

Detecção de leucócitos em imagens de vídeo de microscopia intravital

Paulo G.L. Freire¹, Bruno C. G. Silva², Danielle Bernardes³, Juliana C. Tavares³
Rodrigo F. Mello², Ricardo J. Ferrari¹

¹Departamento de Computação – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)
São Carlos – SP – Brazil

²Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação – Universidade de São Paulo (USP)
São Carlos – SP – Brazil

³Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia e Biofísica
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – Belo Horizonte – MG – Brazil

* rferrari@dc.ufscar.br

Abstract. *Automatic detection and tracking of rolling and adhered leukocytes in intravital video microscopy are of great importance for researchers in the study of various inflammatory conditions. In this work, two computational schemes based on the Hough transform were developed to detect leukocytes in intravital video microscopy. Preliminary results of this study showed that a computational scheme combining the Hough transform and the Laplacian operator is promising for detecting leukocytes. Results are presented illustrating the effectiveness of the proposed method.*

Resumo. *Detecção e rastreamento automáticos de leucócitos rolantes e aderidos em imagens de vídeo de microscopia intravital são de grande importância para auxiliar pesquisadores no estudo de várias condições inflamatórias. Nesse trabalho dois esquemas computacionais baseados na transformada de Hough foram desenvolvidos para a detecção de leucócitos em vídeo de microscopia intravital. Resultados preliminares desse estudo mostraram que um esquema computacional combinando a transformada de Hough e o operador Laplaciano é promissor para a detecção dos leucócitos. Resultados são apresentados para ilustrar a eficácia do método proposto.*

1. Introdução

A análise *in vivo* das características de leucócitos rolantes e aderidos em imagens de vídeo é um procedimento fundamental no estudo de doenças inflamatórias [Acton et al. 2005]. O procedimento usual é realizar tal análise observando as imagens diretamente no microscópio durante os experimentos, ou gravando-as em algum tipo de mídia para futura visualização. Esse procedimento além de consumir muito tempo do pesquisador é também propenso a erros devido a fadiga visual do observador.

Esse trabalho apresenta um método simples para a detecção automática de leucócitos em imagens de microscopia intravital usando a transformada de Hough [Yuen et al. 1990] parametrizada para a detecção de círculos.

2. Metodologia

2.1. Banco de imagens

As imagens de vídeo utilizadas nesse projeto foram obtidas de eventos microcirculatórios de vasos cerebrais de camundongos utilizando um microscópio Zeiss Imager M.2 (Thornwood, NY) com objetiva 20XLD. As imagens possuem 8 bits de profundidade, taxa de amostragem de 16 quadros por segundo e resolução espacial de 1.89 pixels/ μm . A matriz imagem possui 592×420 pixels.

2.2. Pré-processamento

Uma etapa de pré-processamento para a redução de ruído das imagens através do filtro bilateral [Tomasi and Manduchi 1998] e estabilização do movimento das imagens devido ao movimento respiratório dos camundongos é aplicada previamente à etapa de detecção dos leucócitos. A estabilização do movimento das imagens é obtida através da aplicação de um método multiresolução de co-registro de imagens [Thevenaz and Unser 2000].

2.3. Detecção automática de leucócitos

A detecção automática de leucócitos foi investigada usando dois esquemas diferentes. No primeiro esquema (Figura 1(a)), a técnica de Sobel foi aplicada às imagens do vídeo para a obtenção da imagem gradiente; no segundo (Figura 1(b)), foi utilizada a técnica de Laplace. Os gradientes obtidos podem ser vistos na figura 2. Ambas técnicas são descritas em detalhes em [Gonzalez and Woods 2001].

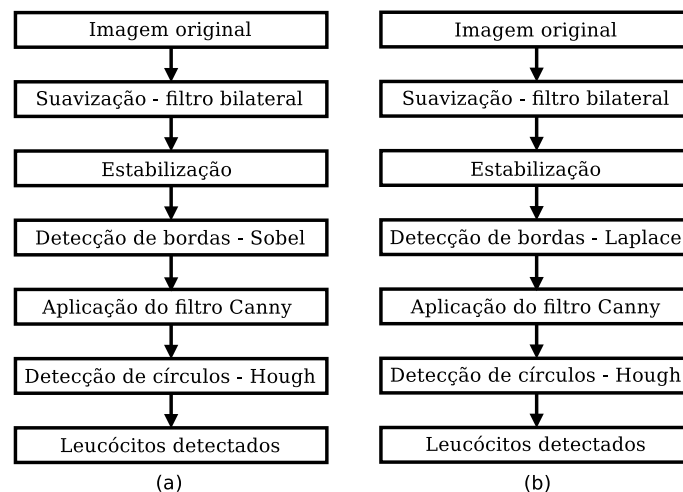


Figura 1. Esquemático das aplicações usadas para a detecção de leucócitos

Após a obtenção da imagem gradiente, o método de Canny [Gonzalez and Woods 2001] é aplicado para melhorar a detecção de bordas na imagem. Os valores dos limiares de histerese de Canny foram ajustados experimentalmente como $T_{\text{inf}} = 200$ e $T_{\text{sup}} = T1/2$, respectivamente, de maneira a detectar corretamente o maior número de leucócitos nas imagens, com o menor número possível de sinais falso-positivos.

A seguir, a transformada de Hough parametrizada para a detecção de círculos foi utilizada sobre a imagem resultante do método de Canny. Os parâmetros r_{min} e r_{max} que

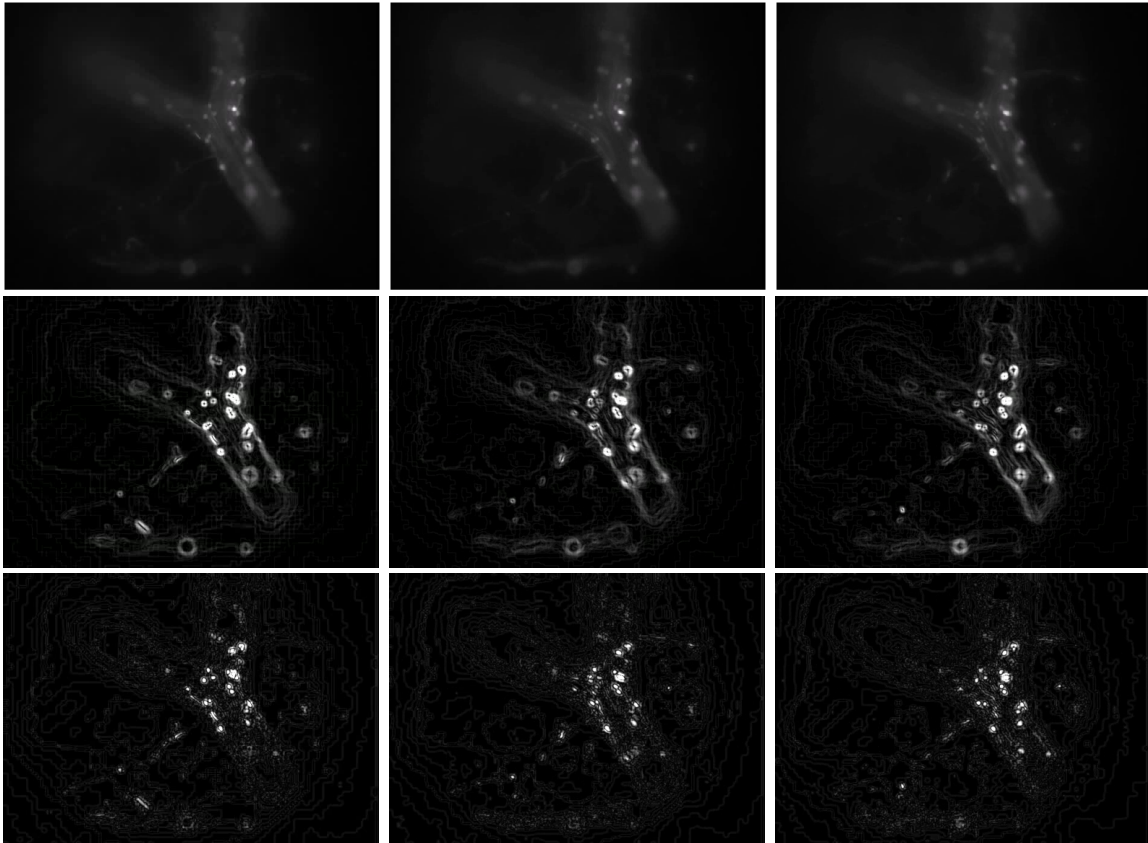


Figura 2. Frames originais, gradientes de Sobel e Laplace, respectivamente

definem os valores mínimo e máximo, respectivamente, dos raios dos círculos no acumulador de Hough foram ajustados para $r_{\min} = 3$ e $r_{\max} = 11$, com base na variação de tamanho dos leucócitos presentes nas imagens (raio médio aproximado de 7 ± 4 pixels). A resolução do raio dos círculos no arranjo acumulador foi ajustada para $r_{\text{passo}} = 4$.

3. Resultados preliminares e discussões

Um exemplo do processamento das imagens de vídeo usando as técnicas descritas nos diagramas de blocos da Figura 1 é apresentado na Figura 3. No exemplo, um limiar conservador ($T = 100$) foi aplicado ao acumulador de Hough. Analisando esses resultados em conjunto com as imagens gradientes da Figura 2 é possível notar que, embora o número de sinais falso-negativos (leucócitos presentes nas imagens, mas não detectados pelo método) seja relativamente grande, parte dos leucócitos foram detectados com sucesso nas imagens. Os resultados obtidos usando o operador Laplaciano se mostraram ligeiramente superiores aos obtidos com a técnica de Sobel. Isso se justifica pelo fato de que embora a imagem processada pelo Laplaciano apresente mais ruído, os leucócitos possuem um maior contraste com a aplicação desta técnica do que em relação à imagem processada pelo operador Sobel.

Uma vantagem do operador Laplaciano é que este é computacionalmente mais rápido que o operador Sobel pois, ao contrário desse último, o Laplaciano requer a convolução da imagem por apenas um kernel.

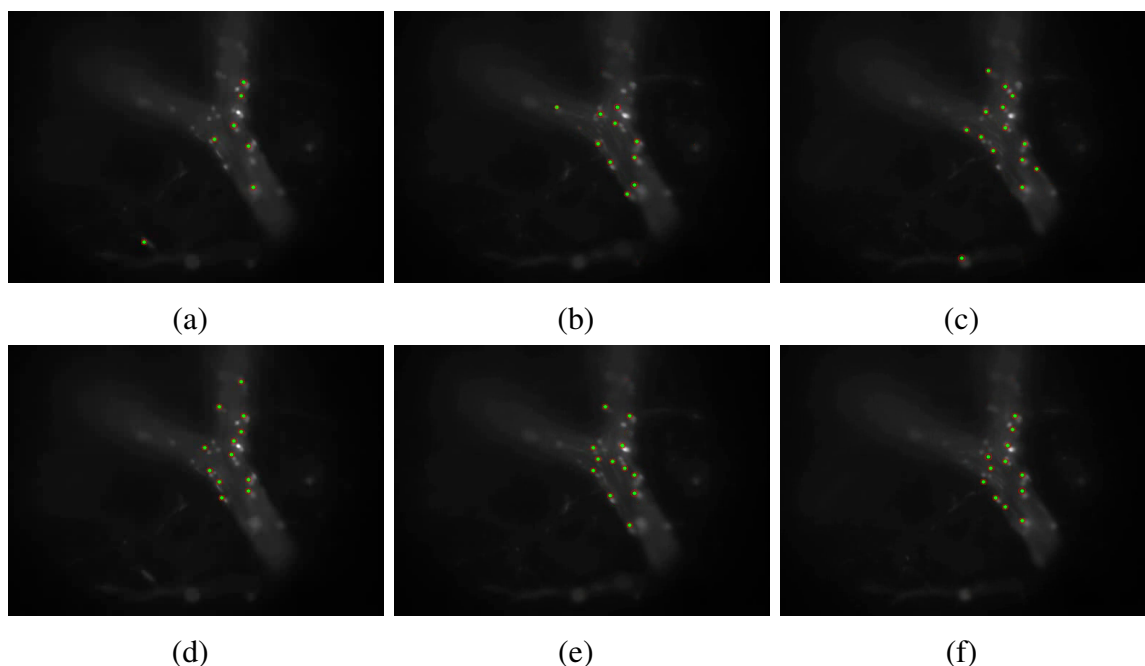


Figura 3. Comparação dos resultados obtidos. Frames (a) - (c) representam a detecção usando Sobel, e os frames (d) - (f) a detecção usando Laplace.

4. Conclusões

Foram apresentados e comparados dois conjuntos de aplicações de filtros para a detecção de leucócitos em imagens de microscopia intravital neste trabalho. Muito embora a detecção tenha mostrado resultados relevantes, alguns leucócitos presentes nas imagens não foram identificados corretamente. Para contornar isso, no momento uma etapa de pós-processamento está sendo investigada para melhor selecionar no acumulador de Hough os círculos correspondentes aos leucócitos verdadeiros.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos 481923/2010-1, 152885/2011-0 e 139179/2011-9) pelo suporte financeiro.

Referências

- Acton, S., Dong, G., and Ray, N. (2005). Intravital leukocyte detection using the gradient inverse coefficient of variation. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 24:910–924.
- Gonzalez, R. and Woods, R. (2001). *Digital Image Processing*. Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc., Boston, MA, USA, 2nd edition.
- Thevenaz, P. and Unser, M. (2000). Optimization of mutual information for multiresolution image registration. *IEEE Transactions on Image Processing*, 9(12):2083–2099.
- Tomasi, C. and Manduchi, R. (1998). Bilateral filtering for gray and color images. In *Proceedings of the Sixth International Conference on Computer Vision, ICCV '98*, pages 839–, Washington, DC, USA. IEEE Computer Society.
- Yuen, H. K., Princen, J., Illingworth, J., and Kittler, J. (1990). Comparative study of hough transform methods for circle finding. *Image Vision Computing*, 8:71–77.