# URČENIE FREKVENCIE A TRAJEKTÓRIE OBJEKTOV V OBRAZOVEJ SEKVENCII

# FREQUENCY AND TRAJECTORY OBJECTS EVALUATION IN FRAMES SEQUENCE

D. Koniar, L. Hargaš, M. Hrianka, P. Špánik

Katedra mechatroniky a elektroniky, Elektrotechnická fakulta ŽU v Žiline Veľký diel, 010 26 Žilina, tel.: +421 41 513 1605, mail: koniar@fel.uniza.sk

**Abstrakt** Predmetom predloženého článku je analýza vlastností pohybujúcich sa objektov v zaznamenanej videosekvencii. Oblasťou záujmu je zistenie kinetických parametrov riasiniek dýchacieho epitelu, čo významnou mierou prispieva k určeniu správnej diagnózy patológií horných dýchacích ciest. Článok popisuje proces analýzy od akvizície riasinkových videosevencií, cez ich predspracovanie, až po vyhodnotenie kinetických parametrov riasiniek-cílií, ktorými sú frekvencia a trajektória. Uvedená problematika je riešená pomocou metód obrazovej analýzy. Práca je realizovaná vo vývojovom prostredí Lab-VIEW, použitím modulu základných i sofistikovaných nástrojov spracovania obrazových dát a videosekvencií.

**Summary** Subject of submitted article is an analysis of moving objects in acquired video sequence. Region of interest is kinetics of Ciliated Respiration Epithelium. This analysis is very important for evaluation of medical diagnostics. The article describes image acquisition, preprocessing and determination of the ciliary's moving. Subject of interest is frequency and trajectory of cilia. Results were acquired using of LabVIEW development modules, by basic and sophisticated background tools. The practical results of this article are applications for data reduction, image enhancement and application for recording trajectory and angle rotation of the region of interest.

# 1. ÚVOD

Obraz je kľúčovým prvkom pri určitých diagnostických metódach. Zahŕňa v sebe množstvo informácií, ktoré nemusia byť voľným okom viditeľné, či už sa jedná o statické snímky alebo sekvenciu snímok. Na extrakciu skrytých informácií slúžia rôzne softvérové nástroje. Takúto možnosť ponúka aj programové prostredie LabVIEW s modulom Vision určeným pre spracovanie a analýzu obrazu.

Technické prostriedky používané v medicíne v kombinácii s výpočtovou technikou v súčasnosti predstavujú nesmierne dôležitý nástroj pri diagnostických vyšetreniach. Optické prístroje, ako sú mikroskopy a video-kamery, prepojením s počítačom umožňujú nielen skúmať rôzne druhy patologických stavov v štruktúre bunkových kultúr, ale analýzou obrazových sekvencií dovoľujú aj spracovanie a vyhodnocovanie určitých pohybových procesov v snímaných bunkových preparátoch.

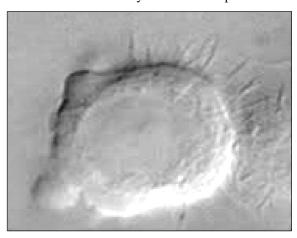
# 2. FYZIOLÓGIA RESPIRAČNÉHO EPITELU

Dýchací systém človeka sa vyznačuje pomerne veľkým povrchom, ktorý je vystavený vonkajšiemu prostrediu. Pri vdychu (inspíriu) sa do dýchacieho systému dostávajú rôzne častice, preto existujú obranné mechanizmy respiračného traktu: zvlhčovanie povrchu a odstraňovanie vdýchnutých častíc mukociliárnym transportom.

Sliznica dýchacích ciest je tvorená tzv. glandulárnym epitelom (krycia vrstva produkujúca hlien) a riasinkovým epitelom rôznych typov, ktorý pomocou pohyblivých riasiniek (cílií) posúva hlien so zachytenými čiastočkami smerom von z dýchacieho traktu, [1].

Každá epitelová bunka obsahuje asi 200 riasiniek kmitajúcich s frekvenciou 1000 min-1 (približne 17

Hz). Každá riasinka sa skladá z deviatich periférnych (zdvojených) a dvoch centrálnych fibríl (vláken). Pohyb riasinky je daný vzájomným kĺzavým pohybom medzi jednotlivými fibrilami [2]. Na obr. 1 možno vidieť záber bunky riasinkového epitelu.



Obr. 1 Bunka riasinkového epitelu Fig. 1 Cell of cilia's epithelium

Cyklus každej riasinky obsahuje tzv. účinný úder (effective stroke), vďaka ktorému hroty cílií posúvajú hlien orálnym smerom (von z dýchacieho aparátu). V zdravom riasinkovom epiteli sa účinné údery vykonávajú jedným smerom, čo zabezpečí normálny fyziologický mukociliárny transport hlienu.

Vrodené alebo získané defekty riasiniek majú za následok nehybnosť alebo porušenie synchronizovaného pohybu riasiniek. Tieto zmeny sa prejavujú stagnáciou a hromadením hlienu v dýchacích cestách, nedostatočným očisťovaním a pretrvávaním infektu. V prípade vrodených porúch môžeme hovoriť o primárnej ciliárnej dyskinézii (PCD) alebo

cystickej fibróze. Dané patológie sa prejavujú ako časté zápaly dutín, slizníc, pľúc, chronický kašeľ a rozšírenie priedušiek, [3].

# 3. METÓDY DIAGNOSTIKY RIASINIEK

Riasinkové bunky sú odoberané pretretím nosovej špirály cytologickou kefkou, po vložení do fyziologického roztoku ešte určitý čas vykonávajú svoju funkciu.

V súčasnosti sa na pozorovanie pohybu a štruktúry riasiniek používa svetelná aj elektrónová mikroskopia. Keďže elektrónová mikroskopia sa vyznačuje vysokou rozlišovacou schopnosťou rádovo 10-9 m (nm), je vo veľkej miere využívaná pri skúmaní štruktúry riasiniek. Na určovanie modelu kmitania a frekvencie kmitania riasiniek, sa väčšinou používa svetelná mikroskopia, ktorá má síce nižšiu rozlišovaciu schopnosť, rádovo 10-6 m (μm), no nie je tak časovo a finančne náročná ako elektrónová mikroskopia.

Na meranie parametrov kinetiky riasiniek bolo vynájdených niekoľko metód. Sú to vysokorýchlostná kinematografia, laserová svetelná spektroskopia, fotoelektrické merania a stroboskopia. Tieto metódy si vyžadujú drahé prístrojové vybavenie a niekedy nedokážu odhaliť primárnu príčinu dyskinézie. Pri analýze frekvencie kmitania riasiniek sa táto môže zdať normálna, pokiaľ nie sú poškodené všetky cílie.

Ako jedno z menej náročných riešení sa javí analýza kinetických parametrov riasiniek pomocou virtuálnej inštrumentácie a metodikami spracovania obrazu.

# 4. VIRTUÁLNA INŠTRUMENTÁCIA

Pod virtuálnym prístrojom (Virtual Instrument) rozumieme softvérovú analógiu fyzického prístroja so všetkými jeho funkciami. Pomocou tvorby virtuálnych prístrojov možno pomocou univerzálnej meracej karty v počítači nasimulovať množstvo drahých meracích prístrojov. Užívateľ môže ľubovoľne meniť vzhľad, kontrolné a indikačné prvky tohto prístroja, čo virtuálnemu prístroju oproti reálnemu dáva vysoký stupeň flexibility. Vývojovým prostredím určeným na tvorbu virtuálnej inštrumentácie je aj LabVIEW od spoločnosti National Instruments.

LabVIEW (Laboratory Virtual Instruments Engineering Workbench) je grafické vývojové prostredie obsahujúce množstvo nástrojov a funkcií z oblasti merania, analýzy a prezentácie dát. Modul Vision zas obsahuje knižnicu výkonných nástrojov spracovania a analýzy obrazu a samostatnú aplikáciu Vision Assistant (slúži na vytvorenie kostry budúceho obrazového skriptu bez programovania).

Skript virtuálneho prístroja sa tvorí formou blokového diagramu (Block Diagram), ktorý pomocou ikon a farebných dátových liniek dáva skriptu veľkú prehľadnosť oproti klasickému textovému programovaciemu jazyku. Grafické rozhranie aplikácie / prístroja (Front Panel) sa generuje automaticky ku každému blokovému diagramu a obsahuje veľké množstvo kontrolných prvkov (konštanty, reťazce, polia, tlačidlá, prepínače, posuvníky) a indikačných prvkov (grafy, obrazové okná), [4].

# 5. AKVIZÍCIA VIDEOSEKVENCIÍ

Riešenie danej problematiky možno rozdeliť na niekoľko základných častí: akvizícia obrazu, predspracovanie obrazu a samotné vyhodnotenie parametrov kinetiky (frekvencie a trajektórie).

Medzi hardvérové prostriedky akvizície možno zahrnúť inverzný biologický svetelný mikroskop a monochromatickú kameru pripojenú k osobnému počítaču cez rozhranie IEEE 1394 (známe aj pod menom FireWire). LabVIEW aplikácia na zaznamenanie videosekvencie tvorí softvérovú časť akvizičného systému. Akvizičnú zostavu, taktiež prepojenie kamery na mikroskop možno vidieť na obr. 2 a 3.



Obr. 2 Inverzný mikroskop (MODEL IM 1C) Fig. 2 Inverse microscope (MODEL IM 1C)



Obr. 3 Šedotónová kamera AVT MARLIN F-046B

Fig. 3 Grey scale camera AVT MARLIN F-046B

Kamera umožňuje snímať šedotónový (8-bitový) obraz v dvoch základných formátoch (Format\_0 a Format\_7), ktoré sa odlišujú rozlíšením a jednotlivé módy udávajú FPS (snímkovaciu frekvenciu), ktorá sa dá nastaviť od hodnoty 3,75 po 60 FPS.

8-bitové videosekvencie sú postačujúce na ďalšiu analýzu, nakoľko množstvo základných obrazových nástrojov v prostredí LabVIEW je aplikovateľných práve na 8-bitový obraz.

Danú akvizičnú zostavu možno priamo aplikovať v medicínskom laboratórnom prostredí. Na test funkčnosti skriptov predspracovania obrazu a analýzy kinetických parametrov boli zaznamenané fantómové sekvencie bez použitia mikroskopu, ale aj s mikroskopom (pohyb mriežky, mriežkový fantóm), resp. videozáznamy riasinkového epitelu z internetu (obr. 1).

Základom aplikácie na snímanie sekvencie v LabVIEW je expresná funkcia na komunikáciu so zariadením na porte IEEE 1394 a kontrolné prvky umožňujúce nastavenie uzávierky kamery, formátu, FPS, jasu a počtu snímok (dĺžky sekvencie). Výsledný záznam je cez FOR slučku a komponent AVI Create zapísaný ako "surový" (nekomprimovaný) videozáznam vo formáte AVI. Na obr. 4 je znázornený Front Panel danej aplikácie.



Obr. 4 Front Panel skriptu na záznam sekvencie Fig. 4 Front Panel of script for frequency acquire

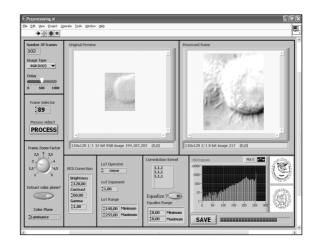
#### 6. PREDSPRACOVANIE VIDEOSEKVENCIÍ

Predspracovanie videosekvencie sleduje dva primárne ciele: skrátenie času analýzy a zvýšenie kvality analýzy parametrov kinetiky.

Čas potrebný na analýzu celej sekvencie možno redukovať odstránením nepotrebnej nasnímanej plochy, resp. odstránením časových intervalov neprispievajúcich k analýze. Z tohto hľadiska možno teda hovoriť o redukcii časovej (výber snímiek napr. od 7 po 153 z celej sekvencie) a redukcii priestorovej (na každej snímke zvolíme len určitú oblasť záujmu, napr. zameriame sa len na izolovanú riasin-

kovú bunku). Skript je veľmi jednoduchý a jeho výstupom je redukovaný originál sekvencie.

Dôležitým krokom je úprava intenzitných pomerov v obraze. Na obr. 5 je čelný panel aplikácie určenej na predspracovanie videoskevencie.



Obr. 5 Front Panel - Predspracovanie sekvencie Fig. 5 Front Panel - Sequence Preprocessing

Po načítaní videozáznamu je možné aplikovať nasledovné nástroje a operátory:

**Extrakcia šedej vrstvy** – z farebného záznamu vyberie

8-bitovú vrstvu, nakoľko väčšina nástrojov pracuje práve len s 8-bitovými obrázkami. Optimálna sa javí vrstva Luminance (vychádzajúc z modelu HSL – derivátu RGB). Dochádza k zanedbaniu informácie uloženej v textúrach, ktorá však nie je tak podstatná pri analýze ako informácia uložená v tvare a polohe objektov.

Lookup Table operátory – sú reprezentované prevodovou charakteristikou (lineárnou, po častiach lineárnou, nelineárnou) medzi originálnym a upraveným obrázkom. Upravujú intenzitné pomery v obraze, menia jas a kontrast. Na tomto princípe je založená aj BCG korekcia, čo je úprava jasu (B = brightness), kontrastu (C = contrast) a gama faktoru (G = gamma) [5]. Na obr. 6 sú najznámejšie prevodové charakteristiky. Lookup Exponent je premenná, ktorá udáva výsledný tvar základnej prevodovej krivky. LuT Range udáva intenzitný interval v pôvodnom obraze, na ktorom sa operátor uplatní.

Konvolučné filtrovanie – patrí medzi lineárne filtrovanie. Základom každého takéhoto filtra je maska (kernel). Rozmery masky musia byť nepárne (3 x 3, 5 x 5 a pod.), aby bol jednoznačne definovaný centrálny pixel. Princíp spočíva v tom, že kernel kĺže po obraze a na každej pozícii sa vypočíta súčet vážených súčinov (konvolúcia) medzi hodnotami intenzít a koeficientami kernelu, ktoré si vzájomne odpovedajú a výsledok sa zapíše na pozíciu centrálneho pixelu. Výsledok môže byť ešte vydelený tzv. nor-

malizačným faktorom N, ktorý je buď súčtom koeficientov kernelu, alebo jednotkou, [5].

LuT	Prenosová funkcia	Korekcia
Linear		Rovnomerne distribuuje intenzitu z vybraného intervalu na celý šedotó- nový interval 0 až 255
Logarithmic Power 1/Y Square Root		Zvyšuje jas a kontrast tmavých oblastí Znižuje kontrast jasných oblastí
Exponential Power Y Square		Znižuje jas a kontrast tmavých oblastí Zvyšuje kontrast jasných oblastí

Obr. 6 Štandardné LuT prevodové charakteristiky Fig. 6 Standard LuT transmission characteristics

Ekvalizácia - upravuje intenzity pixelov tak, že sú tieto rovnomerne distribuované v definovanom šedotónovom rozsahu, ktorý je 0 až 255 pre 8-bitový obrázok. Funkcia združuje rovnaké množstvá pixelov na konštantný šedotónový interval a tak umožňuje naplno získať všetky dostupné šedé odtiene. Túto transformáciu možno využiť na zvýšenie kontrastu v obrázkoch, ktoré nevyužívajú všetky šedé odtiene. Ekvalizácia však môže byť obmedzená iba na interval nazvaný Equalization Range. V tomto prípade funkcia rovnomerne distribuuje pixely práve z tohto intervalu pozdĺž úrovní 0 až 255. Ostatné pixely sú považované za nulové. Takto vytvorený obrázok odkrýva detaily, ktoré sú skryté v oblasti ekvalizačného intervalu, ostatné plochy sú zmazané.

**Histogram** – zobrazuje závislosť medzi intenzitou a početnosť ou pixelov prislúchajúcich danej intenzite. Dáva komplexný prehľad o obraze. Na základe histogramu možno aplikovať rôzne nástroje a postupy ako: filtrovanie šumu, segmentácia, úprava kontrastu a jasu, zvýraznenie detailov.

Aplikácia poskytuje veľké množstvo stupňov voľnosti pri úprave obrazu, filtre možno ľubovoľne kombinovať, čo umožňuje dosahovať veľké spektrum výsledných úprav obrazu. Po fáze predspracovania sa uložené video analyzuje poslednými aplikáciami.

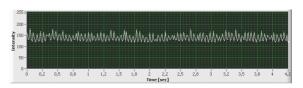
# 7. URČENIE FREKVENCIE KMITANIA CÍLIÍ

Zdravé riasinky vykonávajú spojitý synchronizovaný pohyb určitej frekvencie. Parameter frekvencie sa často v odbornej literatúre označuje CBF (Cilia Beat Frequency). Na meranie frekvencie kmitania bola zvolená tzv. intenzitná metóda. V tejto metóde sa v primeranom okolí kmitajúcej riasinky vytvorí oblasť záujmu (ROI). Kmitaním riasinky cez

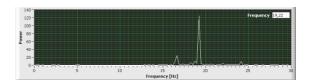
zvolenú oblasť sa menia parametre priemernej intenzity oblasti.

Priemerná intenzita sa vypočíta ako suma okamžitých intenzít v oblasti podelená počtom pixelov zvolenej oblasti. Nanesením priemerných inteznít oblasti z každej snímky videozáznamu do grafu dostávame periodickú krivku, ktorú možno spracovávať nástrojmi signálovej analýzy.

Frekvenčné spektrum kmitania možno získať aplikáciou rýchlej Fourierovej transformácie (FFT), resp. možno použiť aj výkonovú spektrálnu hustotu (PSD), čo je FFT aplikovaná na autokoreláciu daného priebehu. Na obr. 7 je graf priemernej intenzity zvolenej oblasti naprieč celým videozáznamom a na obr. 8 PSD daného priebehu. Meranie bolo realizované na vzorových videozáznamoch z internetu a frekvencia bola stanovená v okolí 17 – 18 Hz, čo odpovedá teórii z fyziológie.

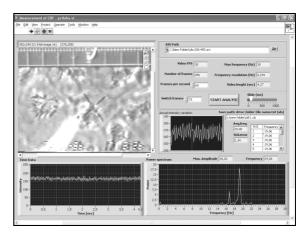


Obr. 7 Graf meniacej sa priemernej intenzity ROI Fig. 7 Diagram of varied intensity ROI



Obr. 8 PSD distribucia Fig. 8 PSD distribution

Výsledky meraní možno zaznamenať formou Excelovských tabuliek, nakoľko LabVIEW obsahuje komponenty spolupracujúce s balíkom MS Office. Na obr. 9 je Front Panel aplikácie vyhodnocujúcej frekvenciu kmitania riasiniek.



Obr. 9 Analýza frekvencie kmitania riasinky Fig. 9 Frequency analysis of cilia

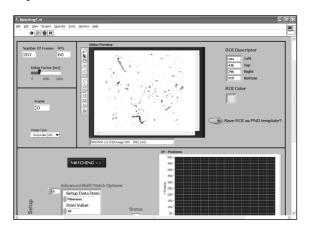
Druhý parameter – trajektóriu pohybu vyhodnocuje skript používajúci detekciu obrazcov.

# 8. URČENIE TRAJEKTÓRIE POHYBU CÍLIÍ

Základom analýzy trajektórie pohybu objektu je nástroj Pattern Matching. Je to nástroj, ktorý na každej snímke videozáznamu nájde definovanú šablónu (Template).

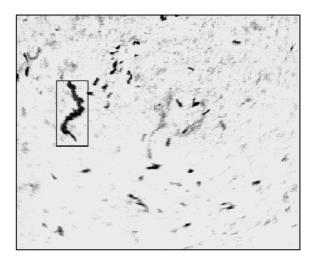
Pattern Matching je súbor algoritmov založených na rôznych technikách. Najznámejšou je výpočet krížovej korelácie medzi šablónou a obrazom. Výpočet korelácie pozostáva z veľkého počtu elementárnych násobení, je časovo náročný a dokáže nájsť elementy, ktoré nie sú oproti šablóne rotované (max. 5 – 10°) a nie sú v určitom veľkostnom pomere [5]. V praxi sa používajú preto techniky pracujúce s frekvenčnou oblasťou, pyramídový matching alebo inteligentné postupy, [5].

Experiment s detekciou trajektórie bol primárne testovaný na fantómovom videozázname, v ktorom sa sledovaný objekt pohyboval po kružnici. Na obr. 10 je čelný panel aplikácie na vyhodnotenie trajektórie, na obr. 11, 12 a 13 postupne záber z fantómového videozáznamu, graf trajektórie a graf uhlovej trajektórie.



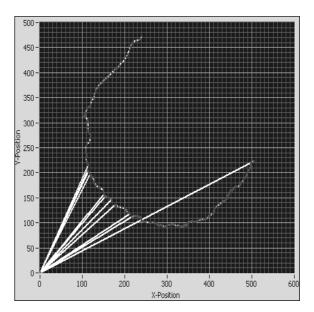
Obr. 10 Aplikácia na analýzu trajektórie pohyb Fig. 10 Trajectory moving analysis-Application

Jednotlivé body trajektórie (na grafe prerušovaná krivka) predstavujú stredy oblastí detekovaných ako šablóna v obraze. Nachádzajú sa tu však aj detekčné chyby (systém čiar smerujúcich do počiatku súradnicového systému). Detekčné chyby vznikli na základe faktu, že určité snímky vo videozázname sú značne rozostrené, aj keď boli zvolené pomerne vysoké hodnoty FPS (30 a 60) u nekomprimovaného záznamu. Dané detekčné chyby možno v budúcnosti nahradiť lokálnym spriemerovaním na niekoľkých bodoch, prípadne interpolačnými metódami.

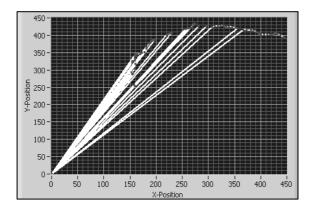


Obr. 11 Záber z fantómového videozáznamu s vyznačenou šablónou vyhľadávania Fig. 11 Videorecording of phantom with marked stricle of searching

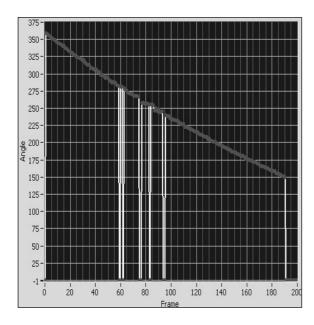
Výsledky detekcie na riasinkovom videozázname boli spornejšie, často chaotické. Dôvodom bola znížená kvalita videozáznamov z internetu (stratový formát MPEG, malé rozlíšenie). Ku chybnej detekcii prispel aj výskyt veľkého počtu takmer identických objektov na malej ploche. Výsledok takejto detekcie možno vidieť na Obr. 14.



Obr. 12 Graf trajektórie pohybu po kružnici Fig. 12 Diagram - Circle trajectory moving



Obr. 13 Uhlová trajektória Fig. 13 Angle trajectory



Obr. 14 Trajektória u reálneho záznamu Fig. 14 Trajectory of real video recording

# 9. ZÁVER

Vyhodnocovanie parametrov kinetiky cílií dýchacieho epitelu má význam pri diagnostike primárnej ciliárnej dyskinézie. Použitím metód snímania a spracovania obrazu možno získať databázu videosekvencií, z ktorých sa získajú referenčné hodnoty pre analýzu kmitania a pohybu cílií. Z uvedených výsledkov vyplýva, že prístup pomocou obrazovej

metódy Pattern Matching sa javí ako vhodný pri použití fantómových videosekvencií. Vzhľadom na fakt, že zatiaľ neboli k dispozícií reálne medicínske videá, sa meranie realizovalo výhadne na fantómoch, prípadne ilustračných videách získaných z internetu.

Pre stanovenie optimálnych nastavení a odstránenie chybných detekcií Pattern Matchingu je potrebné získať spomínanú databázu záznamov, ktorá bude slúžiť ako spätná väzba pri snímaní ďalších videozáznamov. Z realizovaných meraní vyplynulo, že najvhodnejšie videosekvencie na analýzu sú nekomprimované, neprekladané s vysokým rozlíšením (720 x 576), resp. videosekvencie s rýchlosťou záznamu (30 – 60) FPS.

#### POĎAKOVANIE

Dosiahnuté výsledky uvedené v článku vznikli vďaka finančnej podpore z projektu VEGA č. 1/3107/06 z grantovej agentúry VEGA, projektu APVV č. APVV-20-051 705, LPP-0237-06 a spolupráce s Jesseniovou lekárskou fakultou Univerzity Komenského v Martine

#### ACKNOWLEDGEMENT

These work and results were obtained thanks to support of project VEGA Nr. 1/3107/06, project APVV agency Nr. APVV-20-051 705, LPP-0237-06 and cooperation with Jessenius Medical Faculty Commenius University Martin

# LITERATÚRA

- [1] http://www.lf3.cuni.cz/histologie/doc Skripta\_16.pdf (31. 5. 2007)
- [2] JAVORKA, K. a kol.: Lekárska fyziológia. Martin. Osveta. 2001
- [3] KONIAR, D., HARGAŠ, L., BELÁNIK, HRIANKA, M.: Analýza kinetiky cílií dýchacieho epitelu pomocou virtuálnej inštrumentácie. Medzinárodná konferencia MMaMS 2007, TU Košice – Herľany 2007
- [4] NI Measurement Catalog
- [5] NI Vision Concepts Manual (pdf, 2005)
- [6] http://www.mikroskopy.cz/nikon.pdf

(06.02.06)