Multiresolution Gradienten-Operator und polynombasierte Kantenrelaxation zur automatischen Analyse von Muskelbiopsien

H.-G. Luigs[1], A. Knepper[1], A. Dölemeyer[1] , J. M. Schröder[2], D. Meyer-Ebrecht[1]

[1]Lehrstuhl für Meßtechnik
Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule (RWTH), 52056 Aachen
Email: achim@lfm.rwth-aachen.de

[2]Institut für Neuropathologie
Universitätsklinikum der RWTH Aachen, 52057 Aachen
Email: neupath@amsd.imib.rwth-aachen.de

Zusammenfassung. Bei der Untersuchung von Muskelbiopsien sind zur diagnostischen Präzisierung meistens morphometrische Analysen notwendig. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen von gefärbten Semidünnschnittpräparaten von Muskelbiopsien werden dazu in kontrastoptimierte Graustufenbilder transformiert. Nach der Kantendetektion mit einem hierarchischen Canny-Operator folgt die Verkettung der gefundenen Kantenstücke zu geschlossenen Konturen mit Hilfe einer polynombasierten Kantenrelaxation. Die Objekttrennung als letzter Segmentierungsschritt arbeitet krümmungsbasiert. Für die klassifizierten Muskelfasern werden die morphometrischen Parameter Fläche, Kompaktheit, Abweichung vom mittleren Radius und die Fourierdeskriptoren bestimmt und nach Größenklassen in Diagrammform dargestellt.

Schlüsselwörter: Segmentierung, Muskelbiopsie, Relaxation, Morphometrie

1 Einleitung

Quantitative diagnostische Aussagen bei der Analyse von Muskelbiopsien erfordern eine objektive und reproduzierbare Auswertung. Die Auswertung der zu messenden Strukturen wird gegenwärtig oft noch „von Hand“ am Mikroskop mit dem Meßokular oder auf Fotografien durchgeführt. Diese Auswertungen sind zeitintensiv, nur bedingt reproduzierbar und von den subjektiven Eindrücken der Betrachter abhängig. Der Einsatz eines rechnergestützten Analysesystems kann die Qualität der Aussagen verbessern, indem der subjektive Einfluß minimiert wird. Die Entwicklung analyseunterstützender Verfahren zur Segmentierung, Klassifikation und detaillierten Beschreibung der Muskelfasern anhand ihrer morphometrischen Parameter war Ziel dieser Arbeit. Es wurden lichtmikroskopische Aufnahmen von Semi-Dünnschnittpräparaten von Skelettmuskelfasern und nach ATPase-Färbung bei einen pH-Wert von 4,2 untersucht.

2 Bildvorverarbeitung

Vor der Segmentierung werden die Eingangsbilddaten in ein Graustufenbild mit optimiertem Kontrast transformiert, da bei den hier verwendeten Färbungen der Farbe des Bildpunktes keine Information bezüglich der Zugehörigkeit zum Objekt zu entnehmen ist. Dazu wird eine Gerade im RGB-Farbraum so bestimmt, daß die Summe der quadratischen senkrechten Abstände aller Farbpunkte im RGB-Farbraum von dieser Geraden minimal wird. Die senkrechte Projektion der einzelnen Farbwerte im RGB-Farbraum auf die berechnete Gerade bestimmt anschließend ihren Grauwert [1].

3 Segmentierung

Im folgenden Segmentierungsschritt wird das kontrastoptimierte Graustufenbild der Muskelbiopsie in die verschiedenen Muskelfasern aufgegliedert. Jede Muskelfaser soll einzeln analysierbar sein.

3.1 Kantendetektion

Zur Kantendetektion wird ein hierarchischer Canny-Operator [2] mit zwei stark verschiedenen Standardabweichungen verwendet. Der Canny-Operator mit der großen Standardabweichung liefert ein erstes Kantenbild auf dem die Muskelfaserränder als Kantenstücke sichtbar sind. Besonders an den Rändern der Muskelfaserbündel sind einige Muskelfaserränder wegen der großen Glättungseigenschaft des Canny-Operators bei Verwendung der großen Standardabweichung miteinander verbunden.

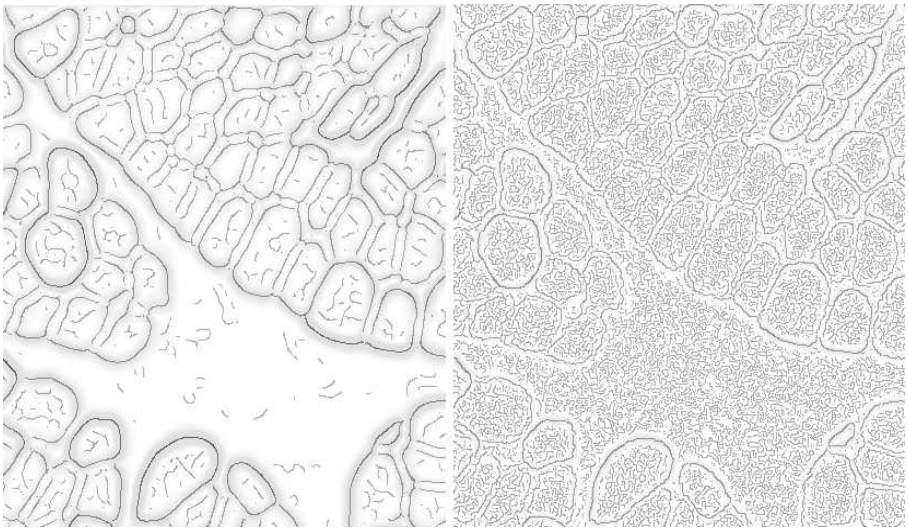

Abb. 1: Vergleich zwischen dem Ergebnis des Canny-Operators mit kleiner und großer Standardabweichung nach Nonmaxima-Suppression und Skelettierung.

Die Strukturen innerhalb der Muskelfasern sind nicht so stark vertreten wie auf dem Kantenbild des Canny-Operators unter Verwendung der kleinen Standardabweichung. Hier sind die Ränder der einzelnen Muskelfasern deutlich besser zu erkennen aber auch die Strukturen zwischen den einzelnen Muskelfaserbündeln werden stärker hervorgehoben.

Nach dem hierarchischen Canny-Operator wird eine Nonmaxima-Suppression [2,3] durchgeführt und eine Skelettierung der verbliebenen Maxima vorgenommen [4] (s. Abb. 1).

3.2 Kantenrelaxation

Das hier entwickelte Relaxationsverfahren basiert auf einer quadratischen Polynomregression [5], mit deren Hilfe die Kantenstücke auf Verkettungsmöglichkeiten hin untersucht werden. Das Wissen über die Gestalt von Muskelfasern kann das Verbinden von Randkanten mit den Kanten der inneren Strukturen der Muskelfasernn verhindern. Muskelfasern besitzen größtenteils eine konvexe Kontur. Scharfe Ecken kommen relativ selten vor. Die Beschreibung der Konturstücke mit einem quadratischen Polynom in Parameterform ermöglicht die Untersuchung der Konturstücke sowohl in ihrer näheren als auch ihrer weiteren Umgebung. Die Tangentengleichung, Normalengleichung und die Konturkrümmung liefern weitere wichtige Parameter zur Kantenrelaxation.

Eine quadratische Polynomregression wurde gewählt, da sich das quadratische Polynom der Muskelfaserkontur im auf wenige Pixel beschränkten Interpolationsgebiet sehr gut anschmiegt. Dadurch wird gleichzeitig eine Glättung der auf dem diskreten Gitter angeordneten Konturpixel erzielt. Kleine Ausreißer in der Konturlinie bewirken keine starken Sprünge der Konturkrümmung. Auf Anfang und Ende jedes Kantenstücks wird die quadratische Polynomregression angewendet und somit dadurch verlängert.

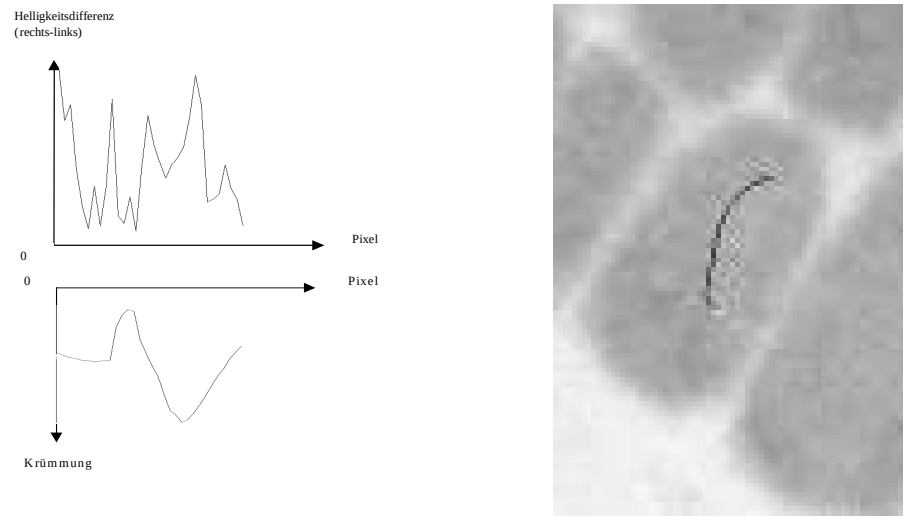

Abb. 2: Struktur innerhalb einer Muskelfaser; die Kante beginnt am hellen Pixel.

Bei der Extrapolation des Polynoms sowie seiner Tangente im Anfangs- bzw. Endpunkt wird überprüft ob zwischen der Tangente und dem extrapolierten Polynom andere Anfangs- oder Endpunkte anderer Kanten liegen oder ob andere Kanten geschnitten werden. Ist dies der Fall, wird entschieden ob die anderen Kanten an das betrachtete Kantenstück angehängt werden oder ob sie aufgebrochen werden und nur Teile von ihnen angehängt werden. Wichtige Parameter für das Aufbrechen sind in Abhängigkeit von der jeweiligen Entfernung die Helligkeitsdifferenz zwischen den beiden Seiten der betroffenen Kanten und die Kantenkrümmung in Bezug auf die Helligkeitsdifferenz. Weitere Parameter, die die Geschlossenheit der Kontur berücksichtigen sind der überstrichene Winkel, den eine Linie zwischen dem Anfangspunkt einer Kante und allen seinen Nachfolgern überstreicht und das Verhältnis zwischen dem Abstand zwischen Anfangs- und Endpunkt der Kontur und ihrer Länge. Durch die Berechnung der Normalen in einem Punkt der Kontur kann die Umgebung der Kante auf Grauwertunterschiede hin untersucht werden. Mit Hilfe der Konturkrümmung und dem Wissen, daß fast alle Muskelfasern eine konvexe Form besitzen, kann eine erste Prüfung durchgeführt werden, ob die vorliegende Kante zur Muskelfaserkontur oder zur Struktur im Innern der Muskelfaser gehört. In Abb. 2 ist eine Kante im Innern einer Muskelfaser mit ihrer Helligkeitsdifferenz zwischen den Pixeln auf der rechten Seite und der linken Seite sowie der Krümmung der Kante dargestellt. Die Krümmung der Kante ist auf ihrer gesamtem Länge negativ, daher sollte auf der rechten Seite der Kante ein deutlich dunklerer Grauwert vorherrschen als auf der linken Seite. Die Helligkeitsdifferenz (rechte Seite minus linke Seite) sollte daher konstant negativ sein. Wie in Abb. 2 aber leicht zu erkennen ist, ist die Helligkeitsdifferenz konstant positiv, so daß die gezeigte Kante nicht zum Muskelfaserrand gehören kann.

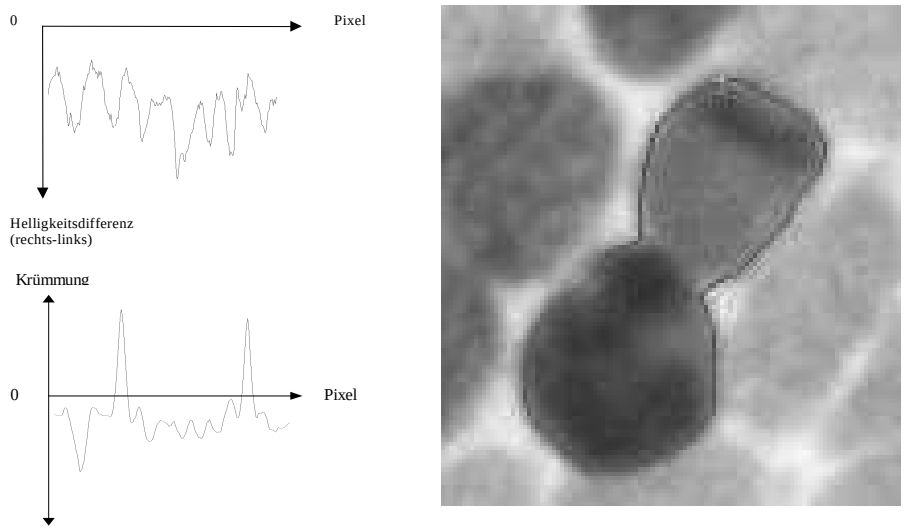

Abb. 3: Miteinander verbundene Muskelfasern; Kontur beginnt mit dem hellen Pixel.

3.3 Objekttrennung

Sind verschiedene Muskelfasern fast gleicher Färbung sehr eng benachbart, können sie nicht immer durch die Kantenrelaxation getrennt werden.

Die Objekttrennung arbeitet krümmungsbasiert unter Berücksichtigung der Strukturen innerhalb gefundener Objekte und dem Abstand gegenüberliegender Konturpunkte. Die Durchlaufrichtung aller Kantenstücke wird so geändert, daß alle Kanten eine größtenteils negative Krümmung besitzen. Treten innerhalb einer Kontur Stellen mit einer örtlich begrenzten, starken positiven Krümmung auf, so muß eine Objekttrennung an den Stellen mit der starken positiven Krümmung erfolgen. Tritt in einer Objektkontur nur an einer Stelle eine örtlich begrenzte, starke positive Krümmung auf, so müssen die Abstände zwischen dieser einen Stelle und allen anderen Konturpixeln verglichen werden, ob es eine Stelle auf der gegenüberliegenden Seite der Objektkontur mit einem minimalen Abstand gibt, der so gering ist, daß das Aufbrechen der Kontur sinnvoll ist (s. Abb. 3).

4 Zusammenfassung

Es wurde ein analyseunterstützendes Verfahren zur weitgehend automatischen Auswertung von Muskelbiopsien vorgestellt [6].

Zur detaillierten Beschreibung der segmentierten und klassifizierten Muskelfasern werden mehrere klinisch relevante Parameter bestimmt. Neben Anzahl und Fläche der segmentierten Muskelfasern wird die Kompaktheit [7] und die Abweichung der Muskelfaserform von der Kreisform [8] berechnet. Die aus den Konturpixeln bestimmten Fourierdeskriptoren beschreiben die Welligkeit der Muskelfaserkontur und vervollständigen den gewonnenen Parametersatz, der zum Abschluß der Muskelfaseranalyse getrennt nach Größenklassen in Diagrammform dargestellt wird.

5 Literatur

1. Russ JC: Optimal Grey Scale Images from Multiplane Color Images. Journal of Computer-Assisted Microscopy, 7(4):221-233, 1995.
2. Parker JR: Algorithms for image processing and computer vision. John Wiley & Sons, New York, 1997.
3. Bässmann H: Konturorientierte Verfahren in der digitalen Bildverarbeitung. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1989.
4. Klette R, Zamperoni P: Handbuch der Operatoren für die Bildbearbeitung. Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig/Wiesbaden, 1985.
5. Press WH: Numerical Recipes in C. Cambridge University Press, 1992.
6. Luigs H-G: Entwicklung von Algorithmen zur Analyse von Muskelbiopsien bei neuromuskulären Krankheiten. Diplomarbeit, RWTH Aachen, 1998.
7. Haberäcker P: Praxis der Digitalen Bildverarbeitung und Mustererkennung. Carl Hanser Verlag, München, 1995.
8. Haralick RM: Computer and Robot Vision. Addison-Wesley, 1992.