

Berandungsgenaue Segmentierung von Plasma und Nucleus bei Leukozyten

Thomas Rehn^{1,2}, Thorsten Zerfaß¹, Thomas Wittenberg¹

¹Fraunhofer-Institut für Integrierte Schaltungen IIS, Erlangen

²Universität Magdeburg

Email: thorsten.zerfass@iis.fraunhofer.de

Zusammenfassung. Die exakte Segmentierung von Zellkern und Zellplasma weißer Blutzellen bildet die Grundlage für die Erstellung eines automatischen, bildbasierten Differentialblutbildes. In diesem Beitrag wird ein Verfahren zur entsprechenden Segmentierung von Leukozyten vorgestellt. Nach einer Vorverarbeitung durch einen Kuwahara-Filter wird ein Fast-Marching-Verfahren zur Bestimmung der groben Zellumrisse bestimmt. Um die Zellfläche zu erhalten, wird anschließend ein Kürzester-Pfad-Algorithmus angewandt. Die Markierung des Zellkerns erfolgt durch eine Schwellenwertoperation. Eine Evaluierung des Verfahrens wurde auf einer repräsentativen Stichprobe von 80 Bildern durchgeführt und mit einer Handsegmentierung auf der Basis des Dice-Koeffizient und sowie der Hausdorff-Distanz verglichen.

1 Einleitung

Die sichere Erkennung und exakte Segmentierung von weißen Blutzellen (Leukozyten) in gefärbten Ausstrichen des peripheren Blutes bildet die Grundlage für eine automatische, bildbasierte Erstellung eines sog. Differenzialblutbildes im Kontext der medizinischen Labordiagnostik (sog. Computer Assistierte Mikroskopie – CAM). Die Vielfältigkeit der in einem Blutausstrich auftretenden weißen Blutzellen, verbunden mit ihrer jeweils charakteristischen Farbverteilung und Texturierung, erhöhen die Schwierigkeit bei der Klassifikation im Rahmen einer vollständigen Automatisierung. Während die automatische Detektion und Segmentierung weißer Blutzellen in digitalen Bildern mittlerweile zum Stand der Technik gehört, ist die anschließende berandungsgenaue Segmentierung von Zellkern und speziell des Zellplasmas im Hinblick einer nachfolgenden Klassifikation noch nicht zufriedenstellend gelöst.

2 Stand der Forschung und Fortschritt durch den Beitrag

Bekanntere Ansätze zur Segmentierung von Zellplasma *und* Zellkern weißer Blutzellen greifen oftmals auf Schwellwertverfahren zurück [1, 2]. Ein in [3] vorgeschlagenes Verfahren führt zusätzlich wahrscheinlichkeitstheoretische Elemente ein, um eine Unterscheidung in Hintergrund, rote Blutkörperchen, sowie Kern

und Plasma der Leukozyten zu treffen. Ein Active Contour-Verfahren zur Zellumrissbestimmung kommt in [4] zum Einsatz. Der in [5] vorgestellte Ansatz setzt auf Scale-Space-Filtering zur Bestimmung des Zellkerns und 3D-Watershed-Clustering des ins HSV-Modell transformierten Bildes.

Im Gegensatz zu den genannten Ansätzen wird in diesem Beitrag ein neuartiger Ansatz vorgestellt, der Level-Set- und Fast-Marching-Methoden mit einem Kürzester-Pfad-Algorithmus kombiniert, um eine vollständige und berandungsgenaue Segmentierung von Zellkern und Zellplasma zu erreichen.

3 Methoden

Als Ausgangsmaterial wurden Lichtmikroskopaufnahmen von Blutabstrichen verwendet, die mit einer MGG-Färbung behandelt wurden. Entsprechende farbliche Charakteristika finden ihren Niederschlag in der Wahl der Parametrisierung des folgenden Verfahrens. Um die Segmentierung automatisch durchführen zu können wurde ein dreistufiger Algorithmus entwickelt, der sich grob in Bildvorverarbeitung, Auffinden von Kern und Plasma und Nachbearbeitung und Feinkorrektur unterteilen lässt.

3.1 Vorverarbeitung

Da einige Bildelemente wie rote Blutkörperchen (bläulicher Rand durch die Färbung und Optik) und Granulozyten (Textur mit relativ hochfrequente farblicher Varianz) lokal mit atypischen oder den Hauptalgorithmus störenden Eigenschaften versehen sind, werden die Bilder mit einem kantenerhaltenden und rauschunterdrückenden Kuwahara-Filter vorverarbeitet [6].

3.2 Finden von Kern und Plasma

Um die Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Farbkomponenten weiter zu reduzieren, findet die weitere Verarbeitung nach einer Transformation des RGB-Eingangsbildes im HSV-Modell statt. Als erstes werden mittels eines Schwellenwertverfahrens (Thresholding) Kandidaten für den relativ einfach grob zu lokalisierenden Zellkern (dunkle Blaufärbung) bestimmt. Diese dienen zunächst weniger zur Markierung als viel mehr zur Mittelpunktbestimmung der Zelle. Innerhalb dieser Kandidatenmenge N werden zufällig n Punkte $S \subset N$ ausgewählt und derjenige, der $\min_{x \in S} \sum_{y \in S} d(x, y)$ erfüllt, also den geringsten Abstand zu allen anderen Punkten aus S hat, zum vorläufigen Mittelpunkt m_{seed} erklärt. Als nächstes folgt die Bestimmung von Punkten knapp außerhalb des Zellplasmas beziehungsweise eine Markierung des letzteren, um die Kontur der Zelle erfassen zu können. Hierbei kommt ein Fast-Marching-Algorithmus zum Einsatz [7], der eine diskrete Variante der Eikonal-Gleichung $\|\nabla u(x)\|F(x) = 1$ in u löst, welche die Ausbreitung einer Welle, ausgehend von m_{seed} in Abhängigkeit der den Pixeln zu Grunde liegenden Farbeigenschaften F , simuliert. Im Optimalfall ist durch $\{u < F(m_{\text{seed}}) + \varepsilon\}$ mit geeigneter Funktion

F und ε bereits die Zelle beschrieben. Dass dies in der Realität fast nie gegeben ist, liegt zumeist in der unscharfen Trennung der weißen und roten Zellen begründet; das Resultat ist aber zumeist sehr gut geeignet um mit einem anderen Verfahren eine vollständige Trennung herbeizuführen. Als brauchbar für die Segmentierung von Leukozyten hat sich die Funktion F von der folgenden Struktur herausgestellt:

$$F(x) = \begin{cases} \beta & \text{falls } c(x) \geq \alpha_1 \vee (c(x) \geq \alpha_2 \wedge v(x) \leq \gamma) \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (1)$$

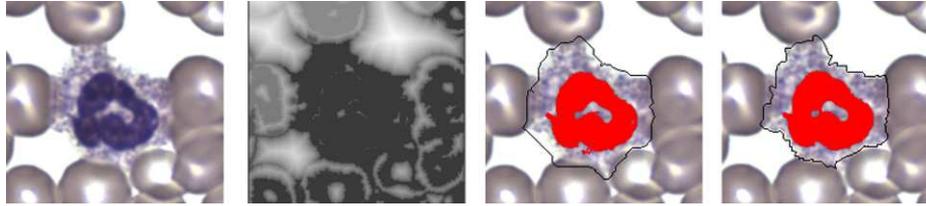
Hierbei ist mit $c(x)$ die Summe der drei Farbkomponenten im RGB-Raum und mit $v(x)$ die Value-Komponente im HSV-Modell im Punkte x bezeichnet. Die Parameter sind so zu wählen, dass mittels α_1 der Bild-Hintergrund und α_2 bzw. γ alles außerhalb von Hintergrund, Zellkern ($c(x) < \alpha_2$) und Zellplasma ($v(x) > \gamma$) erfasst wird. Um nicht von einer speziellen Farbsituation abhängig zu sein, wurde eine iterative Anpassung des wichtigen Parameters γ implementiert, α_1 und α_2 können für Bilderserien unter gleichen Aufnahmebedingungen unverändert bleiben. Der Wert von γ wird von einem niedrigen Niveau ausgehend schrittweise erhöht, bis bei Lauf in Nord-, Süd-, West- und Ostrichtung von Punkten nahe von m_{seed} jeweils Punkte p_N, p_S, p_W, p_O aus $\{u > F(m_{seed}) + \varepsilon\}$ gefunden werden, die nach Wahl der Parameter den Bereich außerhalb der Zelle markieren sollen. Anschließend kann mittels eines Wegfindungsalgorithmus ein Pfad entlang der Kontur der Zelle bestimmt werden. So führt eine Dijkstra-Variante unter Verwendung einer farbabhängigen Kostenfunktion $c(x, y)$ für die (gerichtete) Kante zwischen benachbarten Punkte x und y (8er Nachbarschaft) mit

$$c(x, y) = \|x - y\|_2 \cdot \left(1 + \alpha \mathbf{1}_{\{u < F(m_{seed}) + \varepsilon\}}(y)\right) + \beta \|m_{seed} - y\|_2 + \gamma \mathbf{1}_{H_{blue}}(h(y)) \quad (2)$$

zur gewünschten Trennung der Zelle von ihrer Umgebung, wobei $h(x)$ den Hue-Wert im HSV-Modell im Punkt x und H_{blue} eine Untermenge des blauen Hue-Wertebereichs, sowie $\mathbf{1}_A(x)$ die Indikatorfunktion der Menge A bezeichnet. Die Parameter α und γ sorgen dafür, dass der Pfad möglichst nicht über die bläulich gefärbte Zelle verläuft, während β den Weg auch nicht allzu weit von der Zelle wegführen lässt.

Auf solche Weise bestimmte Pfade, die die vier Punkte p_N, p_S, p_W, p_O durch vier Teilpfade verbinden, markieren oftmals den Zellenumriss schon recht genau. Das oben beschriebene Schwellwertverfahren zur Bestimmung des Zellkerns ist zwar geeignet einen guten Ausgangspunkt m_{seed} innerhalb der zu segmentierenden Zelle zu finden, hat sich jedoch als ungeeignet erwiesen den vollen für das menschliche Auge als solchen wahrnehmbaren Zellkern zu erfassen. Für diese Aufgabe wurde ein anderes Schwellwertverfahren, das beim Verhältnis zwischen Blau- und Grün-Kanal des RGB-Eingangsbildes ansetzt, verwendet.

Abb. 1. Von links nach rechts: Ausgangsbild, $u(x)$ mittels Fast-Marching-Algorithmus, Ergebnis vor und nach der Nachbearbeitung



3.3 Nachverarbeitung

Da es sich gezeigt hat, dass mit Hilfe des oben beschriebenen Verfahrens bestimmte Pfade Konkavitäten des Zellplasmas nicht gerecht werden, ist eine Nachbearbeitung des Pfades notwendig. Dabei genügt es den Pfad punktweise in Richtung m_{seed} zu verschieben, solange sich die Punkte auf dem durch die Farbe klar zu erkennenden Hintergrund oder auf auch roten Blutkörperchen befinden. Die so erhaltene Punktmenge, jeweils durch Kanten verbunden und geglättet, stellt das Ergebnis des gesamten Verfahrens das Zellplasma betreffend dar.

Auch der Zellkern bedarf eines Nachverarbeitungsschrittes, der mittels eines morphologischen Open-Close-Filters störende, isoliert liegende Punkte entfernt.

4 Ergebnisse

Die Leistungsfähigkeit des vorgestellten Algorithmus wurde anhand einer Sammlung von 80 Proben überprüft, die die verschiedensten Typen von Leukozyten enthält. Dabei wurde mit Hilfe verschiedener Kenngrößen die Qualität der automatischen Segmentierung mit einer zuvor per Hand durchgeführten Segmentierung verglichen. Bei der Evaluation zum Einsatz kamen zum einen der Dice-Koeffizient

$$C_D(A, B) = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|} \quad (3)$$

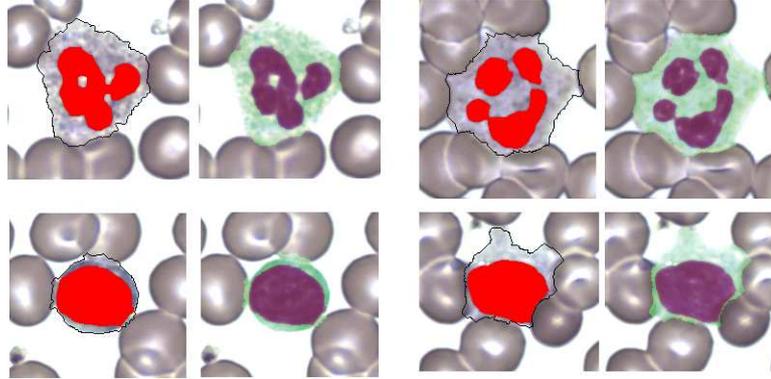
sowie eine normierte Hausdorff-Metrik

$$H(A, B) = \frac{\max_{x \in A} \min_{y \in B} \|x - y\| + \max_{y \in B} \min_{x \in A} \|x - y\|}{2 \max\{\text{diam}A, \text{diam}B\}} \quad (4)$$

Die Ergebnisse sind für Zellkern und -plasma getrennt in Tabelle 1 aufgeführt. Die optischen Eindrücke der Segmentierungsergebnisse, die in Abb. 2 zu sehen sind, bestätigen die guten Resultate der Evaluierung durch Kennzahlen.

5 Diskussion

In diesem Beitrag wird ein Verfahren zur Segmentierung von Leukozyten in Kern und Plasma in Bildern von Blutausstrichen vorgestellt. Nach einer Vorverarbeitung durch einen Kuwahara-Filter wird ein Fast-Marching-Verfahren zur

Abb. 2. Beispiele für Segmentierungsergebnisse von Zellkern und Zellplasma**Tabelle 1.** Ergebnisse der Evaluation für eine Serie von 80 Bildern

	C_D	H
Zellplasma	0.94 ± 0.02	0.91 ± 0.03
Zellkern	0.94 ± 0.02	0.90 ± 0.04

Bestimmung der groben Zellumrisse bestimmt und dann ein Kürzester-Pfad-Algorithmus, der zum großen Teil auf den bestimmten Level Sets operiert angewandt, um die Zellfläche zu erhalten. Die Markierung des Zellkerns kann im Wesentlichen durch reine Schwellwertoperationen erfolgen. Die damit erzielten Ergebnisse erreichen bei einer Evaluierung sowohl auf visueller Basis als auch mittels Standard-Maßzahlen wie Dice-Koeffizient und Hausdorff-Distanz gute Ergebnisse.

Literaturverzeichnis

1. Cseke I. A fast segmentation scheme for white blood cell images. In: 11th IAPR Int. Conf. on Pattern Recognition Vol.III: Image, Speech & Signal Analysis; 1992. 530–533.
2. Liao Q, Deng Y. An accurate segmentation method for white blood cell images. In: IEEE Intl. Sym. on Biomedical Imaging; 2002. 245–248.
3. Ramoser H, Laurain V, Bischof H, et al. Leukocyte segmentation and classification in blood-smear images. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society 2005; 3371–3374.
4. Ongun G, Halici U, Leblebicioglu K, et al. An automated differential blood count system. IEEE Eng in Med and Biology 2001;3:2583–2586.
5. Jiang K, Liao QM, Xiong Y. A novel white blood cell segmentation scheme based on feature space clustering. Soft Comput 2006;10(1):12–19.
6. Chen S, Shih TY. On the evaluation of edge preserving smoothing filter. In: Proceedings of Geoinformatics; 2002. paper C43.
7. Sethian JA. Levelset methods and fast marching methods. Cambridge University Press; 1999.