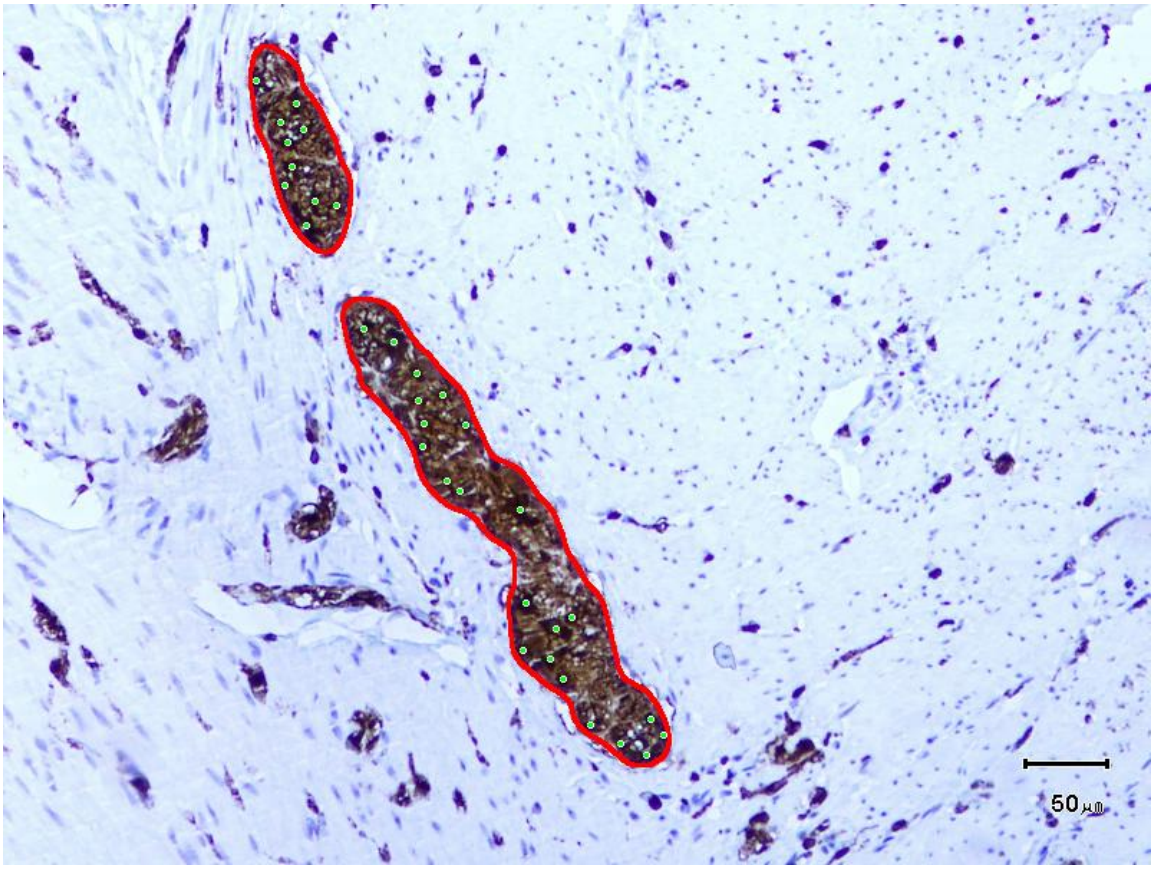


Obr. 17 Okno plug-in modulu pro zpracování mikroskopických obrazů nervových uzlin střevní stěny.

Kvalitu ohraničení a způsob vizualizace této části zpracování obrazů nervových uzlin je možné vidět na obr. 18. Nervová uzlina je ohraničená červenou křivkou. Neurony nalezené automaticky jsou označeny zelenými značkami. Aplikace umožňuje opravu automatického zpracování – odstranění nesprávně umístěných značek, popř. označení neuronů, které nebyly automaticky nalezeny. Manuální post-zpracování je umožněno myší pouhým klepnutím do místa neuronu. Aplikace rozpozná, jestli uživatel klepnul do místa, kde se nachází nervová uzlina. Pokud ne, tak značku nepřidá. Pokud ano, přidá značku a automaticky zvýší počet neuronů v dané uzlině a přepočítá vyhodnocovací tabulku se statistickými daty.



Obr. 18 Výsledek segmentace nervové uzliny ve vybraném mikroskopickém obraze s označením nalezených neuronů.



Obr. 19 Výsledek segmentace nervových uzlin ve vybraném mikroskopickém obraze s označením nalezených gliových buněk.

6 ZÁVĚR

Příspěvkem disertační práce v oblasti metod zpracování obrazů jsou tři vytyčené a splněné cíle:

- návrh metody pro zpracování MR obrazů s důrazem na segmentaci měkkých i tvrdých tkání,
- návrh metody pro kvantitativní vyhodnocení parametrů snímaných objektů,
- návrh metody pro automatické zpracování obrazů s eliptickými objekty (buňkami) s důrazem na segmentaci a rozpoznání objektů.

Prvním cílem disertace byl návrh metody pro segmentaci oblastí měkkých i tvrdých tkání v MR obrazech. Byla navržena segmentační metoda založená na principu aktivních kontur. Návrh spočíval ve volbě vhodného matematického modelu a nalezení vhodných parametrů pro konkrétní aplikaci.

Druhým cílem disertace byl návrh metody pro vyhodnocení kvantitativních parametrů při zpracování MR obrazů. Byla navržena metoda pro určení vhodného segmentačního prahu. Metoda spočívá v heuristickém vyhledání takové úrovně segmentačního prahu, pro kterou se určená hodnota známého parametru referenčního objektu co nejvíce blíží její skutečné hodnotě. Navrženou metodou lze při znalosti následujících parametrů referenčního objektu určit vhodný segmentační práh: vzdálenost dvou bodů v obraze, obvod oblasti libovolného tvaru, průměr/poloměr kulaté oblasti, vzdálenost dvou přímek, obsah oblasti ve 2D obraze a objem oblasti ve 3D obraze.

Třetím cílem disertace byl návrh metod pro zpracování mikroskopických obrazů. Byly navrženy metody pro zpracování obrazů vnitřní cirkulární a vnější longitudinální vrstvy a pro zpracování obrazů nervových uzlin střevní stěny.

Cíle disertační práce byly splněny. První fází doktorské vědecko-výzkumné činnosti byl návrh metod pro zpracování obrazů s důrazem na segmentaci měkkých i tvrdých tkání s přihlédnutím k často nepříznivým vlastnostem obrazů (nízký kontrast, malé rozlišení). V druhé fázi byly navržené metodiky využity v konkrétních aplikacích a mnohdy jsou úspěšně využívány v lékařské praxi. Současné diagnostické metody byly obohaceny aplikacemi navržených metod umožňující zobrazit vybrané tkáně, popř. vytvořit jejich 3D model, statistické zpracování objemných databází obrazů s možností klasifikace a dalšího zpracování. Konkrétně aplikací segmentačních metod ve zpracování MR obrazů v oblasti čelistního kloubu, tumorů jater a mikroskopických obrazů ve výzkumu divertikulárních chorob došlo ke značnému pokroku a výrazné pomoci lékařům, v důsledku toho i pacientům.

Budoucí vědecko-výzkumná práce bude zaměřena na optimalizaci metod pro zpracování obrazů magnetické rezonance ve spojitosti s návrhem měřicích sekvencí MRI s cílem snížení obrazových artefaktů a zatížení obrazů šumem. Dalším očekávaným směrem je návrh metod pro vyhodnocení parametrů měkkých tkání s následnou klasifikací ve váhovaných MR obrazech.

Uvedené metody a aplikace byly navrženy při řešení výzkumných projektů v rámci Grantové agentury České republiky, Výzkumného záměru MŠMT, spoluprací s Fakultní nemocnicí Brno, zahraniční spoluprací s Institut Supérieur d'Electronique de Paris a Universitat Politècnica de Catalunya a Hospital de Mataró.

Výsledky disertační práce byly publikované na mezinárodních konferencích [48, 49, 51, 52, 53, 54, 56] a v odborných a vědeckých časopisech [47, 48, 55, 57].

7 POUŽITÁ LITERATURA

[1] JAN, J. *Medical image processing, Reconstruction and Restoration: concepts and methods*. USA: CRC Press, 2006. ISBN 0-8247-5849-8.

[2] SEMMLOW, J. L. *Biosignal and Medical Image Processing*. USA: CRC Press, 2008. ISBN 978-1420062304.

[3] ADALI, T., CALHOUN, V., D. Complex ICA of Brain Imaging Data. *IEEE Signal Processing Magazine*, 2007, roč. 24, č. 5, s. 136-139. ISSN 1053-5888.

[4] MIKULKA, J. Parciální diferenciální rovnice ve zpracování obrazu. *Elektrorevue - Internetový časopis (http://www.elektrorevue.cz).* roč. 2008. s. 1 – 12. ISSN 1213-1539.

[5] FUKUNAGA, K. *Introduction to Statistical Pattern Recognition*. Elsevier. ISBN 0122698517.

[6] KASSNER, A., THORNHILL, R. E. Texture Analysis: A Review of Neurologic MR Imaging Applications. *Neuroradiol Journal*, roč. 2010, č. 31, s. 809-16.

[7] PHAM, D. L., PRINCE, J. L. Robust Unsupervised Tissue Classification in MR Images. *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*: Nano to Macro, 2004, roč. 1, s. 109-112.

[8] BAZILLE, A., GUTTMAN, M., McVEIGH, E., ZERHOUNI, E. Impact of Semiautomated versus Manual Image Segmentation Errors on Myocardial Strain Calculation by Magnetic Resonance Tagging. *Invest Radiol*. vol. 29, no. 4, s. 427 – 433.

[9] PHAM, D., XU, C., Prince, J. Current Methods in Medical Image Segmentation. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2000 August, vol. 2, s. 315-337.

[10] FALCÃOA, A. X., UDUPAA, J. K., SAMARASEKERAA, S., SHARMAA, S., HIRSCHB, B. E., LOTUFOC, R. A. User-Steered Image Segmentation Paradigms: Live Wire and Live Lane. *Graphical Models and Image Processing*, vol. 60, no. 4, s. 233-260.

[11] WU, Y., HEA, Y, CAIA, H. Optimal threshold selection algorithm in edge detection based on wavelet transform. *Image and Vision Computing*. vol. 23, no. 13, s. 1159-1169.

[12] PENG-YENG, Y. Maximum entropy-based optimal threshold selection using deterministic reinforcement learning with controlled randomization. *Journal Signal Processing*. vol. 82, no. 7.

[13] COLEMAN, G. B., ANDREWS, H. C. Image Segmentation by Clustering. *Proc. IEEE*, vol. 67, no. 5, s. 773-785.

[14] LI, S. Z. *Markov Random Field Modeling in Computer Vision*. National Laboratory of Pattern Recognition, Institute of Automation, Chinese Academy of Science, 2001.

[15] MARROQUIN, J. L., SANTANA, A., BOTELLO, S. Hidden Markov Measure Field Models for Image Segmentation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Inteligence*, vol. 25, no. 11.

[16] FU, K. S., MUI, J. K. A survey on image segmentation. *J. Pattern Recognition*. vol. 13, no. 1, 1981, s. 3-16.

[17] FUKADA, Y. Spatial Clustering Procedures for Region Analysis. *Pattern Recognition*, vol.12, s. 395-403.

[18] CHEN, P. C., PAVLIDIS, T. Image Segmentation as an Estimation Problem. *Computer Graphics and Image Processing*, vol. 12, no. 2, s. 153-172.

[19] GRAU, V. et al. Improved Watershed Transform for Medical Image Segmentation Using Prior Information. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 23, no. 4, 2004.

[20] HARIS, K., EFSTRATIADIS, N., Maglaveras N., Katsaggelos A.K. Hybrid Image Segmentation Using Watersheds and Fast Region Merging. *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 7, no. 12, 1998.

[21] PEDNEKAR, A., KAKADIARIS, I. A., KURKURE, U. Adaptive Fuzzy Connectedness-based Medical Image Segmentation. In: *Proceedings of the Indian Conference on Computer Vision, Graphics and Image Processing* (ICVGIP 02), Space Applications Centre (ISRO), Ahmedabad, India, December 2002.

[22] WISMÜLLER, A., VIETZE, F. et al. A Neural Network Approach to Adaptive Pattern Analysis - the Deformable Feature Map. In: *European Symposium on Artificial Neural Networks*, ESANN'2000, Bruges, Belgium, April 2000, s. 189-194.

[23] BANKMAN, I. N. *Handbook of Medical Imaging: Processing and Analysis*. Academic Press, San Diego, CA, USA, 2000.

[24] COOTES, T. F., EDWARDS, G. J., TAYLOR, C. J. Active Appearance Models. In: *Proceedings of European Conference on Computer Vision*, 1998, vol. 2, Springer, 1998, s. 484-498.

[25] AUBERT, G., KORNPROBST, P. *Mathematical problems in image processing : Partial differential equations and the calculus of variations*. 2nd edition. New York : Springer Science + Business Media, LLC, 2006, ISBN 0-387-32200-0.

[26] OSHER, S., FEDKIW, R. *Level Set Method and Dynamic Implicit Surfaces*. New York: Springer-Verlag New York, Inc., 2003, ISBN 0-387-95481-1.

[27] AYED, I. B., MITICHE, A. A Region Merging Prior for Variational Level Set Image Segmentation. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2008, vol. 17, no. 12, s. 2301-2311, ISSN 1057-7149.

[28] DAROLTI, C., BODENSTEINER, Ch., HOFMANN, U. G. Local Region Descriptors for Active Contours Evolution. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2008, vol. 17, no. 2, s. 2275-2288, ISSN 1057-7149.

[29] LI, Ch., XU, Ch., GUI, Ch., FOX, M., D. Level set evolution without re-initialization: A new variational formulation. In *Proceedings of the 2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition CVPR'05*. San Diego (USA): IEEE Computer Society Washington, DC, USA, 2005, s. 430-436, ISBN 0-7695-2372-2.

[30] OSHER, S., SETHIAN, J., A. Fronts propagation with curvature-dependent speed: algorithms based on Hamilton-Jacobi formulations. *Journal of Computational Physics*. 1988, vol. 79, s. 12-49, ISSN 0021-9991.

[31] VESE, L. A., CHAN, T. F. A multiphase level set framework for image segmentation using the Mumford and Shah Model. *International Journal of Computer Vision*. 2002, vol. 50, no. 3, s. 271-293, ISSN 0920-5691.

[32] LI, Ch., KAO, CH., GORE, J. C., DING, Z. Minimization of Region-Scalable Fitting Energy for Image Segmentation. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2008, vol. 17, no. 10, s. 1940-1949, ISSN 1057-7149.

[33] LANKTON, S., TANNENBAUM, A. Localizing Region-Based Active Contours. *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 17, no. 11, s. 2029-2039. ISSN 1057-7149.

[34] SHI, Y., KARL, W., C. A Real-Time Algorithm for the Approximation of Level-Set-Based Curve Evolution. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2008, vol. 17, no. 5, s. 645-655, ISSN 1057-7149.

[35] Insight software consortium. *Insight into Images : Principles and Practice for Segmentation, Registration, and Image Analysis (Hardcover)*. Terry S. Yoo. Wellesey : A K Peters, Ltd., 2004, ISBN 1568812175.

[36] CHAN, T. F., SHEN, J. *Image processing and analysis : Variational, PDE, wavelets and stochastic methods*. Philadelphia : Society for Industrial and Applied Mathematics, 2005, ISBN 0-89871-589-X.

[37] XU, C., YEZZI, A., PRINCE, J. On the Relationship between Parametric and Geometric Active Contours. In: *Proc. of 34th Asilomar Conference on Signals, Systems, and Computers*, s. 483-489, October 2000.

[38] TSAI, A., YEZZI, A., WELLS, W., TEMPANY, C., TUCKER, D., FAN, A., GRIMSON, W. E., WILLSKY, A. A shape-based approach to the segmentation of medical imagery using level sets. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 2003, vol. 22, no. 2, s. 137-154, ISSN 0278-0062.

[39] ZACK, G. W., ROGERS, W. E., LATT, S. A. Automatic measurement of sister chromatid exchange frequency, *J. Histochem. Cytochem*. 1997, vol. 25, no. 7, s. 741-53.

[40] MARSOUSI, M., ALIREZAIE, J., AHMADIAN, A., KOCHARIAN, A. Segmenting echocardiography images using B-Spline snake and active ellipse model. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2010, s. 3125-8.

[41] KONG, T. Y., AZRIEL, R., *Topological Algorithms for Digital Image Processing*, Elsevier Science, Inc., 1996.

[42] ZHANG, T. Y, SUEN, C. Y. A fast parallel algorithm for thinning digital patterns. *Magazine Communications of the ACM*, vol. 27, no. 3, March 1984.

[43] BELYAEV, A., YOSHIZAWA, S. On Evolute Cusps and Skeleton Bifurcations. In: *Proceedings of the International Conference on Shape Modeling and Applications (SMI'01)*. 2001, s. 134, ISBN 0-7695-0853-7.

[44] FITZGIGGON, A. W., PILU, M., FISHER, R. B. Direct least-squares fitting of ellipses. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 21, no. 5, May 1999, s. 476-480.

[45] STOJMENOVIC, M. NAYAK, A. Direct Ellipse Fitting and Measuring Based on Shape Boundaries. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, PSIVT 2007, s. 221-235.

[46] MULCHRONE, K. F., CHOUDHURY, K. R., Fitting an ellipse to an arbitrary shape: implications for strain analysis. *Journal of Structural Geology*, vol. 26, no. 1, January 2004, s. 143-153.

[47] MIKULKA, J. Segmentace vrstev sítnice v obrazech optické koherentní tomografie. *Elektrorevue - Internetový časopis* (http://www.elektrorevue.cz), roč. 2008, č. 38, s. 1-5, ISSN 1213-1539.

[48] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E. Segmentation of NMR image in temporomandibular joint region. In: *31th International Conference on Telecommunications and Signal Processing - TSP' 2008*. Budapest: Asszisztencia Szervezo Kft., 2008. s. 14-17, ISBN 978-963-06-5487-6.

[49] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. Segmentation of NMR slices and 3D modeling of temporomandibular joint. In *Progress in Electromagnetic Research Symposium. Progress In Electromagnetics*. Cambridge: The Electromagnetic Academy, 2009. s. 165-169, ISSN 1559-9450.

[50] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. Extraction of mandibular disc in MR images. In *IMAPS CS International Conference 2009*. Brno: NOVPRESS s.r.o., Brno, Nám. Republiky 15, 2009. s. 90-93, ISBN 978-80-214-3933-7.

[51] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. SMÉKAL, Z. Processing of MR slices of temporomandibular disc for 3D visualization. In: *PIERS 2010 in Xi' an Proceedings*. 2010. s. 213-215, ISBN 978-1-934142-12-7.

[52] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. Processing of MR slices of human liver for volumetry. In: *PIERS 2010 in Xi'an Proceedings*. 2010. s. 202-204, ISBN 978-1-934142-12-7.

[53] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K., FIALA, P. Reconstruction of Tumors in Human Livers by Magnetic Resonance Imaging. In: *PIERS in Marrakesh Proceedings*. 2011. s. 1160-1162, ISBN 978-1-934142-16-5.

[54] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. Wavelet filtering and level set segmentation of NMR images for monitoring the development of growing cultures. In: *Progress in Electromagnetic Research Symposium*. Cambridge, USA, The Electromagnetic Academy, 2009. s. 1071-1074, ISBN 978-1-934142-08-0.

[55] MIKULKA, J., BARTUŠEK, K., GESCHEIDTOVÁ, E. Use of MR Tomography in Studying Biological Tissues. *Elektrorevue - Internetový časopis* (http://www.elektrorevue.cz), roč. 2010, č. 1, s. 1-6, ISSN 1213-1539.

[56] MIKULKA, J., GESCHEIDTOVÁ, E., BARTUŠEK, K. Perimeter measurement of spruce needles profile using MRI. In: *Progress in Elekctromagnetic Research Symposium*. Cambridge, USA, The Electromagnetic Academy, 2009. s. 1075-1078, ISBN 978-1-934142-08- 0.

[57] MIKULKA, J. ImageJ Plug-ins for microscopic image processing. In: *34th International Conference on Telecommunications and Signal Processing - TSP' 2011*. V oponentním řízení.

ABSTRAKT

Disertační práce pojednává o moderních metodách a přístupech ke zpracování obrazů, konkrétně k jejich segmentaci, klasifikaci a vyhodnocování parametrů. Jedná se především o zpracování medicínských snímků měkkých tkání pořízených metodou magnetické rezonance (MR) a dále mikroskopických obrazů tkání. Ze segmentovaných obrazů lze jednoduše popsat hranice hledaných objektů. Tyto nalezené hranice mohou sloužit k dalšímu zpracování jako výpočet obvodů, obsahů, povrchů, objemů nebo dokonce k trojrozměrné rekonstrukci zobrazovaného objektu. Popsaná navržená řešení lze použít pro klasifikaci zdravých či postižených tkání snímaných metodami MR či jinými. V disertační práci jsou uvedeny příklady aplikací, ve kterých byly navržené segmentační metody použity. V oblasti segmentace obrazů se práce zaměřuje na metody založené na řešení parciálních diferenciálních rovnic. Jedná se o moderní přístupy zpracování obrazů, zvané též aktivní kontury. Tento přístup ke zpracování obrazů je velmi výhodný u segmentace reálného obrazu, který je zatížený šumem, má neostré hrany a přechody mezi objekty. Výsledkem disertační práce jsou navržené metody pro automatickou segmentaci obrazů a klasifikaci objektů.

ABSTRACT

The PhD thesis deals with modern methods of image processing, especially image segmentation, classification and evaluation of parameters. It is focused primarily on processing medical images of soft tissues obtained by magnetic resonance tomography (MR) and microscopic images of tissues. It is easy to describe edges of the sought objects using of segmented images. The edges found can be useful for further processing of monitored object such as calculating the perimeter, surface and volume evaluation or even three-dimensional shape reconstruction. The proposed solutions can be used for the classification of healthy/unhealthy tissues in MR or other imaging. Application examples of the proposed segmentation methods are shown in this thesis. Research in the area of image segmentation is focused on methods based on solving partial differential equations. This is a modern method for image processing, often called the active contour method. It is of great advantage in the segmentation of real images degraded by noise with fuzzy edges and transitions between objects. The results of the thesis are methods proposed for automatic image segmentation and classification.