

Detektion und berandungsgenaue Segmentierung von Erythrozyten

Sebastian Mues-Hinterwaller, Heiko Kuziela, Matthias Grobe
und Thomas Wittenberg

Fraunhofer Institut für Integrierte Schaltungen (IIS),
Am Wolfsmantel 33, 91058 Erlangen
Email: {mueshisn|kzl|wbg}@iis.fraunhofer.de

Zusammenfassung. Dieser Beitrag soll einen Lösungsweg zur Detektion und berandungsgenaue Segmentierung von Erythrozyten (rote Blutkörperchen) liefern, die im mikroskopischen Durchlichtverfahren aufgenommen werden. Eine anschließende morphologische Untersuchung der segmentierten Erythrozyten soll Rückschlüsse auf eine vorliegende pathologische Veränderung zulassen. Weiterhin soll über die Anzahl von Erythrozyten in Bildausschnitten der Dichtegradient über den gesamten Objektträger bestimmt werden. Der Dichtegradient ist Maß für die Bestimmung eines validen Sektors auf dem jeweiligen Objektträger. Das zu untersuchende Bildmaterial wurde nach dem panoptischen Verfahren eingefärbt. Durch die hier vorgestellte Methode können sowohl einzelne Erythrozyten segmentiert, als auch häufig vorkommende Erythrozyten-Cluster in Hinblick auf die genaue Berandung erfolgreich getrennt werden.

1 Problemstellung

Im Rahmen des Forschungsprojektes HemaCAM soll ein System erstellt werden, das in der Lage ist, das sog. Differentialblutbild automatisch aus mikroskopisch aufgenommenen Bildern zu erstellen und daraus einen Diagnosevorschlag abzuleiten [1]. Beim Differentialblutbild werden die weißen Blutkörperchen („Leukozyten“) des menschlichen Blutes nach ihren Unterarten und Häufigkeiten gezählt. Die unterschiedliche Verteilung der einzelnen Leukozytenarten erlaubt dem behandelnden Arzt Rückschlüsse auf evtl. Ursachen von Krankheiten und lässt sowohl Diagnose als auch Therapiemöglichkeiten erkennen. Zusätzliche diagnostische Informationen über das Blutbild lassen sich aus der Erkennung und dem Auszählen der roten Blutkörperchen („Erythrozyten“) ableiten. Zum einen lässt sich durch eine bildgestützte Auszählung der Erythrozyten der sog. „Dichtegradient“ erstellen, von dem wiederum ablesbar ist, ob sich der betrachtete Bildausschnitt in einem validen Sektor des Objektträgers befindet. Zum anderen lassen sich aus der Morphologie von Erythrozyten bzw. deren pathologischer Veränderung Rückschlüsse auf unterschiedliche Krankheitsbilder ziehen. Das Problem bei der automatischen Segmentierung und Zählung von roten Blutzellen liegt in der Art und Weise der Zellanlagerungen, die sich während des

Ausstriches auf dem Objektträger ergeben. So finden sich i.d.R. Zellhaufen (sog. *Cluster*) aus zusammengelagerten und verketteten Einzelzellen, die für eine weitere Verarbeitung in einzelne Zelleinheiten aufgeteilt werden müssen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen entsprechende Verfahren zur Lokalisation, Zählung und berandungsgenauen Segmentierung von roten Blutkörperchen vorgestellt werden.

2 Stand der Forschung

In der Literatur lassen sich aktuell nur Verfahren finden, die die automatische Segmentierung und Trennung von roten Blutkörperchen unzureichend für den praktischen Einsatz bewerkstelligen. Ein Teil der beschriebenen Verfahren konzentriert sich ausschließlich auf die Segmentierung vereinzelt liegender Erythrozyten. Andere Verfahren sind zwar in der Lage, Überlagerungen zu erkennen, schließen diese Cluster aber aus weiteren Untersuchungen aus [2, 3]. Da sich Erythrozyten aufgrund ihrer bikonkaven und sich funktionsbedingt ändernden Form nicht homogen vom Hintergrund abheben, lassen sich bekannte Methoden wie z.B. die morphologische Filterung und Segmentierung von gefärbten und sich überlagernden Zellen nicht ohne größere Modifikation verwenden [4]. Swolin et al. haben 2003 in einer Studie ein automatisches System zur Erstellung eines Differenzialblutbildes aus mikroskopischen Ansichten evaluiert („Diffmaster Octavia“) [5]. Diese Arbeit beschreibt jedoch in keiner Weise die Evaluierungsergebnisse des roten Blutbildes und die daraus resultierenden Diagnosen. Wir gehen daher davon aus, dass dieses System die oben genannten Informationsmöglichkeiten hinsichtlich Erythrozyten vernachlässigt.

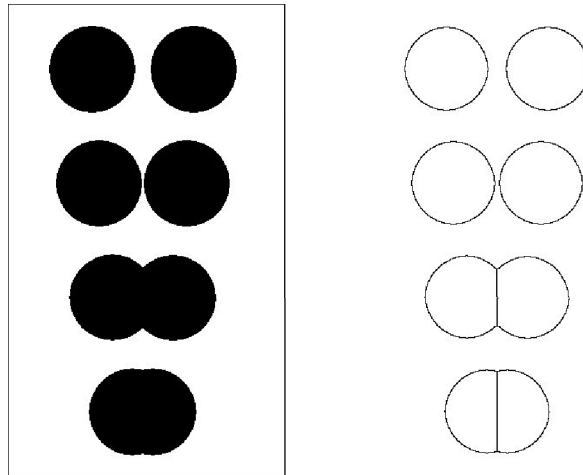
3 Wesentlicher Fortschritt durch den Beitrag

Ein wesentlicher Gewinn der vorgestellten Methode zur Lokalisation und Segmentierung von Erythrozyten besteht in der Möglichkeit, Zellcluster und Zellhaufen in die Bildbestandteile der Zellen zu zerlegen. Die Trennung der Zellhaufen in Einzelzellen ermöglicht eine relativ genaue Zählung der Erythrozyten im Bildausschnitt. Das Verfahren stellt daher ein leistungsfähiges Werkzeug zur Ermittlung des Dichtegradienten zur Verfügung, und erlaubt somit eine Entscheidung über die Validität eines Bildausschnittes auf dem Objektträger. Die exakte Repräsentation der äußeren Objektkonturen durch den Freeman-Code erlaubt außerdem eine mögliche nachfolgende computergestützte Analyse und Klassifikation der Erythrozyten.

4 Methoden

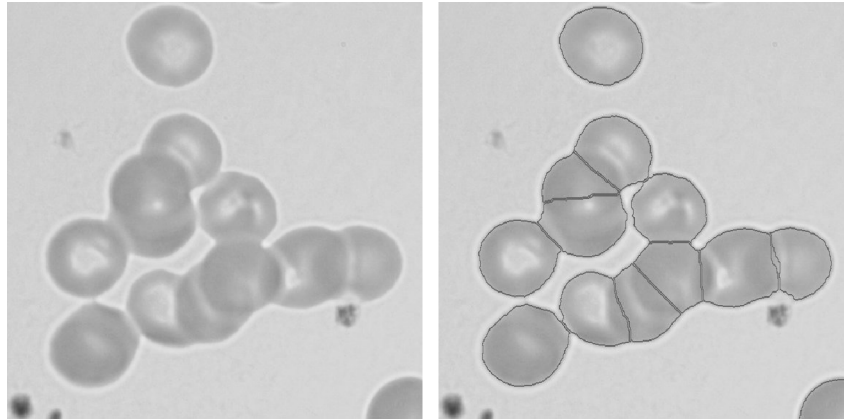
Vorbild bei der Entwicklung des Segmentierungsalgorithmus ist die humane Bildwahrnehmung, die die Fähigkeiten der Mustererkennung und der Identifikation

Abb. 1. Evaluierung mittels synthetischer Bilder. (a) Synthetisch erzeugtes Bild. (b) Segmentiertes synthetisches Bild.



von Objekten zur Verfügung stellt. Die moderne Bildanalyse kennt schon seit einigen Jahren Methoden, um Vorgänge im menschlichen Auge nachzubilden [6, 7]. Die Vorverarbeitung der Bilddaten mit dem Kuwahara-Filter simuliert retinale rezeptive Felder zur kantenerhaltenden Bildglättung. Der Einsatz eines neuronalen Netzwerkes auf Pixelebene ermöglicht eine Aufteilung des Bildausschnittes in Hintergrund und Erythrozyten und resultiert in einer initialen binären Segmentierung der Erythrozyten. Ein adaptives binäres Schwellwertverfahren reduziert anschließend fehlsegmentierte Einzelpixel bei gleichzeitiger Erhaltung der Zellkanten. Eine Distanztransformation des initialen Binärbildes liefert Hypothesen für Zellmittelpunkte, die nachfolgend als Saatpunkte für eine Wasserscheiden-Transformation verwendet werden. Durch die Wasserscheiden-Transformation wird eine Trennung einzelner, sich überlappender Erythrozyten erreicht [8, 9]. Zudem wird eine Übersegmentierung der Zellhaufen durch die zuvor eingesetzten Saatpunkte vermieden. Eine Untersegmentierung wird durch Analyse der entstandenen Randkontur unterdrückt. Dieser Verarbeitungsschritt nutzt die Beschreibung einer Objektkontur durch den Freeman- bzw. Kettencode [10]. Diese Analyse geschieht durch Approximation einer Sinus- bzw. Kosinusfunktion mit einer durch den Freeman-Code erzeugten diskreten Funktion [11]. Die Schnittpunkte der approximierten Funktionen sind diejenigen Konturpunkte, welche die Berührungspunkte der Zellen untereinander darstellen. Diese Konturbeschreibung der segmentierten Erythrozyten lässt eine mögliche Klassifikation aufgrund der Zellmorphologie in nachfolgenden Prozessen zu.

Abb. 2. Mikroskopisches Bild. (a) Rohbild. (b) Segmentiertes Ergebnisbild



5 Ergebnisse

Das vorgestellte Verfahren zur Lokalisation, Segmentierung und Zählung roter Blutkörperchen wird aktuell anhand einer großen Charge mikroskopischer Bildern evaluiert und mit einer Handmarkierung aller relevanten Erythrozyten als unabhängigen Goldstandard verglichen. Die Ergebnisse dieser objektiven Evaluierung des Verfahrens stehen aufgrund des hohen Segmentierungsaufwandes für den Goldstandard noch aus. Zum aktuellen Zeitpunkt lässt sich schon festhalten, dass die vorgestellte Methode stabile und reproduzierbare Ergebnisse bei Objektträgern der selben Charge – d.h. bei einheitlicher Präparation – liefert. Es besteht zudem eine Robustheit gegenüber leichten Varianzen der verwendeten panoptischen Färbung. Ketten von Erythrozyten werden ebenso zuverlässig und reproduzierbar segmentiert wie freiliegende Erythrozyten.

Zur Demonstration der Leistungsfähigkeit des Verfahrens vgl. Abbildungen 1 und 2.

6 Diskussion

Die bisher erzielten Ergebnisse lassen den Schluss zu, ein robustes Werkzeug zur automatischen Detektion, Segmentierung, Trennung von Zellclustern und Zählung von Erythrozyten vorgestellt zu haben. Die automatische Trennung von Zellketten ermöglicht eine stabile Ermittlung der exakten Zellzahl und lässt somit einen Rückschluss auf den Dichtegradienten der Bildausschnittes zu. Die exakte Konturbeschreibung der einzelnen Zellen durch den Kettencode lässt eine nachfolgende Befundung von pathogenen morphologischen Zellveränderungen zu.

Eine Erweiterung des vorgestellten Verfahrens für eine Zerteilung großer, klumpiger Erythrozytenhaufen unter zur Hilfenahme der Freeman-Funktion wird zurzeit entwickelt.

Literaturverzeichnis

1. Kuziela H, Pouwels C, Luthe H, et al. Automatisches Differentialblutbild anhand digitalisierter mikroskopischer Aufnahmen. Biomedizinische Technik, Band 49, Ergänzungsband 2 2004.
2. Hengen H, Spoor S, Pandit M. Analysis of Blood and Bone Marrow Smears using Digital Image Processing Techniques. SPIE Medical Imaging 2002.
3. Wu K, Gauthier D, Levine M. Live Cell Image Segmentation. Center for Intelligent Machines, McGill University Montreal 1995;.
4. Grobe M, Volk H, Münzenmayer C, et al. Segmentierung von überlappenden Zellen in Fluoreszenz- und Durchlichtaufnahmen. Bildverarbeitung für die Medizin 2003.
5. Swolin B, Simonsson P, Backman S, et al. Differential counting of blood leukocytes using automated microscopy and a decision support system based an artificial neural networks - evaluation of DiffMaster Octavia. Blackwell Publishing Ltd Clin Lab Haem 2003;p. 139 – 147.
6. Mallot HPA. Sehen und die Verarbeitung visueller Information. Vieweg Verlag; 2000.
7. Dörrer R, Fischer J, Greiner W, et al. Ein lernendes System zur Zellbildanalyse. Institut für Physikalische Elektronik, Universität Stuttgart 1987.
8. Beucher S, Lantuejoul C. Use of Watersheds in contour detection. Int Workshop on Image Processing 1979;p. 2.1–2.12.
9. Bamford P, Lovell B. A Water immersion algorithm for cytological image segmentation. Proc of Segment 1996.
10. Freeman H. Analysis and Manipulation of linear map data. Academic Press 1980;p. 151–168.
11. Caesar T, Gloger JM, Mandler E. Preprocessing an feature extraction for handwriting recognition system. Int Conference on Document Analysis and Recognition 1993;p. 408–411.