

Akademia Górniczo Hutnicza
im. Stanisława Staszica w Krakowie



Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej
Katedra Informatyki Stosowanej i Modelowania

Praca Dyplomowa Inżynierska

**„Interaktywne przetwarzanie obrazów mikroskopowych
związanych z oceną adhezji składników komórkowych”**

**„Interactive processing of microscopic images
related to evaluation adhesion of cellular components”**

autor: Konrad Lenart
kierunek: Inżynieria Obliczeniowa
opiekun pracy: dr hab. Magdalena Kopernik, prof. AGH

Kraków, 2021

Upředzony o odpowiedzialności karnej na podstawie art. 115 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (tj. Dz.U. z 2006 r. Nr 90, poz. 631 z późn. zm.): „Kto przywłaszcza sobie autorstwo albo wprowadza w błąd co do autorstwa całości lub części cudzego utworu albo artystycznego wykonania, podlega grzywnie, karze ograniczenia wolności albo pozbawienia wolności do lat 3. Tej samej karze podlega, kto rozpowszechnia bez podania nazwiska lub pseudonimu twórcy cudzy utwór w wersji oryginalnej albo w postaci opracowania, artystyczne wykonanie albo publicznie zniekształca taki utwór, artystyczne wykonanie, fonogram, wideogram lub nadanie.”, a także upředzony o odpowiedzialności dyscyplinarnej na podstawie art. 211 ust. 1 ustawy z dnia 27 lipca 2005 r. Prawo o szkolnictwie wyższym (tj. Dz. U. z 2012 r. poz. 572, z późn. zm.) „Za naruszenie przepisów obowiązujących w uczelni oraz za czyny uchylbiające godności studenta student ponosi odpowiedzialność dyscyplinarną przed komisją dyscyplinarną albo przed sądem koleżeńskim samorządu studenckiego, zwanym dalej „sądem koleżeńskim”, oświadczam, że niniejszą pracę dyplomową wykonałem osobiście, samodzielnie, i że nie korzystałem ze źródeł innych niż wymienione w pracy.

Kraków, dnia.....
(miejscowość)

.....
(podpis)

Spis treści

| | | |
|----------|---------------------------------------------------|-----------|
| 1 | Wstęp | 3 |
| 2 | Cele i założenia | 4 |
| 2.1 | Cel główny | 4 |
| 2.2 | Cel poboczny | 4 |
| 2.3 | Założenia | 4 |
| 2.4 | Podstawowe funkcje biblioteki | 5 |
| 2.5 | Podstawowe funkcje aplikacji okienkowej | 5 |
| 2.6 | Rekomendacje | 5 |
| 3 | Część teoretyczna | 6 |
| 3.1 | Adhezja | 6 |
| 3.2 | Rozszerzenie TIFF | 6 |
| 3.3 | Binaryzacja | 6 |
| 3.4 | Element Strukturalny | 7 |
| 3.5 | Sąsiedztwo | 8 |
| 3.6 | Erozja | 9 |
| 3.7 | Dylatacja | 9 |
| 3.8 | Otwarcie morfologiczne | 11 |
| 3.9 | Zamknięcie morfologiczne | 12 |
| 3.10 | Korekcja Gamma | 12 |
| 4 | Część Praktyczna | 13 |
| 4.1 | Wykorzystane oprogramowanie | 13 |
| 4.2 | Diagram UML aplikacji | 13 |
| 4.3 | Omówienie implementacji | 13 |
| 4.4 | Omówienie interfejsu | 13 |
| 4.5 | Listing kodu | 13 |
| 5 | Wyniki i dyskusja | 14 |
| 6 | Wnioski | 15 |
| 7 | Podsumowanie | 16 |
| 8 | Bibliografia | 17 |

1 Wstęp

Każdy dzień to nowy rekord postępu dla całej cywilizacji technicznej. Szybkość z jaką pojawiają się nowe technologie stale rośnie. Nikogo nie dziwi już ile ludzkość potrafi dokonać w ciągu dwudziestu czterech godzin. Obecny trend rozwoju zawdzięczamy pojawieniu się komputerów. Komputery zastąpiły ludzi w wielu czynnościach, stworzyły także nowe miejsca pracy. Wyreczają nas w skomplikowanych obliczeniach, pozwalają testować systemy bezpieczeństwa w samochodach bez konieczności ich niszczenia, nauczyliśmy je nawet pilotować olbrzymie samoloty. Każdy z nas nosi w kieszeni większą moc obliczeniową niż komputery obecne na statkach kosmicznych, które lądowały na księżycu w ramach programu Apollo. Zaprzągnięcie komputerów do automatyzacji pracy, którą ludzie do tej pory wykonywali ręcznie zaoszczędza nam sporo czasu. Charakter tej pracy jest analogiczny - zastąpienie ludzi w mozolej, ręcznej ocenie adhezji składników komórkowych - automatycznym procesem, który przez człowieka będzie tylko nadzorowany.

Jedną z najważniejszych dziedzin, w której komputery znalazły zastosowanie jest medycyna. Postęp w tej dziedzinie ratuje każdego dnia miliony istnień na całym świecie. W niniejszej pracy podjęto próbę oceny adhezji składników komórkowych wykorzystując do tego analizę i przetwarzanie obrazów cyfrowych pochodzących z mikroskopu. Z pomocą odpowiednich algorytmów zliczone zostają obiekty widoczne na zdjęciu. Następnie bazując na faktach o składnikach komórkowych krwi obiekty zostają zakwalifikowane jako komórka krwi lub odrzucone.

Założeniem pracy było stworzenie łatwej w obsłudze biblioteki napisanej w języku C++. Biblioteka napisana została w taki sposób, aby z łatwością można było dołączyć ją do istniejących projektów w środowisku Visual Studio. Cele poboczne pracy to stworzenie interfejsu użytkownika w celu zaprezentowania funkcjonalności biblioteki. Do tego celu wykorzystana została aplikacja na komputery osobiste z wykorzystaniem .NET Framework 4.7.2. Dokładny opis biblioteki jak i interfejsu użytkownika ma miejsce w rozdziale drugim. Po części teoretycznej traktującej o wszystkich wykorzystanych w programie zagadnieniach związanych z analizą i przetwarzaniem obrazów cyfrowych.

2 Cele i założenia

2.1 Cel główny

Celem głównym było stworzenie biblioteki zajmującej się analizą i przetwarzaniem obrazów cyfrowych. Biblioteka ma za zadanie ocenę adhezji komórek krwi widocznych na obrazach pochodzących z mikroskopu, ma również ułatwić oraz usprawnić pracę ludzi. Podczas pracy nad biblioteką utrzymywany był kontakt z osobami, które będą z niej korzystać. Biblioteka napisana została w taki sposób, aby dostosować jej funkcjonalności do istniejącej już metodologii. Dzięki temu analiza obrazów niosących informacje na temat krwi pozwoli zaoszczędzić znaczącą ilość czasu.

2.2 Cel poboczny

Celem pobocznym było stworzenie interaktywnej aplikacji okienkowej, w której zaprezentowane zostało działanie biblioteki. Aplikacja służy zaprezentowaniu procesów zachodzących podczas analizy i przetwarzania obrazów cyfrowych. Pozwala również na interakcje z procesem, jego zmianę, zatrzymanie, dostosowanie parametrów oraz podgląd tego co się dzieje w czasie rzeczywistym. Do tego celu zostały wykorzystane następujące technologie: C++/CLI, C#, Windows Presentation Foundation oraz .NET Framework 4.7.2.

2.3 Założenia

Głównym założeniem tworzonego oprogramowania było stworzenie biblioteki w taki sposób, aby osoby z niej korzystające z łatwością mogły dodać ją do swoich projektów w środowisku Visual Studio 2019. Funkcjonalności jakie niesie ze sobą nie skupiają się wyłącznie na analizie i przetwarzaniu obrazów cyfrowych. Biblioteka dba również o to, aby struktura folderów była w należytym stanie na podstawie głównego folderu. Główny folder powinien gromadzić kolejne foldery, tak zwane eksperymenty, gdzie przez eksperyment rozumiemy folder, w którym znajdują się dane pochodzące z mikroskopu. W każdym z takich folderów dodane zostają odpowiednie pliki odpowiedzialne za ustawienia. Jeżeli dany eksperyment posiada już plik ustawień, jest to jasny sygnał dla programu, że nie należy dodawać kolejnego.

2.4 Podstawowe funkcje biblioteki

1. Analiza drzewa folderów,
2. Zliczanie komórek krwi na obrazach cyfrowych,
3. Zapis wyniku pracy algorytmu zliczającego liczbę komórek krwi w ramach eksperymentu do pliku.

2.5 Podstawowe funkcje aplikacji okienkowej

1. Możliwość zmiany ustawień przetwarzania obrazów w ramach eksperymentu -> GUI,
2. Możliwość dostosowania parametrów dla każdego z obrazów w czasie rzeczywistym -> GUI,
3. Możliwość śledzenia algorytmu w czasie rzeczywistym -> GUI,
4. Możliwość podglądu postępu przetwarzania obrazów -> GUI,
5. Wyświetlanie histogramu w ramach eksperymentu -> GUI,
6. Możliwość wyświetlania czasu przetwarzania danego obrazu -> GUI,

2.6 Rekomendacje

Użytkownikom oprogramowania rekomenduje się wykorzystywanie biblioteki na systemie operacyjnym Windows 10 w projektach budowanych z wykorzystaniem MSBuild (Microsoft Build Engine) w konfiguracji 64-bitowej. [1]

3 Część teoretyczna

3.1 Adhezja

Adhezja - z łac. *adhaesio*, czyli przyleganie. Jest to tendencja cząsteczek substancji (na przykład cząsteczek krwi) do przylegania do siebie nawzajem oraz powierzchni, na której się znajdują. Adhezja jest powodowana przez wiele sił: siłę napięcia powierzchniowego, siłę wiązań chemicznych, siłę van der Waals'a czy siłę elektrostatyczną. W kontekście tej pracy adhezja oznacza jak wiele komórek zdołało utrzymać się na próbówce, na tej podstawie ją oceniamy - im więcej komórek zdołało się utrzymać na próbówce, tym większa adhezja [2].

3.2 Rozszerzenie TIFF

TIFF - *Tag Image File Format* jest to format plików służący do przechowywania obrazów rastrowych. TIFF ma bardzo szerokie zastosowania, od urządzeń służących do skanowania czy wysyłania faksów, do analizy i przetwarzania obrazów cyfrowych. Format stworzony przez *Aldus Corporation*, nieistniejącego już dzisiaj przedsiębiorstwa przejętego w 1994 przez *Adobe*. TIFF jest elastycznym i adaptatywnym typem plików służącym do przechowywania zdjęć bez utraty ich jakości. Dzięki temu, że przechowywane dane nie tracą jakości, TIFF jest używany do archiwizacji zdjęć, ponieważ w przeciwieństwie do rozszerzenia JPEG, TIFF może być zmieniany i zapisywany wielokrotnie bez utraty jakości obrazu. Rozszerzenie to niesie ze sobą możliwość pracy zarówno wykorzystując kolory z palety RGB czy też monochromatyczne. Jest to bardzo użyteczny format, szczególnie w kontekście analizy i przetwarzania obrazów cyfrowych. [3]

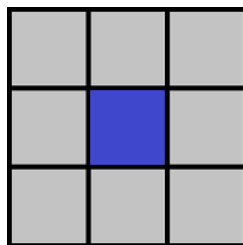
3.3 Binaryzacja

Binaryzacja - służy do stworzenia nowego obrazu na podstawie innego w taki sposób, aby zaznaczyć interesujący nas fragment na czarno(białe tło) lub na biało(czarne tło). Jak sama nazwa wskazuje wartości w nowym obrazie są 0 lub 1. Dzięki binaryzacji jesteśmy w stanie przetwarzać obraz tylko dla fragmentów zaznaczonych w procesie binaryzacji. Binaryzację można przeprowadzać na przykład na podstawie wartości kolorów w poszczególnych macierzach RGB. Na przykład: jeżeli *czerwony* > 150 i *zielony* > 200 i *niebieski* < 122 to wartość danego piksela w nowym obrazie równa się 1. Teraz wystarczy zastosować to dla każdego piksela w obrazie wejściowym i naszym obrazem wyjściowym staje się obraz o tym samym rozmiarze z zaznaczonym na czarno obszarem, gdzie macierze RGB

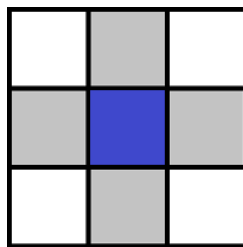
miały wartości *czerwony* > 150 i *zielony* > 200 i *niebieski* < 122 . Tak więc, gdy dokonamy już binaryzacji jesteśmy gotowi do kolejnych działań. Takich jak na przykład etykietowanie, erozja, dylatacja, otwarcie, zamknięcie czy innego rodzaju operacje morfologiczne. [4]

3.4 Element Strukturalny

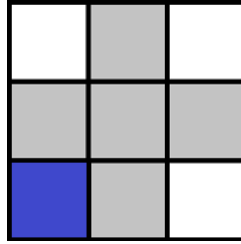
Element Strukturalny - operacje morfologiczne opierają się na elemencie strukturalnym. Przez element strukturalny należy rozumieć ruchome okno, które przykładane jest do każdego piksela w obrazie. Na podstawie wartości w sąsiedztwie wykonywane są pewne operacje. Po przyłożeniu punktu centralnego do piksela, sprawdzana jest wartość tego piksela. Jeżeli wartość ta jest równa 1 to zazwyczaj oznacza to aktywację. Na przykład zamalowanie odpowiednich sąsiadów danego piksela zgodnie z tym, jak wygląda element strukturalny. Każdy z punktów elementu strukturalnego ma odpowiednią wartość. Punkt centralny punktu strukturalnego to miejsce, które przykładana się do kolejnych pikseli w obrazie binarnym. W zależności od operacji morfologicznej, która jest przeprowadzana. Pozostałe piksele przyjmują jakąś wartości 0 lub 1. Przykłady elementów strukturalnych (czerwonym kolorem zaznaczono punkty centralne, szarym wartość 1, białym wartość 0) przedstawiono na rysunkach od 1 do 5.



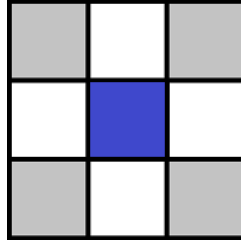
Rysunek 1: (*Opracowanie własne*) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Wszystkie piksele elementu strukturalnego posiadają wartość równą 1.



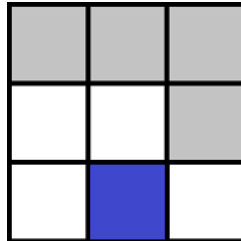
Rysunek 2: (*Opracowanie własne*) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Lewy dolny, lewy górny, prawy dolny oraz prawy górny piksel posiada wartość 0.



Rysunek 3: (*Opracowanie własne*) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w lewym dolnym rogu. Lewy górny, prawy górny oraz prawy dolny piksel posiada wartość 0.



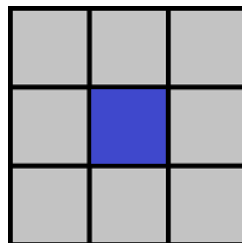
Rysunek 4: (*Opracowanie własne*) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Lewy środkowy, prawy środkowy, dolny środkowy oraz górny środkowy piksel posiada wartość 0.



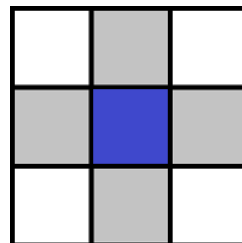
Rysunek 5: (*Opracowanie własne*) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w dolnym środkowym pikselu. Lewy dolny, lewy środkowy, środkowy oraz prawy dolny piksel mają wartość równą 0.

3.5 Sąsiedztwo

Sąsiedztwo - jest to sposób w jaki zdefiniowane jest otoczenie danego piksela. Wyróżnia się dwa główne sąsiedztwa: Moore'a (rysunek 6a) oraz Von Neumann'a (rysunek 6b).



(a) Sąsiedztwo Moore'a

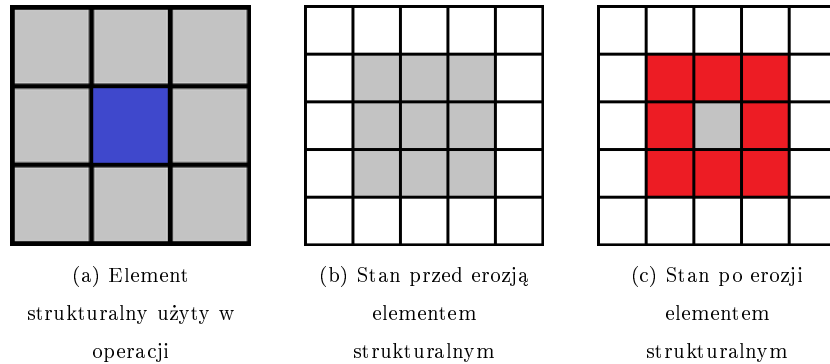


(b) Sąsiedztwo Von
Neumanna

Rysunek 6: (*Opracowanie własne*) Sąsiedztwa

3.6 Erozja

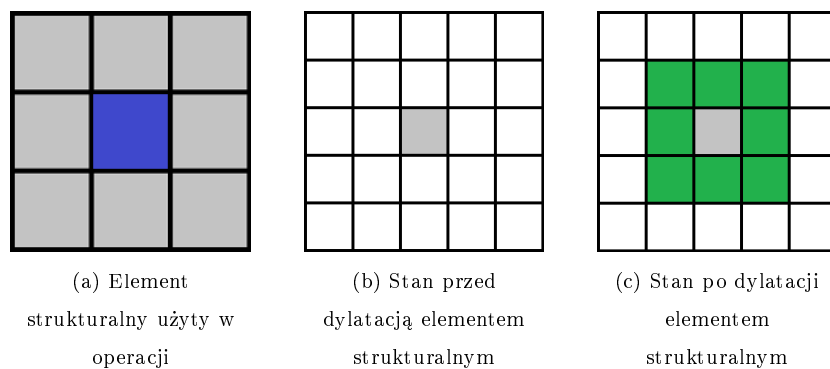
Erozja - czyli zwięzanie. Przyłożenie elementu strukturalnego do każdego piksela p_{ij} na obrazie w celu sprawdzenia czy choć jeden piksel z sąsiedztwa p_{ij} ma wartość równą zero. Jeżeli tak - punkt centralny również przyjmuje wartość 0. W przeciwnym przypadku wartość pozostaje bez zmian.



Rysunek 7: (*Opracowanie własne*) Erozja (Fioletowym kolorem zaznaczono punkt centralny elementu strukturalnego, natomiast czerwonym piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0).

3.7 Dylatacja

Dylatacja - czyli rozszerzanie. Przyłożenie elementu strukturalnego do każdego piksela p_{ij} na obrazie w celu sprawdzenia czy choć jeden z pikseli z sąsiedztwa p_{ij} ma wartość równą jeden. Jeżeli tak - punkt centralny również przyjmuje wartość 1. W przeciwnym wypadku wartość nie ulega zmianie.



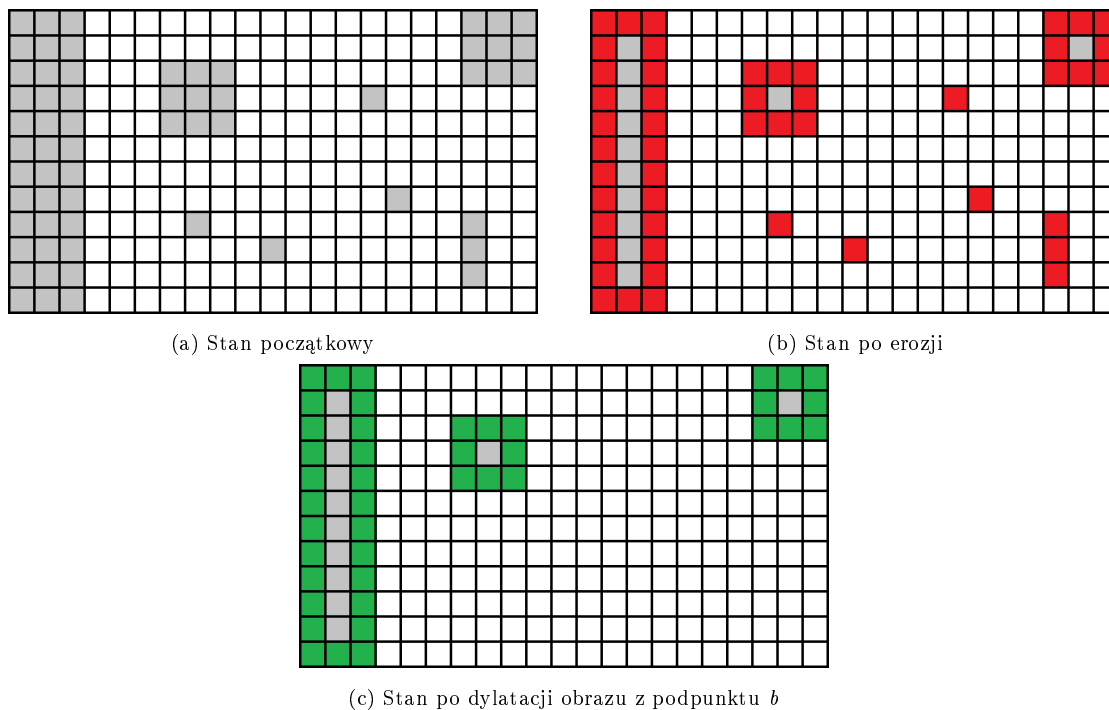
Rysunek 8: (*Opracowanie własne*) Dylatacja (Fioletowym kolorem zaznaczono punkt centralny elementu strukturalnego, natomiast zielonym piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1)

Dylatacja i erozja są operacjami dualnymi. Oznacza to, że jeżeli wykonamy negatyw obrazu, a następnie zadziałamy identycznym elementem strukturalnym na negatyw, to skutkiem takich działań będzie odwrotność działania erozji z dylatacją. Erozja na negatywie zadziała z takim samym skutkiem, jak dylatacja na oryginale. Natomiast zastosowanie dylatacji na negatywie przyniesie takie same skutki jak wykonanie erozji na oryginale.

Należy zauważyć, że dylatacja i erozja nie są operacjami odwrotnymi. Przykłady powyżej (rysunek 7, rysunek 8) mogą coś takiego sugerować, jednak tak nie jest. Dzięki dylatacji możemy zamykać otwory w obiektach znajdujących się na obrazie. Po wykonaniu takiej operacji i zamknięciu obiektu, erozja nie sprawi, że obiekt na nowo się otworzy. To samo tyczy się pojedynczych punktów (piksele, których każdy sąsiad ma wartość 0). Zadziałanie na taki pojedynczy piksel erozją sprawi, że zmieni on wartość z 1 na 0. Nie da się zadziałać dylatacją w taki sposób, aby taki punkt na nowo się pojawił. Pozwala to wyciągnąć następujące wnioski: Dylatacja jest świetnym sposobem na zamykanie drobnych dziur. Erozja jest świetna w usuwaniu małych obiektów. Jednak te operacje mają swoje minusy, nie działamy erozją czy dylatacją tylko na wybrane punkty. Działamy nimi na cały obraz. Właśnie dlatego powstały dwie kolejne operacje: otwarcie oraz zamknięcie.

3.8 Otwarcie morfologiczne

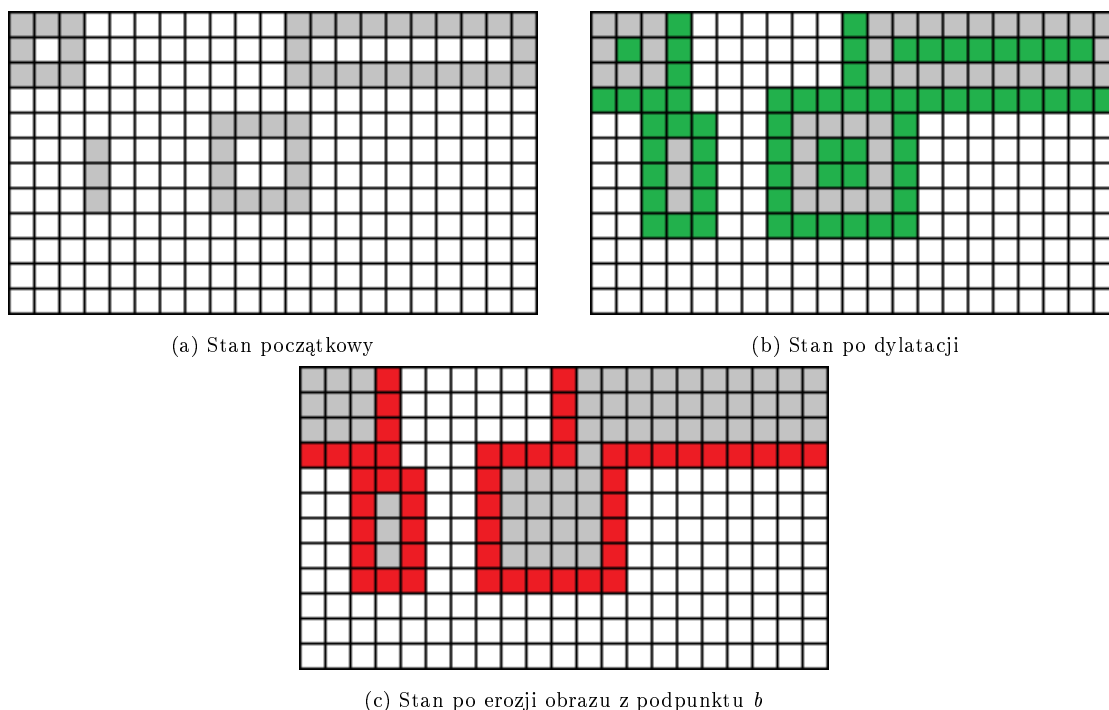
Otwarcie morfologiczne - jest równoważne dwom następującym po sobie operacjom na obrazie: erozji, a następnie dylatacji. Operacja ta pozwala usunąć małe elementy, tak zwany szum i następnie odbudować te obiekty, które ucierpiały na skutek erozji. Dzięki temu uzyskujemy czysty obraz, pozbawiony drobnych obiektów. Jak możemy zauważyć na Rysunku 9, pojedyncze piksele (nie posiadające sąsiadów z wartością 1 zostały usunięte. Następnie reszta obiektów zostaje odbudowana.



Rysunek 9: (*Opracowanie własne*) Otwarcie morfologiczne z wykorzystaniem elementu strukturalnego z Rysunku 1 (czerwonym kolorem zaznaczono piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0, natomiast zielonym kolorem oznaczono te piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1).

3.9 Zamknięcie morfologiczne

Zamknięcie morfologiczne - jest równoważne dwom następującym po sobie operacjom na obrazie: dylatacji, a następnie erozji. Wykonanie dylatacji, a następnie erozji pozwala na zamknięcie (przez zamknięcie należy rozumieć wypełnienie otworu wewnątrz obiektu, tak jak pokazano na Rysunku 9 podpunkt *b*) niektórych obiektów, a następnie przywrócenie pozostałych obiektów do stanu sprzed dylatacji. Jak możemy zauważyć na Rysunku 10, piksele, które wcześniej były odłączone od większego obiektu ale leżały niedaleko teraz stanowią integralną jego część, a dwa większe obiekty połączyły się.



Rysunek 10: (*Opracowanie własne*) Zamknięcie morfologiczne z wykorzystaniem elementu strukturalnego z Rysunku 1 (czerwonym kolorem zaznaczono piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0, natomiast zielonym kolorem oznaczono te piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1).

3.10 Korekcja Gamma

Korekcja Gamma - operacja punktowa wykonywana na obrazie monochromatycznym, która bazuje na krzywej gamma i wyraża się ją za pomocą wzoru $L'(x, y) = L(x, y)^\gamma$. Zastosowanie $\gamma = 1$ sprawi, że obraz pozostanie bez zmian. Natomiast w przypadku, gdy $\gamma > 1$ obraz zostanie przyciemniony. Analogicznie jest w przypadku $\gamma < 1$ obraz zostanie rozjaśniony, przy czym założeniem jest: $\gamma \in [0, 1]$ [4].

4 Część Praktyczna

4.1 Wykorzystane oprogramowanie

4.2 Diagram UML aplikacji

4.3 Omówienie implementacji

4.4 Omówienie interfejsu

4.5 Listing kodu

5 Wyniki i dyskusja

6 Wnioski

7 Podsumowanie

8 Bibliografia

Literatura

- [1] 05/12/2020 Microsoft Docs *MSBuild* <https://docs.microsoft.com/en-us/visualstudio/msbuild/msbuild?view=vs-2019>
- [2] 30/12/2020 *Wikipedia* <https://en.wikipedia.org/wiki/Adhesion#:~:text=Adhesion%20is%20the%20tendency%20of,be%20divided%20into%20several%20types>
- [3] James D. Murray, William VanRyper *Encyclopedia of Graphics File Formats: The Complete Reference* O'Reilly Media, Second Edition, 1996
- [4] Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods *Digital Image Processing Second Edition* Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey 2002
- [5] *Cyforwe przetwarzanie obrazów binarnych* https://pl.wikipedia.org/wiki/Cyfrowe_przetwarzanie_obraz%C3%B3w_binarnych

Spis rysunków

| | | |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | (Opracowanie własne) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Wszystkie piksele elementu strukturalnego posiadają wartość równą 1. | 7 |
| 2 | (Opracowanie własne) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Lewy dolny, lewy górny, prawy dolny oraz prawy górny piksel posiada wartość 0. | 7 |
| 3 | (Opracowanie własne) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w lewym dolnym rogu. Lewy górny, prawy górny oraz prawy dolny piksel posiada wartość 0. | 8 |
| 4 | (Opracowanie własne) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w środku. Lewy środkowy, prawy środkowy, dolny środkowy oraz górny środkowy piksel posiada wartość 0. | 8 |
| 5 | (Opracowanie własne) Przykład elementu strukturalnego o rozmiarze 3×3 z punktem centralnym w dolnym środkowym pikselu. Lewy dolny, lewy środkowy, środkowy oraz prawy dolny piksel mają wartość równą 0. | 8 |
| 6 | (Opracowanie własne) Sąsiedztwa | 8 |
| 7 | (Opracowanie własne) Erozja (Fioletowym kolorem zaznaczono punkt centralny elementu strukturalnego, natomiast czerwonym piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0). | 9 |
| 8 | (Opracowanie własne) Dylatacja (Fioletowym kolorem zaznaczono punkt centralny elementu strukturalnego, natomiast zielonym piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1) . . . | 9 |
| 9 | (Opracowanie własne) Otwarcie morfologiczne z wykorzystaniem elementu strukturalnego z Rysunku 1 (czerwonym kolorem zaznaczono piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0, natomiast zielonym kolorem oznaczono te piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1). | 11 |
| 10 | (Opracowanie własne) Zamknięcie morfologiczne z wykorzystaniem elementu strukturalnego z Rysunku 1 (czerwonym kolorem zaznaczono piksele, które zmieniły wartości z 1 na 0, natomiast zielonym kolorem oznaczono te piksele, które zmieniły wartości z 0 na 1). | 12 |