

FUZIJA SLIKA VISOKE REZOLUCIJE DOBIJENIH DIGITALIZOVANIM MIKROSKOPOM SA MOTORIZOVANOM PLATFORMOM

Nenad Stepanić, Vojin Ćučuz, Dragi Dujković, *Elektrotehnički fakultet u Beogradu*

Nagrađeni rad mladog istraživača – komisija EK

Sadržaj – U radu je opisano jedno rešenje fuzije digitalnih mikroskopskih slika. Niz slika dobijenih digitalnim mikroskopom sa motorizovanim postoljem je kombinovan radi dobijanja jedne velike slike visoke rezolucije. Izlazna slika, budući da je znatno veća od vidnog polja mikroskopa, jeste jako pogodna za dalje ispitivanje.

1. UVOD

Trend u medicinskoj informatici poslednjih godina je da se u što većoj meri potrebni podaci prikažu, koriste, čuvaju i razmenjuju u digitalnoj formi. Prednosti digitalnih podataka su mnogostruke: automatizovana statistička obrada svih vrsta podataka, arhiviranje podataka, integracija svih podataka vezanih za pacijenta u jednu celinu (kompjuterizovani medicinski karton), postprocesiranje snimaka, arhiviranje i dearchiviranje podataka, rad na daljinu, kompletna informaciona podrška zdravstvenoj nezi pacijenta, pristup literaturi, itd.

Za posmatranje detalja uzoraka – preparata u patologiji, mikrobiologiji i citologiji tradicionalno se koriste klasični, optički mikroskopi. Osobine ovih mikroskopa su se malo menjale decenijama, jer su oni u većini slučajeva zadovoljavali potrebe korisnika. Međutim, novo doba nameće potrebu da se medicinska mikroskopija upotpuni mogućnostima koje klasični mikroskopi nemaju. Pri tom se prvenstveno misli na akviziciju, kompresiju, arhiviranje, postprocesiranje i razmenu mikroskopskih slika u digitalnoj formi. Sistemi koji daju digitalnu sliku (digitalni mikroskopi) postoje već dugo vremena, ali su prvenstveno zbog cene korišćeni u visokospecijalizovanim ustanovama i za posebne namene. Danas postoji mogućnost kvalitetne digitalizacije postojećih optičkih mikroskopa po relativno razumnoj ceni, zahvaljujući pre svega napretku razvoja CCD kamera i računarskih sistema.

Razvoj digitalizovane mikroskopije u medicini ide u dva pravca. Jedan je usavršavanje automatskog pomeranja posmatrača ili objekta uz kvalitetnu video podršku, tako da korisnik može u realnom vremenu naći regiju od interesa, napraviti snimke i posmatrati ih na monitoru. Ovaj pristup podrazumeva visokokvalitetne elektromehaničke, elektronske i optičke komponente, što konačno dovodi do velike cene ovakvih mikroskopskih sistema. Drugi pravac razvoja je snimanje velike površine posmatranog objekta u vidu niza slika standardne veličine, a zatim sinteza pojedinačnih snimaka u jednu sliku velikih dimenzija (do 1Gpixel), sa koje korisnik izdvaja regiju od interesa, dodatno obrađuje i arhivira. Ovde je akcenat na softveru, od koga se očekuje da sintetizuje što kvalitetniju sliku veoma velikih dimenzija, koja bi bila verodostojna predstava posmatranog preparata. Nesavršenosti optike i ostalih komponenti sistema se mogu kompenzovati digitalnom obradom pojedinačnih snimaka pre sinteze, dok je, s druge strane, potreban računar sa što većom procesorskom moći i raspoloživom memorijom.

Ovaj rad predstavlja prirodan nastavak rada kolege V.Ćučuza [1,2], koji je povezoao funkcije računarske kontrole pokretne platforme i akviziciju digitalizovane slike

mikroskopskog preparata. U ovom radu se koristi postojeći sistem digitalizovanog mikroskopa sa CCD kamerom i pokretnom platformom. Automatskim skeniranjem veće površine mikroskopskog preparata zaokružuju se funkcije digitalizovanog mikroskopa, tako što se korisniku omogućuje da snimi, arhivira i dodatno obrađuje sliku koja predstavlja veran prikaz površine preparata veće od vidnog polja optičkog mikroskopa.

Odgovarajući softver za razgledanje i obradu jednom uzete slike predstavlja za korisnika (lekara) svakako ugodnije okruženje za rad, posmatranje se može raditi više puta, od strane različitih korisnika, koji se mogu nalaziti praktično bilo gde na planeti.

Cilj ovog rada je sinteza digitalne slike visoke rezolucije sa veće površine mikroskopskog preparata, gde se pod većom površinom podrazumeva površina objekta veća od vidnog polja optičkog sistema (mikroskopa). Potrebno je stvoriti digitalnu sliku kao kompozit više snimaka uzetih kamerom sa različitih pozicija.

Opisani problem se na različite načine rešava u oblastima koje nemaju veze sa medicinom (astronomija, geografija, mašinstvo, mehanika fluida, industrija zabave, vojna industrija i drugi). Kod ovih značajno variraju osobine objekta koji se snima, uslovi pod kojima se pojedinačni snimci uzimaju, osobine snimaka, zahtevi za preprocesiranjem slike, zahtevi za kvalitetom rezultata, a naročito raspoloživi fondovi.

2. POSTUPAK SKENIRANJA MIKROSKOPSKOG PREPARATA

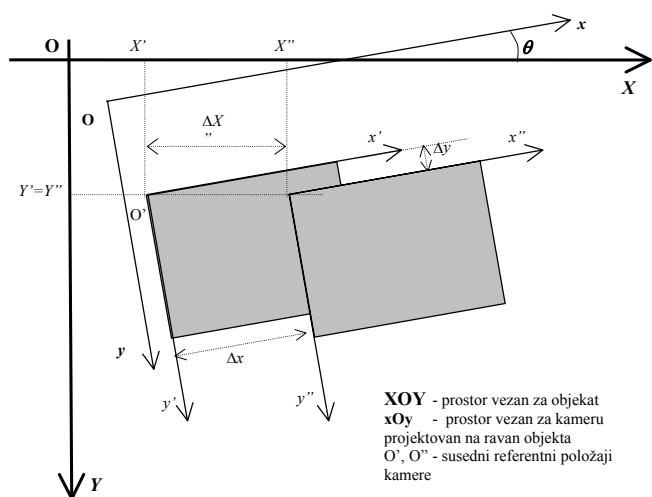
Promena pozicije posmatrača se menja kontrolisanim pokretanjem platforme u dva pravca (X i Y) na kojoj se nalazi mikroskopski preparat, dok je CCD kamera fiksirana na okularu optičkog mikroskopa. Komunikacija sa kontrolerom platforme ide preko RS232 serijskog porta, a rad sa kamerom se ostvaruje preko USB porta.

Pokazalo se da korišćeni optički mikroskop zadovoljava potrebe snimanja, jer su optička izobličenja neznatna, tako da nema potrebe da se akvirirana slika koriguje na sferna i druga izobličenja, tako da je problem čisto planaran [3,4]. Optička ravan posmatrača je paralelna sa ravni objekta (preparata), koji se nalazi na pokretnoj platformi i kreće se u dva pravca, tako da je pomeranje objekta ekvivalentno pomeranju kamere – posmatrača u ravni paralelnoj sa ravni objekta.

Pojedinačni snimci se uzimaju u pravougaoniku čije su stranice paralelne osama X i Y u prostoru pokretne platforme, u inkrementima ΔX i ΔY . Regiju od interesa i gustinu skeniranja korisnik definiše po svojoj potrebi. Informacija o poziciji objekta (vrednosti X i Y) se dobija sa dva inkrementalna enkodera montirana na platformi, i izražena je celobrojnim vrednostima, čiji inkrement odgovara jednom koraku step-motora u odgovarajućem smeru [1].

Kontroler pokretne platforme, međutim, ima grešku pozicioniranja koja se pri maksimalnom optičkom uvećanju

(40X) na susednim snimcima vidi kao greška od preko 10 piksela, što isključuje mogućnost direktne konkatencije susednih slajdova. Pored toga, pri montiranju kamere, ona može biti postavljena tako da je 2D koordinatni sistem vezan za kameru rotiran u odnosu na koordinatni sistem objekta, tako da su x i y ose koordinatnog sistema vezanog za kameru pomerene u odnosu na X i Y ose u prostoru objekta za neki mali ugao θ . Konačno, proces automatskog fokusiranja i zumiranja kod ovog sistema nije moguć (i radi se ručno), što dovodi do toga da optičko uvećanje varira oko nominalnih vrednosti (nominalne vrednosti su 1, 10, 20 i 40) i menja se svaki put kad se promeni sočivo, odnosno, pomeraj ΔX u prostoru objekta i pomeraj Δx u prostoru kamere jesu srazmerni, ali se ta srazmera menja sa svakim individualnim merenjem!



Sl.1. Model pokretanja vidnog polja kamere projektovan na ravan objekta

Na slici 1 je ilustrovan model pokretanja kamere za dva susedna snimka. Koordinate kamere su projektovane na ravan objekta. Vidno polje kamere, odnosno deo površine preparata koji pokriva jedan snimak, projektovano je na ravan objekta kao pravougaonik. Neka se posmatrač (kamera) pomerio iz referentne pozicije O' u O'' . Na poziciji O' uzet je snimak S' (vidno polje kamere označeno je pravougaonikom, veličina pravougaonika zavisi od optičkog uvećanja), zatim se posmatrač pomerio za ΔX u O'' i snimljen je S'' . Zbog rotacije kamere (greška u montiranju) u koordinatnom sistemu vezanom za posmatrača postoji pomeraj i po x i po y , Δx i Δy , tako da je $\operatorname{tg} \theta = \Delta y / \Delta x$.

Potrebno je za svaka dva susedna snimka izmeriti pomeraj u prostoru slike (izražen u pikselima) na osnovu poznatog pomeraja u laboratorijskom prostoru (pomeraj platforme) i otkloniti grešku. Da bi se takva merenja mogla ostvariti, potrebno je smanjiti rastojanja ΔX i ΔY , tako da svake dve susedne slike imaju veću oblast preklapanja, na osnovu koje treba naći **korelaciju** dve slike [4], odmeriti rastojanje koordinatnih sistema susednih slika, izraženo u pikselima, kao i ugao θ , a tek potom izvršiti konkatenciju. Posledice ovoga su povećanje broja snimaka po površini preparata i dosta veći utrošak računarskih resursa, jer uzimanje svakog snimka podrazumeva analizu najmanje dve susedne slike.

3. KALIBRACIJA

Da bi algoritam akvizicije mega-slike imao uspeha, potrebno je pre svake serije snimaka uraditi kalibraciju, gde se u nekoliko uzastopnih merenja utvrđuju vrednosti konstanti rezolucije (izražene u pikselima slike po koraku step-motora) i ugla između apscisa koordinatnih sistema kamere i platforme (θ). Sistem usnimi sliku, pomeri se za određen broj koraka step-motora po nekom pravcu (npr. 50 koraka po X za uvećanje 40), gde uzima drugi snimak, radi korelaciju dve slike i iz relativnog pomeraja koordinatnih sistema nalazi rezoluciju i ugao, izvrši fuziju dve slike i prikaže korisniku. Korisnik vizuelno proceni kvalitet rezultata, odluči da li je rezultat uspešan i ponavlja ciklus.

U ovoj proceduri korisnik može popraviti ugao θ , tako što sam rotira kameru u ležištu, i ponovi postupak dok ne dobije zadovoljavajući rezultat. S obzirom na to da se u postojećem sistemu kamera navija na okular optičkog mikroskopa, i da to korisnik radi ručno, razumno je da ugao θ može imati proizvoljnu vrednost. Za veliko θ neophodno bi bilo uraditi rotaciju svakog snimka pre fuzije, a kretanje posmatrača bi bilo složenije, tako da je poželjno da ugao θ bude što manji. Tolerancija ugla θ zavisi od broja snimaka u seriji i veličine preseka vidnih polja posmatrača u dva susedna položaja.

Obzirom na to da problem kalibracije mora biti rešen u razumnom vremenu, korišćen je metod brze korelacije [5,6], koji se pokazao kao dovoljno efikasno, brzo, štedljivo i robusno rešenje, tako da se može koristiti u finalnom skeniranju.

4. AUTOMATSKA AKVIZICIJA I FUZIJA SLIKA

U procesu finalnog skeniranja objekta postupak opisan u procesu kalibracije se ponavlja u petlji, s tim da program samostalno diskriminiše rezultate merenja pomeraja i ugla, na osnovu vrednosti izmerenih u proceduri kalibracije i zadatih tolerancija na te vrednosti.

Bez obzira na to da li korisnik ili softver diskriminiše rezultate merenja, tj. odlučuje da li je fuzija slika uspešna ili ne, neizbežna je pojava grešaka. Mogući uzroci grešaka su:

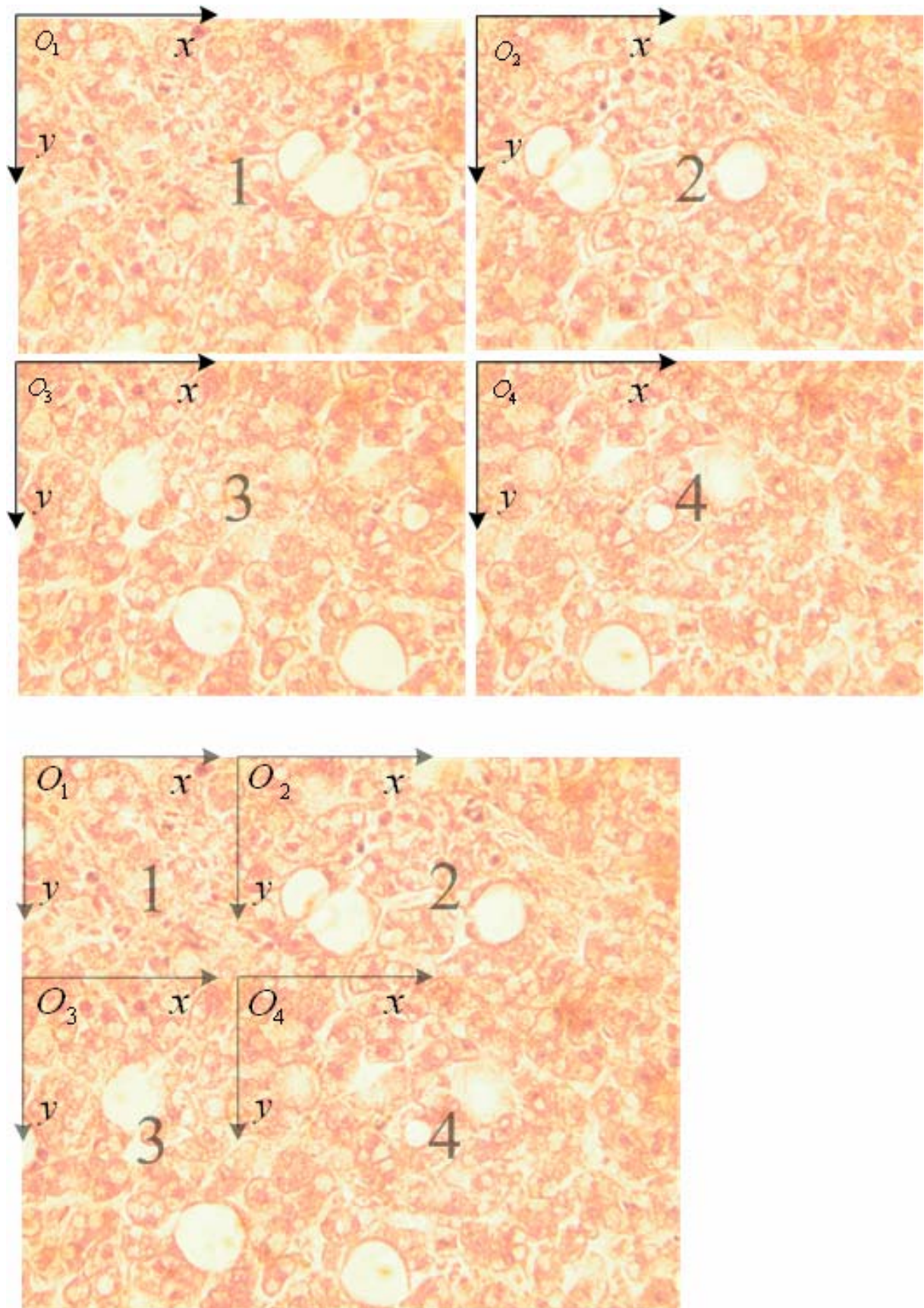
- u kalibraciji nije tačno izmeren odnos piksela slike i koraka motora, tako da posle nekog vremena oblast preklapanja susednih slika nije dovoljna za korelaciju,
- ugao θ je prevelik, pa je oblast preklapanja susednih slika manja,
- raspodela boje samog objekta u zajedničkoj oblasti po nekoj komponenti slike je monotona, što dovodi do lažnih maksimuma korelacione funkcije.

U slučaju neuspešnog merenja predviđen je mehanizam oporavka. Obrada sadržaja susednih slika se ponavlja sa izmenjenim parametrima nekoliko puta, a ako se ne dodje do uspešnog merenja, poslednji snimak se odbacuje i uzima se novi snimak sa pozicije pomerene ka prethodnoj poziciji za neku malu vrednost.

Na slici 2 je prikazan primer fuzije četiri realna snimka, uzetih na odstojanjima ΔX i ΔY po 50 koraka motora (50 μ m). Snimci su dimenzija 1280X960 piksela. Prvi snimak (označen sa 1) uzet je sa tekuće pozicije kamere u prostoru objekta, zatim je izvršen pomeraj kamere po X osi u prostoru objekta za ΔX i uzet drugi snimak (označen sa 2), zatim pomeraj po Y za ΔY (snimak 4), i konačno po X za $-\Delta X$ (snimak 3). Pomeraju ΔX u prostoru objekta kamere odgovara pomeraj Δx u prostoru kamere, a pomeraju ΔY

odgovara Δy . Vrednosti relativnog pomeraja merenog u prostoru kamere u pravcu kretanja (Δx za kretanje po X osi, Δy za kretanje po Y osi) su varirale od 605 do 620 piksela. Međutim, zbog rotacije kamere postoji i sistematska greška

koja se vidi u prostoru kamere kao Δy za kretanje po X , odnosno Δx za kretanje po Y osi. Greška usled rotacije kamere u ovom primeru u svim merenjima iznosi -1 piksel



Sl.2. Fuzija na primeru četiri slike. Gore su prikazane slike 4 vidna polja kamere, koja su nastala uzimanjem snimaka pri pomeraju od 50 koraka motora (približno $50\mu\text{m}$) po obe ose. Dole je prikazan rezultat fuzije ove 4 slike.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu prikazano je rešenje za automatizovanu akviziciju i fuziju digitalnih slika u medicinskoj mikroskopiji. Pomoću automatizovanog mikroskopa sa digitalnom kamerom i pokretnom platformom vrši se akvizicija slika u ograničenom vidnom polju. Pošto postoji potreba da slika bude verna predstava preparata (objekta posmatranja), razvijeno je programsko rešenje koje vrši fuziju većeg broja snimaka uzetih sa različitih pozicija posmatrača.

Metod predstavljen u ovom radu čini kvalitetan, efikasan i ekonomičan način za rešavanje problema digitalizacije postojećih, u praksi danas najčešće korišćenih, optičkih mikroskopa. Pored toga, vredno je pomena da su performanse savremenih PC računara dostigle nivo zadatka sinteze i obrade slika visoke rezolucije.

U perspektivi daljeg razvoja traže se rešenja za sekundarnu obradu slike, kao na primer segmentacija, izdvajanje objekata, prepoznavanje oblika i klasifikacija objekata (na osnovu oblika, boje i veličine).

LITERATURA

- [1] V. Čučuz, „*Digitalizovani mikroskop: Upravljanje motorizovanim mikroskopom i digitalnom kamerom pomoću računara*”, Diplomski rad, ETF Beograd, septembar 2004.

- [2] V. Čučuz, Đ. Đurđević, I. Milosavljević, B. Reljin, “Digitalizovan mikroskop: Sistem za upravljanje motorizovanim postoljem, akviziciju, digitalizaciju i arhiviranje mikroskopskih slika”, *Konf. TELFOR-2004*
- [3] B. Jähne, “*Digital Image Processing*”, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2002.
- [4] Steven W. Smith, “The Scientist and Engineer's Guide to Digital Signal Processing” California Technical Publishing 1999.
- [5] J. P. Lewis, “Fast Template Matching”, *Vision Interface*, p. 120-123, 1995.
- [6] J. P. Lewis, “Fast Normalized Cross-Correlation”, <http://www.idiom.com/~zilla/Work/nvisionInterface/nip.html>

Abstract – One solution for digital microscopic images fusion is described. A series of images acquired from digitized microscope with motorized stage are combined in appropriate way for obtaining one high resolution large image. Image being much larger than microscope field of view, is very useful for the further examination.

FUSION OF HIGH RESOLUTION IMAGES FROM DIGITAL MICROSCOPE WITH STEPPER STAGE

Nenad Stepanić, Vojin Čučuz, Dragi Dujković