

Метод определения формулы белой крови

10, октябрь 2012

DOI: 10.7463/1012.0465287

Штадельманн Ж. В., Спиридонов И. Н.

УДК 57.087, 004.932

Россия, МГТУ им. Н.Э. Баумана

joel.stadelmann@gmail.com

Введение

Клинический анализ крови, является наиболее распространенным в клинической практике. Отклонения относительных соотношений разных типов лейкоцитов отражают состояние человека, поэтому определение формулы белой крови используется при диагностике большинства заболеваний [1, 2]. Существуют различные системы автоматизированного подсчёта лейкоцитов. Однако анализ электродинамических характеристик, оптических свойств, лежащих в основе автоматизированных систем для лабораторного анализа, не позволяет описать морфологические параметры клеток, которые требуются для определения формулы белой крови [3]. Поэтому визуальный подсчёт лейкоцитов под микроскопом и сегодня считается «золотым стандартом» клинического исследования. В тоже время число лейкоцитов, подсчитываемых при визуальном анализе (100-200 клеток), не обеспечивает статистическую достоверность результатов, а увеличение данного числа приводит к существенному повышению трудоемкости и длительности визуального анализа [4, 5]. Поэтому создание системы автоматического подсчёта лейкоцитов по препаратам крови является безусловно актуальным.

1. Метод

При определении формулы белой крови учитываются пять типов лейкоцитов [6] (Рисунок 1):

- Эозинофилы, составляющие до 5% лейкоцитов;
- Лимфоциты, составляющие от 18 до 40% лейкоцитов;

- Моноциты, составляющие от 2 до 9% лейкоцитов;
- Нейтрофилы, составляющие от 45 до 70% лейкоцитов;
- Базофилы, составляющие менее 1% лейкоцитов.

Так как базофилы редко встречаются в периферической крови, они были исключены из классификации [6, 7].

В настоящее, визуальный метод является единственным практическим методом определение формулы крови. Современные автоматизированные системы анализа используют визуального анализа под микроскопом и в тех случаях, когда результаты проточных методов отличаются от приятных гематологических норм [3, 7].

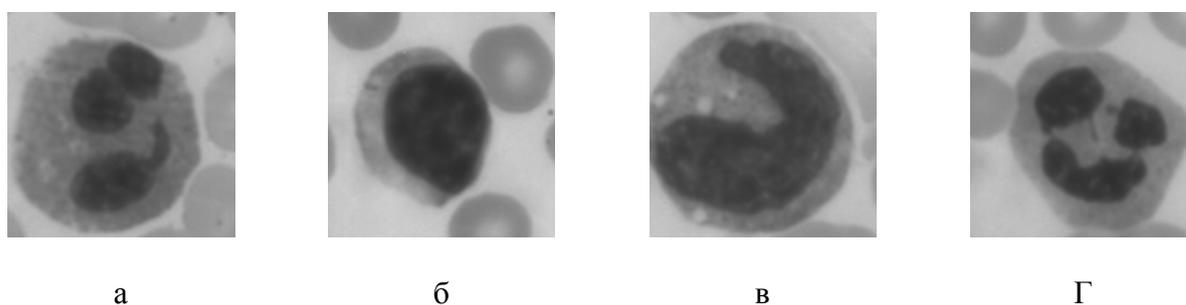


Рисунок 1 а: эозинофил; б: лимфоцит; в: моноцит; г: нейтрофил.

Для автоматизации анализа мазков крови целесообразно использовать методы и алгоритмы компьютерного зрения. Автоматический анализ невозможен без оценки качества изображений препаратов [8]. Для мазков крови критерием качества является наличие области монослоя клеток [9]. Далее решается задача обнаружения лейкоцитов, после которой необходима сегментация обнаруженных лейкоцитов, с выделением областей ядра и цитоплазмы [9]. Методы и система обнаружения лейкоцитов по изображениям препаратов крови были представлены в [10]. По сегментированному изображению лейкоцита рассчитывается комплекс морфологических характеристик, который используется для ее классификации [11].

2. Сегментация

Сегментация клеток является необходимым этапом перед их обработкой. Результатом сегментации являются выделения отдельных изображений ядра и цитоплазмы анализируемого лейкоциты.

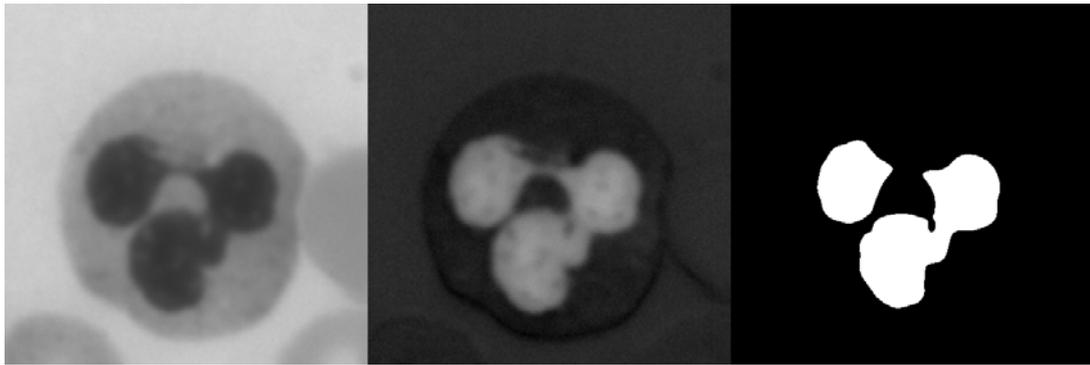


Рисунок 2 - Пороговая сегментация по каналу насыщенность (центр).

Так как цветная насыщенность S была экспериментально установлена наиболее информативной для ядер, их сегментация эффективно проводится с использованием преобразования цветного пространства с RGB на HSV (Рисунок 2). Применение сглаженного фильтра Гаусса перед сегментацией позволяет избежать вариаций ядра в канале насыщенности. Использованный порог, $0.4 S_{\max}$, позволяет получить изображения ядра лейкоцита.

Сегментация цитоплазмы проводится на основе энтропии Шэннона и фильтров выделения границ. Так как межклеточное пространство имеет случайный характер, последовательный расчет второй производной и локальной энтропии в 9×9 пикселей окрестности позволяет найти его отличие от исследуемой цитоплазмы на изображении. Однако на изображениях мазков крови присутствуют одновременно цитоплазмы лейкоцитов и эритроцитов. Поэтому локализация лейкоцитов определяется по наличию ядер. Их отделение от клеток, находящихся в контакте с ними, проводится с объединённым фильтром, реализованным алгоритмом обнаружения границ Собеля, чувствительного к границам цитоплазм с межклеточным пространством и алгоритмом обнаружения границ Кэнни, чувствительного к границам цитоплазм, а также ядер с цитоплазмами (Рисунок 3).

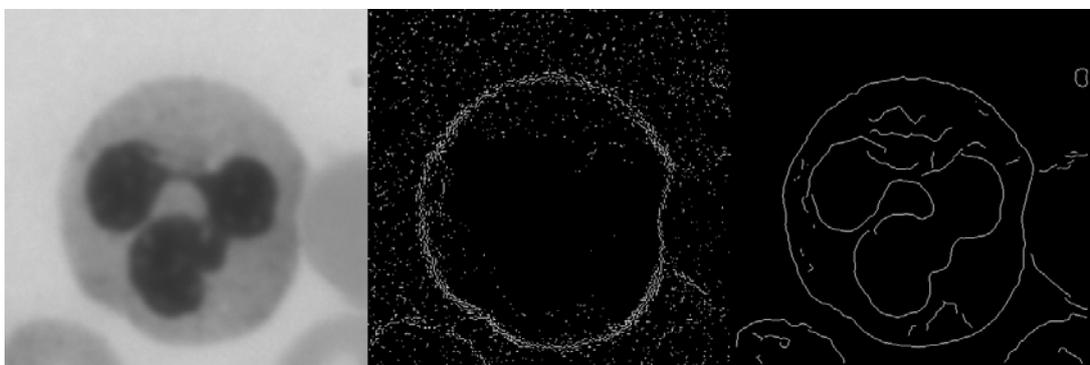


Рисунок 3 - Обнаружения границ по Собелю и Кэнни позволяет отличить границу цитоплазмы от границы ядра.

3. Характеристики клеток

Характеристиками называют особенности клеток, которые поддаются количественному измерению. При условии, что клетки одного типа имеют относительно характеристики статистические свойства, моделируемые некоторым распределением, появляется возможность определить вероятность принадлежности одной клетки к особому классу лейкоцита. Однако статистическое моделирование характеристики лейкоцитов не позволяет обнаружить и сегментировать атипичные клетки, например, лимфоцит необычного большего размера, совпадающий по размеру с эозинофилом. Полагая, что статистические характеристики клеток отличаются между собой только для одной характеристики, увеличение их числа характеристик позволяет улучшить результаты классификации. Следовательно, требуется адекватный подбор характеристик, играющий решающую роль в увеличении вероятности правильной классификации и в эффективности автоматической системы вычисления формулы белой крови.

Предлагается использовать следующий набор характеристик для классификации лейкоцитов [12, 13]:

- текстура ядра и цитоплазмы;
- оконтуривание ядра;
- площадь и периметр ядра;
- число Эйлера цитоплазмы;
- цвет цитоплазмы.

3.1. Текстурные характеристики

Анализ текстурных характеристик изображения может быть проведён с использованием полутоновой матрицы смежности [14]. Эта матрица рассчитывается для каждого изображения для оценки частоты встречаемости последовательностей пикселей. При этом направление последовательности и расстояние между двумя создающими её пикселями могут быть различными.

По полутоновой матрице смежности рассчитываются следующие характеристики текстуры изображения [15]:

1. Контраст

$$\sum_{i,j} |i - j|^2 \cdot p(i, j)$$

2. Корреляция

$$\sum_{i,j} \frac{(i - \mu_i) \cdot (j - \mu_j) \cdot p(i, j)}{\sigma_i \cdot \sigma_j}$$

3. Энергия

$$\sum_{i,j} p(i, j)^2$$

4. Гомогенность

$$\sum_{i,j} \frac{p(i, j)}{1 + |i - j|}$$

где $p(i, j)$ – элемент полутоновой матрицы смежности; μ , σ – соответствующие среднее значение и СКО элементов полутоновой матрицы смежности.

Из-за зависимости характеристик текстур от направления, они были рассчитаны для 4-х направлений: под углом 0° , 45° , 90° и 135° к вертикали и затем усреднены.

Для анализа ядерных текстур, размер текстурного элемента был выбран равным 140 пикселям. Также использовались только «Энергия», «Корреляция» и «Контраст».

Для анализа текстур цитоплазмы, размер текстурного элемента был выбран равным 70 пикселям. Все четыре предлагаемых характеристики были использованы для классификации.

3.2. Оконтуривание ядра

Оконтуривание является топологическим методом, позволяющим описывать формы основными линиями. Хотя все клетки крови имеют приближённую круглую форму, их ядра сильно отличаются по форме, поэтому они детально описаны характеристиками их основных линий.

Основную линию ядер получают разными методами, среди которых можно выделить метод преобразования расстояния [13].

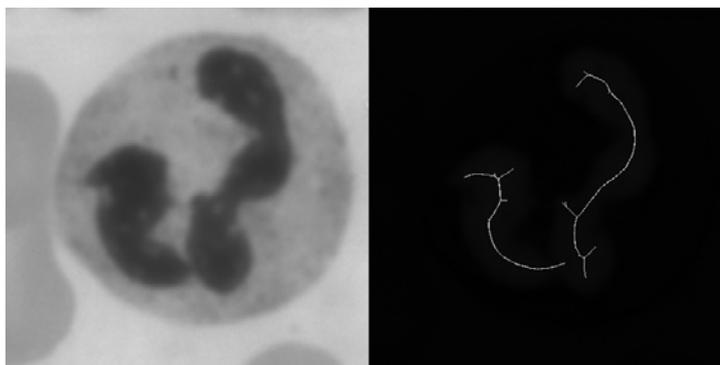


Рисунок 4 - Нейтрофил и соответствующая основная линия.

Так как процесс оконтуривания чувствителен к шуму, необходима фильтрация Гаусса и заполнения лакун, что позволяет избежать искажений, происходящих из вариации насыщенности изображения ядра. Центр преобразования расстояния изображения совпадает с основной линией ядра. Использование порогов при преобразовании изображения, после применение оператора Лапласа, дает приемлемое приближение центра, и таким образом получается основной контур (Рисунок 4).

Оконтуривание дает возможность определить такие характеристики ядра, как:

- среднее расстояние от центра ядра до цитоплазмы;
- количество бифуркации и окончаний основной линии;
- эксцентриситет эллипса, ограничивающего ядро.

3.3. Общие характеристики клеток

Существует подбор так называемых «общих» характеристик, которые описывают лейкоциты и позволяют их классификации:

- площадь ядра, рассчитана во время оконтуривание в канале насыщенности S;
- отношение площади к периметру ядра, также рассчитано в канале насыщенности S во время оконтуривание;
- топологическое число Эйлера, получено после сегментации цитоплазма и описывает количество лакун в цитоплазме и, следовательно, долей ядра;
- средние величины цитоплазмы по цветным каналам: было доказано экспериментально, что наиболее информативные каналы были насыщенность V и тон H. Так как ядра походи по цвету, цвет было использовано только для цитоплазмы.

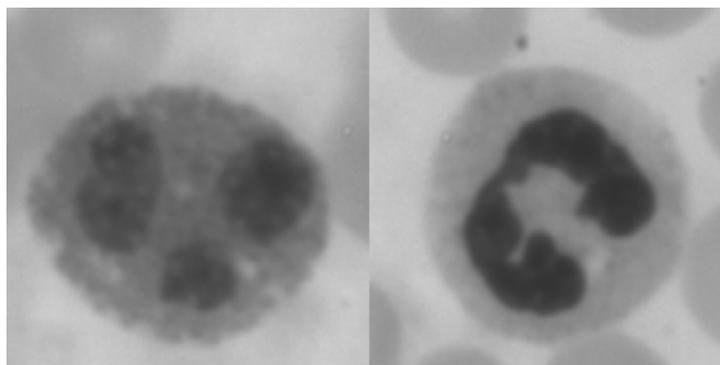


Рисунок 5 - Эозинофил (на лев.), имеющий число Эйлера нейтрофила, и наоборот.

4. Анализ полученных результатов

Указанные выше параметры описывают особенность клетки. Например, в случае оконтуривания, количество минущии зависит от шума изображения ядра, который отражает вариации цветовой насыщенности в случае моноцитов и также нерегулярность контура эозинофилов, следующую из влияния гранул цитоплазмы на форму ядра. По основному контуру можно отличить моноциты от эозинофилов, так как эозинофилы – гранулоциты, а моноциты – агранулоциты. Следовательно, среднее расстояние от центра ядра до цитоплазмы будет меньше в случае эозинофила, из-за междольчатого моста. Эксцентриситет окружающего эллипса позволяет отличить лимфоциты от других лейкоцитов.

С использованием одного оконтуривания невозможно отличить нейтрофилы от эозинофилов. Так как оба являются гранулоцитами, их основные линии имеют подобные характеристики. Классификация этих типов может проводиться с использованием числа Эйлера, который отражает количество долей ядра. Однако количество долей не является абсолютной характеристикой лейкоцитов (Рисунок 5), поэтому требуется использовать характеристики цитоплазмы, такие как текстура, размер гранул и цвет, используемый при визуальной классификации.

Заключения

Проведенные работы позволили предложить метод классификации лейкоцитов. В работе рассмотрена сегментация цитоплазмы и ядра анализируемого лейкоцита и также получение характеристик, позволяющих автоматически классифицировать лейкоциты. Эти характеристики были выбраны таким способом, чтобы они описывали широкий спектр особенностей лейкоцитов.

Список литературы

1. Cornbleet J. Clinical Utility of the Band Count // *Clinics in Laboratory Medicine*. 2002. Vol. 22, № 1. P. 101-136. [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-2712\(03\)00069-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-2712(03)00069-6)
2. Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Уколова М. А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та, 1990. 224 с.
3. Hyun B.H., Gulati G.L., Ashton J.K. Differential Leukocyte Count: Manual or Automated, What Should It Be? // *Yonsei Medical Journal*. 1991. Vol. 32, no. 4. P. 283-291.
4. O'Neil P., Vital E., Betancourt-Loria N., Dinah M. Performance Evaluation of the Complete Blood Count and White Blood Cell Differential Parameters on the AcT 5diff Hematology Analyzer // *Laboratory Hematology*. 2001. No. 7. P. 116-124.
5. Сафонова Л.П. Пространственно-частотный анализ форменных элементов крови : дисс. ... канд. техн. наук. М.: МГТУ им. Н.Э.Баумана, 1998. 166 с.
6. Козинец Г.И. Атлас клеток крови и костного мозга. М.: Издательство «Триада – X», 1998. 160 с.
7. Webster J.G., ed. *Medical instrumentation : Application and design*. 4th edition. Wiley and Sons, 2009. 713 p.
8. Самородов А.В. Оценка качества цитологических препаратов // *Биомедицинская радиоэлектроника*. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2008. № 10. С. 39-45.
9. Самородов А.В. Автоматизированный морфологический анализ цитологических препаратов // *Биомедицинская радиоэлектроника*. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2009. № 10. С. 35-41.
10. Штадельманн Ж.В, Спиридонов И.Н. Метод автоматизированного обнаружения лейкоцитов на изображениях мазков крови на основе бустинга. М.: Медицинская техника. В публикации.
11. Suri J.S, Wilson D.L, Laxminarayan S., eds. *Handbook of Biomedical Image Analysis*. Volumes I & II. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2005.
12. Штадельманн Ж.В, Самородов А.В, Спиридонов И.Н. Классификация лейкоцитов с использованием текстурных характеристик их ядер // 12-я Науч.-тех. конф. "Медико-технические технологии на страже здоровья" ("МЕДТЕХ-2010") (Кипр, 25 сентября - 2 октября 2010 г.) : сб. трудов. М.: НИИ РЛ МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2010. С. 95-99.
13. Stadelmann J.V., Spiridonov I.N., Samorodov A.V. Leukocyte classification based on nucleus skeletonization // *Proceedings of the 6th Russian-Bavarian Conference on Bio-Engineering*. Moscow, 2010. P. 35-37.
14. Tuceryan M., Jain A.K. *Texture Analysis* // *The Handbook of Pattern Recognition and Computer Vision* / C.H. Chen, L.F. Pau, P.S.P. Wang (eds.). 2nd edition. Singapore: World Scientific Publishing Company, 1998, pp. 207-248.
15. Yogesan K., Jorgensen T., Albregtsen F., Tvetter K.J., Danielsen H.E. Entropy-Based Texture Analysis of Chromatin Structure in Advanced Prostate Cancer // *Cytometry*. 1996. No. 24. P. 268-276.

Method of determining the formula of white blood

10, October 2012

DOI: 10.7463/1012.0465287

Shtadel'mann J.V., Spiridonov I. N.

Russia, Bauman Moscow State Technical University

joel.stadelmann@gmail.com

Differential count is one of the main stages of a blood test. In this paper the authors consider methods of determining the formula of white blood on the basis of images of medications, the method of segmentation of nuclei and cytoplasm, and features used for classification.

Publications with keywords: [image](#), [blood smear](#), [blood cells](#), [leukocyte](#), [blood formula](#)

Publications with words: [image](#), [blood smear](#), [blood cells](#), [leukocyte](#), [blood formula](#)

References

1. Cornbleet J. Clinical Utility of the Band Count. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2002, vol. 22, no. 1, pp. 101-136. [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-2712\(03\)00069-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-2712(03)00069-6)
2. Garkavi L. Kh., Kvakina E. B., Ukolova M. A. *Adaptatsionnye reaktsii i rezistentnost' organizma* [Adaptation reactions and resistance of the organism]. Rostov-on-Don, Rostov University Publ., 1990. 224 p.
3. Hyun B.H., Gulati G.L., Ashton J.K. Differential Leukocyte Count: Manual or Automated, What Should It Be?. *Yonsei Medical Journal*, 1991, vol. 32, no. 4, pp. 283-291.
4. O'Neil P., Vital E., Betancourt-Loria N., Dinah M. Performance Evaluation of the Complete Blood Count and White Blood Cell Differential Parameters on the AcT 5diff Hematology Analyzer. *Laboratory Hematology*, 2001, no. 7, pp. 116-124.
5. Safonova L.P. *Prostranstvenno-chastotnyi analiz formennykh elementov krovi. Kand. diss.* [Spatial-frequency analysis of the formed elements of blood. Cand. diss.]. Moscow, Bauman MSTU, 1998. 166 p.
6. Kozinets G.I. *Atlas kletok krovi i kostnogo mozga* [Atlas of blood cells and bone marrow]. Moscow, Izdatel'stvo «Triada – Kh», 1998. 160 p.

7. Webster J.G., ed. *Medical instrumentation : Application and design*. 4th ed. Wiley and Sons, 2009. 713 p.
8. Samorodov A.V. Otsenka kachestva tsitologicheskikh preparatov [Assessment of the quality of cytological preparations]. *Biomeditsinskaia radioelektronika. Biomeditsinskie tekhnologii i radioelektronika* [Biomedical radioelectronics. Biomedical technology and radioelectronics], 2008, no. 10, pp. 39-45.
9. Samorodov A.V. Avtomatizirovannyi morfologicheskii analiz tsitologicheskikh preparatov [Automated morphological analysis of cytological preparations]. *Biomeditsinskaia radioelektronika. Biomeditsinskie tekhnologii i radioelektronika* [Biomedical radioelectronics. Biomedical technology and radioelectronics], 2009, no. 10, pp. 35-41.
10. Shtadel'mann Zh.V., Spiridonov I.N. *Metod avtomatizirovannogo obnaruzheniia leukotsitov na izobrazheniiakh mazkov krovi na osnove busting* [Method of computer-aided detection of leukocytes in the images of smear of blood on the basis of boosting]. Moscow, Meditsinskaia tekhnika. In the publication.
11. Suri J.S, Wilson D.L, Laxminarayan S., eds. *Handbook of Biomedical Image Analysis. Vols1 & 2*. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2005.
12. Shtadel'mann Zh.V., Samorodov A.V., Spiridonov I.N. Klassifikatsiia leukotsitov s ispol'zovaniem teksturnykh kharakteristik ikh iader [Classification of leukocytes using texture characteristics of their nuclei]. *12-ia Nauch.-tekhn. konf. "Mediko-tekhnicheskie tekhnologii na strazhe zdorov'ia" ("MEDTEKh-2010"): sb. trudov* [12th Scientific-tech. conf. "Medical-technical technologies on the guard of health" ("MEDTECH 2010"): collection of papers]. Cyprus, 25 September - 2 October 2010. Moscow, Research Institute of Radiolocation of Bauman MSTU Publ., 2010, pp. 95-99.
13. Stadelmann J.V., Spiridonov I.N., Samorodov A.V. Leukocyte classification based on nucleus skeletization. *Proceedings of the 6th Russian-Bavarian Conference on Bio-Engineering*. Moscow, 2010, pp. 35-37.
14. Tuceryan M., Jain A.K. Texture Analysis. In book: Chen C.H., Pau L.F., Wang P.P.S., eds. *The Handbook of Pattern Recognition and Computer Vision*. 2nd edition. Singapore, World Scientific Publishing Company, 1998, pp. 207-248.
15. Yogesan K., Jorgensen T., Albregtsen F., Tveter K.J., Danielsen H.E. Entropy-Based Texture Analysis of Chromatin Structure in Advanced Prostate Cancer. *Cytometry*, 1996, no. 24, pp. 268-276.