

# ВЫДЕЛЕНИЕ ОБЪЕКТОВ НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

Нечай О. С., Головатая Е. А.

Кафедра интеллектуальных систем, Белорусский государственный университет

Минск, Республика Беларусь

E-mail: olganechay.bsu@gmail.com, katerina-golovataya@yandex.ru

*В данной работе рассматриваются алгоритмы структурной детализации для выделения флуоресцентных маркеров и границ клеток на изображениях, полученных в результате проведения исследований методом флуоресцентной гибридизации. Для выделения флуоресцентных маркеров используются такие алгоритмы, как пороговое разделение и рекурсивная точечная заливка. Для чёткого выделения границ клеток на изображениях используется детектор границ Кэнни.*

## ВВЕДЕНИЕ

FISH (fluorescence in situ hybridization) – молекулярно-цитогенетический метод для определения наличия или отсутствия последовательностей ДНК в хромосоме. Метод основан на принципе использования способности одной цепи ДНК специфически гибридизироваться с другой парной цепочкой ДНК. FISH использует короткие ДНК участки (зонды), к которым уже прикреплены флуоресцентные светящиеся маркеры. Зонды связываются комплементарно с тестируемыми участками хромосом. Визуализацию связавшихся ДНК-зондов проводят при помощи флуоресцентного микроскопа.

Метод FISH является модификацией детекции нуклеиновых кислот in situ с помощью радиоактивной метки; отличие заключается лишь в том, что в методике FISH применяются флуоресцентно меченые зонды. Впоследствии данная методика была модифицирована с целью определения специфических последовательностей молекул ДНК на хромосомах человека с использованием нерадиоактивных ДНК зондов.

Визуализацию связавшихся ДНК-зондов проводят при помощи флуоресцентного микроскопа. Во флуоресцентном микроскопе образец облучается светом с соответствующей частотой. Излучение образца, соответственно, пропускается через фильтр, отсекающий свет на частоте возбуждения [1].

Метод FISH является важной составляющей цитогенетического обследования, так как позволяет оценить генетический статус отдельной клетки, в отличие от других способов исследований генетического материала. Для качественного анализа изображений необходима как структурная детализация объектов изображений, так и предварительная обработка. Для проведения одного FISH-исследования требуется проанализировать большой объём выборки изображений. Автоматизация данного процесса

необходима для сокращения времени проведения анализа и улучшения его качества.

## I. ВЫДЕЛЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МАРКЕРОВ МЕТОДОМ ПОРОГОВОЙ ОБРАБОТКИ

Пороговая обработка – один из наиболее распространенных методов сегментации изображений. Первым этапом в реализации данного алгоритма производится сглаживание изображения с помощью фильтра Гаусса для удаления побочных максимумов. Далее вычисляется светимость каждого из пикселей по линейному закону для пространства RGB:  $Y=0.2126R+0.7152G+0.0722B$ , где R – красная компонента, G – зеленая компонента, B – синяя компонента.



Рис. 1 – Результат применения алгоритма пороговой обработки

Следующим этапом задаётся пороговое значение светимости. Если значение светимости пикселя больше порога, то этот пиксель включается в область. Если же значение светимости пикселя меньше порога – пиксель в область не включается [2] (см.рис.1).

## II. ВЫДЕЛЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МАРКЕРОВ МЕТОДОМ РЕКУРСИВНОЙ ТОЧЕЧНОЙ ЗАЛИВКИ

Алгоритм рекурсивной точечной заливки позволяет выделять достаточно однородные области изображения, на которых изменение цвета не очень велико(см.рис.2).

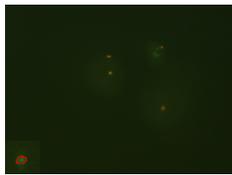


Рис. 2 – Результат применения рекурсивной точечной заливки

Для применения алгоритма необходимы начальные точки, которые предлагается выбрать как точки локальных максимумов. Присутствие шума на изображениях может дать побочные нежелательные максимумы. Следовательно, на первом этапе алгоритма необходимо устранить побочные максимумы. Этап сглаживания изображения заключается в применении операции свертки по оператору Гауссова размытия[2].

После проведения операции сглаживания изображения начинается поиск локальных максимумов. Поиск производится по каждому пикселю в соответствии со значениями яркости в 4 соседних пикселях. Следующим этапом находится цветовая разность между исходным пикселем и каждым последующим. Далее совершается рекурсивный обход точек вокруг выделенного локального максимума и принимается решение о включении или невключении пикселя в область: если цветовая разность меньше заданного порога – пиксель в область включается, если больше – не включается.

### III. АВТОМАТИЧЕСКОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК НА ИЗОБРАЖЕНИИ

Для качественного проведения анализа требуется структурная детализация объектов на изображении, а именно необходимо знать, какой клетке принадлежит маркер.

Поскольку маркеры флуоресцируют только при облучении светом определенной длины волны, чётко их можно увидеть при рассмотрении образца через фильтр. Однако, отфильтрованное изображение нередко оказывается размытым, и становится трудно различить границы клеток. Для этого границы клеток выделяются на изображении, где они чётко видны, далее изображение с выделенными границами соотносится с изображением с чётко выделенными маркерами.

Наилучшие результаты получены при использовании детектора границ Кэнни.

Первый этап алгоритма детектора Кэнни состоит в сглаживании изображения с помощью фильтра Гаусса.

Границы отмечаются там, где градиент изображения приобретает максимальное значение. Они могут иметь различное направление, поэтому алгоритм Кэнни использует четыре фильтра для обнаружения горизонтальных, вертикальных и диагональных ребер в размытом изображении. Следующим этапом происходит подавление немаксимумов [2] (см.рис.3).

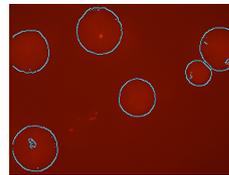


Рис. 3 – Результат применения детектора границ Кэнни

Далее производятся двойная пороговая фильтрация и трассировка областей неоднозначности [2]. Для проведения одного FISH-анализа требуется изучить большой объем выборки. Выделение границ клеток упрощает задачу доктора, уменьшает время проведения анализа.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выделение флуоресцентных маркеров на изображении, а также выделение границ клеток на изображении значительно упрощает работу над анализом изображений, полученных при проведении FISH-анализа.

Выделение маркеров при помощи двух алгоритмов: пороговой обработки и рекурсивной точечной заливки, а также выделение границ клеток на изображении значительно упрощает работу над FISH-анализом, позволяет сделать большее количество анализов в более короткий срок [3].

Рассматриваемые алгоритмы в рамках работы были реализованы при помощи платформы плагинов ImageJ [4].

1. Юров, И. Ю. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы: молекулярные и цитогенетические аспекты / И. Ю. Юров, С. Г. Ворсанова, Ю. Б. Юров. -ИД«Медпрактика – М», 2014. –С.289-295.
2. Гонсалес, Р. Цифровая обработка изображений в среде MATLAB / Р. Гонсалес, Р. Вудс, С. Эддинс //Техносфера, 2006. –С. 86-246.
3. Fully Unsupervised M-FISH Chromosome Image Characterization [Electronic resource] / Petros S. Karvelis, Aristidis C. Likas // IEEE., 2013. Mode of access: <http://ieeexplore.ieee.org>. Date of access: 20.08.2017.
4. Ferreira, T. ImageJ User Guide IJ 1.46r / T. Ferreira, W. Rasband // Tuesday 2nd October, 2012. –С.87-95.