

Komputerowy system wspomagania diagnostyki nasienia

Computer system for semen quality assessment

Łukasz Witkowski

Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej, Polska Akademia Nauk, ul. ks. Trojdena 4, Warszawa 02-109, tel. +48 (0) 22 659 91 43 wew. 124, e-mail: lwitkowski@ibib.waw.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono kompletny system do komputerowego wspomagania diagnozy andrologicznej. System składa się z trzech modułów przeznaczonych do analizy ruchu, wyliczenia gęstości oraz badań morfologicznych plemników. System współpracuje z mikroskopem optycznym z optyką jasnego pola.

Słowa kluczowe: komputerowe przetwarzanie i rozpoznawanie obrazów, nasienie

Abstract

A computer system for semen quality assessment is presented. The system consists of three modules for mobility assessment, density calculation and morphology examination. The system uses an optical microscope with bright field optics.

Key words: computer-aided image processing and image recognition, semen

Wprowadzenie

Wieloletnie obserwacje prowadzone przez Światową Organizację Zdrowia wykazały, że w przypadku ~30% par przyczyną bezdzietności z powodu niemożności zajścia w ciążę jest niepłodność męczyzny [1]. Opracowano standardy oceny nasienia, pozwalające określić płodność. Przyjmuje się, że prawidłowe nasienie męczyzny płodnego charakteryzuje się następującymi cechami [2]:

- objętość ejakulatu w zakresie 4 ± 2 mililitry,
- gęstość od 20 do 250 milionów plemników w 1 mililitrze ejakulatu,
- ruchliwość plemników: co najmniej 50% plemników prawidłowych oraz co najmniej 25% plemników o prawidłowym ruchu, tj. liniowo-postępowym szybkim,
- co najmniej 30% plemników o prawidłowej budowie.

Obecnie do diagnozy jakości nasienia stosuje się analizę optyczną. Androlog obserwuje preparaty nasienia i szacuje wartości parametrów, następnie stawia diagnozę. W klasycznej analizie nie ma możliwości rejestracji obrazów ani powtórzenia badania.

W latach 80. podjęto próby opracowania systemów do badania jakości nasienia, w wyniku których powstało kilka rozwiązań. Niestety zarówno sprzęt komputerowy, jak i dostępne algorytmy nie pozwalały na dokładne oszacowanie parametrów nasienia. Plemniki rozpoznawano na podstawie pola powierzchni, co prowadziło do błędów zarówno w obliczaniu gęstości: jako plemniki klasyfikowane

były inne obiekty (jak np. komórki okrągłe – niewykształcone plemniki), co zawyżało gęstość, jak i w ocenie ruchliwości: źle zaklasyfikowane obiekty zawyżały frakcję plemników nieruchomych [3].

Dalszy postęp technologiczny oraz w zakresie algorytmów pozwolił na opracowanie systemu, który rozpoznaje plemniki, a następnie wylicza wartości parametrów nasienia.

Budowa systemu

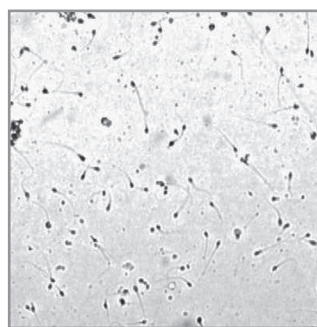
System składa się z komputera PC z zainstalowanym frame-grabberem. Do frame-grabbera dołączono monochromatyczną, 8-bitową kamerę CCD zainstalowaną w mikroskopie optycznym. Mikroskop optyczny wyposażono w optykę jasnego pola oraz dwa obiektywy: o powiększeniu 10- i 40-krotnym. System umożliwia rejestrację pojedynczych obrazów oraz ich sekwencji. Każdy obraz składa się z dwóch części – jedna uwzględnia linie parzyste, druga nieparzyste. Złożony obraz utrudnia analizę komputerową, dlatego przed przetwarzaniem dekomponowany jest na dwie części (półobrazy).

Moduł analizy ruchliwości

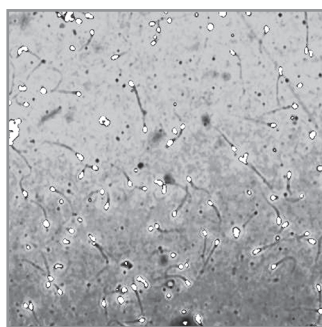
W przypadku wyliczania parametrów ruchliwości rejestrowane są 5-sekundowe sekwencje obrazów żywego nasienia w powiększeniu 10-krotnym, z częstotliwością 50 Hz (analizowanych jest 250 obrazów). Dla jednego pacjenta rejestruje się od 3 do 5 sekwencji.

W celu określenia ruchliwości plemników w próbce nasienia wyznacza się trajektorie ruchu oraz wylicza parametry ruchu. Plemniki przyporządkowuje się do klas ruchu (zgodnie z wytycznymi WHO). Na podstawie analizy określa się procentowy udział klas ruchu dla każdej sekwencji pacjenta. Zarejestrowane obrazy charakteryzują się małym kontrastem pomiędzy tłem i obiektami – plemniki wraz z wtkami są ciemniejsze niż tło. Przykład zarejestrowanego obrazu przedstawiono na rys. 1.

Aby wydzielić obiekty z tła, obraz przetwarzany jest globalnie, stosując filtr medianowy o rozmiarze 3×3 piksele (ujednolica to tło przy jednoczesnym zachowaniu krawędzi obiektów – większy rozmiar filtra rozmywał krawędzie oraz dwukrotnie większym [4]. Aby uniknąć przepełnienia, rozmiar piksela jest zwiększany z 8 bitów do 16. Następnie przeprowadzana jest segmentacja obrazu: wykonanie progowania ze stałą



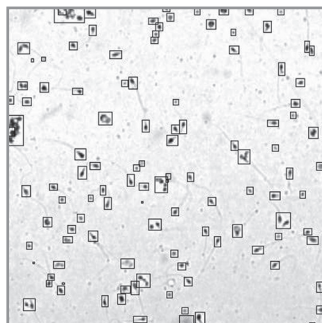
Rys. 1 Zarejestrowany obraz plemników



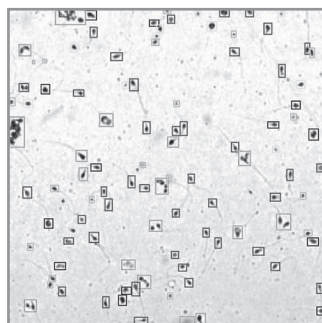
Rys. 2 Przetworzony obraz



Rys. 3 Obraz po progowaniu



Rys. 4 Obraz z wyznaczonymi ROI



Rys. 5 Sklasyfikowane obiekty

wartością progu (ustaloną empirycznie) dzieli obraz na tło i obiekty [4, 5]. Na rys. 2 przedstawiono przetworzony obraz, natomiast rys. 3 przedstawia obraz po progowaniu.

Kolejnym etapem jest klasyfikacja obiektów. W tym celu dla każdego obiektu wyznaczany jest obszar zainteresowania (ROI) [6]: prostokąt opisany na obiekcie i powiększony we wszystkich kierunkach. Na rys. 4 przedstawiono oryginalny obraz wraz z wyznaczonymi ROI.

Następnie obraz zawarty w obszarze zainteresowania jest przekształcany lokalnie, w celu wyznaczenia konturów obiektów. Oryginalny obraz zawarty w obszarze zainteresowania jest przetwarzany przez filtr medianowy 3 x 3 i podnoszony do kwadratu [4, 5]. Następnie wyliczany jest histogram obszaru zainteresowania oraz jego maksymalna wartość: pozwala to na rozciągnięcie histogramu z nasyceniem tła. Wszystkie piksele o wartości większej niż maksymalna wartość histogramu przyjmują wartość 255.

Przekształcenie to jest realizowane za pomocą wzoru (1):

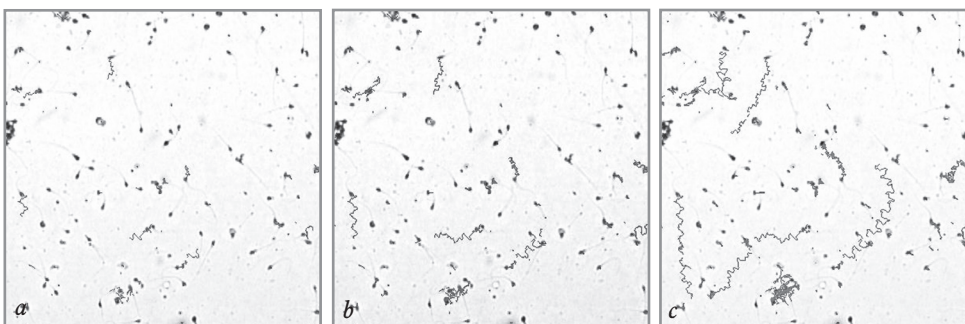
$$f(x_{i,j}) = \begin{cases} 255 & \text{dla } x_{i,j} \in [0, \text{MaxCntValue}], \\ x_{i,j} * \frac{255}{\text{MaxCntValue}} & \text{dla } x_{i,j} \in (\text{MaxCntValue}, 255] \end{cases} \quad (1)$$

gdzie: i, j współrzędne piksela, MaxCntValue – poziom szarości, dla którego występuje maksimum histogramu.

Na otrzymanym obrazie znajduje się obiekt na jasnym tle. Aby wyznaczyć jego obszar, znajdowany jest najciemniejszy punkt obrazu i po starciu z niego następuje rekurencyjne wypełnienie obiektu.

Powyzszy algorytm stosowany jest dla każdego z obszarów zainteresowania.

Prawidłowy plemnik na obrazach charakteryzuje się podłużnym



Rys. 6 Trajektorie dla sekwencji 50 (a), 100 (b) i 150 (c) obrazów

kształtem, polem powierzchni od 40 do 60 pikseli oraz obecnością witek.

Odnajdzone obiekty są klasyfikowane jako:

- obiekt duży (pole powierzchni większe niż 60 pikseli),
- obiekt mały (pole powierzchni mniejsze niż 40 pikseli),
- obiekt okrągły (gdy wyznaczony kontur pokrywa się z okręgiem opisanym na obiekcie),
- plemnik (pole powierzchni w zakresie 40-60 pikseli, nie jest obiektem okrągłym, w pobliżu znajdująca jest witka),
- inne obiekty (brak witek).

Dla każdego z obrazów sekwencji wykonywane są operacje odnajdywania i klasyfikowania obiektów oraz wyznaczania ich środków ciężkości. Środki te są łączone na kolejnych obrazach w trajektorie. Przy odnajdywaniu trajektorii sprawdzane są następujące warunki: piksel nie może się przemieścić więcej niż 7 pikseli, plemnik porusza się w jednym kierunku – nie jest możliwa nagła zmiana kierunku ruchu [2]. Na rys. 6 przedstawiono trajektorie wyznaczone w serii 50, 100 i 150 obrazów.

Dla każdej z trajektorii wyliczane są następujące parametry wymagane przez WHO [1, 3]:

- VSL (*straight line velocity*) – prędkość mierzona od pierwszego do ostatniego punktu trajektorii,
- VCL (*curvilinear velocity*) – prędkość mierzona po kolejnych punktach trajektorii,
- VAP (*average patch velocity*) – uśredniona prędkość po trajektorii,
- LIN (*linearity*) – współczynnik liniowości trajektorii,
- STR (*straightness*) – współczynnik prostości trajektorii.

Parametry te są wykorzystywane przy przypisaniu do klas ruchu według WHO. WHO dzieli ruch na 4 klasy [1, 3]:

- Klasa A – ruch szybki i progresywny: $VAP > 25 \mu\text{m/s}$ i $LIN > 75\%$,
- Klasa B – ruch powolny progresywny: $VAP < 25 \mu\text{m/s}$ i $LIN > 75\%$,
- Klasa C – ruch chaotyczny: $LIN < 75\%$,
- Klasa D – plemniki nieruchome: $VAP < 5 \mu\text{m/s}$.

Wynikiem działania powyższych kroków jest lista znalezionych trajektorii wraz z wyliczonymi parametrami oraz przypisaniem do klas WHO. Ponadto wyliczony jest procentowy udział poszczególnych klas ruchów w danej próbce. Rysunek 7 przedstawia okno z parametrami wyznaczonych trajektorii.

Moduł wyliczania gęstości

W przypadku modułu do wyliczania gęstości rejestrowane są obrazy unieruchomionego nasienia w powiększeniu 10-krotnym. Preparaty nasienia są przygotowywane w komorze hematologicznej Thoma. Dla jednego pacjenta rejestrowanych jest od 8 do 10 obrazów.

Parameters							
#	length	vsl	vcl	vap	str	lin	WHO Class
4	0,500	0,167	41,874	8,679	0	2	C
7	1,118	1,511	14,672	5,846	10	26	C
9	1,500	25,000	75,000	25,000	33	100	C
12	1,414	7,071	13,536	8,185	52	86	C
14	3,202	2,668	22,118	6,082	12	44	C
15	3,000	15,000	44,581	19,059	34	79	C
16	0,500	0,167	4,305	0,861	4	19	D
18	3,202	5,336	27,125	8,141	20	66	C
20	2,062	1,199	9,481	2,855	13	42	D
21	2,000	0,667	20,899	4,325	3	15	D
23	2,693	22,438	34,857	22,959	64	98	C
24	1,118	27,951	37,500	28,965	75	96	A
25	1,000	0,333	19,162	3,991	2	8	D
27	2,915	2,314	16,350	4,731	14	49	D
30	1,803	0,601	14,995	3,165	4	19	D
31	0,500	0,243	21,529	4,461	1	5	D
32	7,280	4,790	16,727	8,974	29	53	C
33	1,803	0,601	4,167	1,100	14	55	D
34	0,500	3,571	25,000	5,000	14	71	C

Total: 323

WHO Class A: 67 [20,74%]
 WHO Class B: 14 [4,33%]
 WHO Class C: 199 [61,61%]
 WHO Class D: 43 [13,31%]

Klasa A: 67 [20,74%]
 Klasa B: 14 [4,33%]
 Klasa C: 199 [61,61%]
 Klasa D: 43 [13,31%]

Rys. 7 Okno z parametrami trajektorii

W module wyliczenia gęstości wykorzystano algorytm wydzielenia i klasyfikacji obiektów opracowany dla modułu analizy ruchliwości. Do prawidłowego oznaczenia objętości pola widzenia użyte zostały: komora hematologiczna Thoma oraz szkiełko kalibrujące. W komorze Thoma znana jest wysokość preparatu. Pole widzenia wyliczone jest za pomocą szkiełka kalibrującego. Wyliczenie objętości w polu widzenia możliwe jest na podstawie powyższych danych.

W przypadku wyliczenia gęstości nasienie jest wstępnie preparowane: plemniki są unieruchamiane roztworem Ringera z formaldehydem [2]. Po zarejestrowaniu obrazu wyliczana jest odpowiadająca mu gęstość. Następnie wyliczana jest średnia arytmetyczna dla wszystkich obrazów. Jako wynik system podaje wyliczone gęstości (dla pojedynczego obrazu oraz wartość uśrednioną), a także odpowiadające im rozpoznanie medyczne. Rys. 8 przedstawia obraz ze sklasyfikowanymi plemnikami oraz okno z wynikami.

Moduł badania morfologii

Do analizy morfologicznej wykorzystywane są obrazy żywego nasienia w 40-krotnym powiększeniu. Przykład zarejestrowanego obrazu przedstawiono na rys. 9. Dla jednego pacjenta rejestrowanych jest około 100 obrazów losowo wybranych plemników [1, 2].

Dla każdego plemnika wyliczane są parametry wymagane do analizy wad budowy. Następnie plemnik jest klasyfikowany według klasyfikacji Dawida i Bissona [2]. Jako wynik podawany jest procentowy udział plemników o podobnej wadzie budowy.

Zarejestrowane obrazy są wstępnie przetwarzane, w celu ich segmentacji na tło i plemnik. Następnie wykonywane są kolejno operacje: filtr medianowy (3 x 3 piksele), podniesienie do kwadratu oraz progowanie z podwójnym progiem [4, 6, 7]. Dolny próg wyznaczany jest empirycznie, a górny na podstawie histogramu – wartość odpowiadająca jego maksimum.

Na przetworzonym obrazie wydzielona zostaje już główka plemnika. Kolejne operacje umożliwiają wyodrębnienie jego wtyki. W tym celu

analizuje się histogram i przeprowadza operację jego rozciągnięcia z nasyceniem tła. Następnie obraz podnoszony jest do kwadratu. Dzięki temu główka i wtyka są wyraźnie ciemniejsze niż tło, co umożliwia segmentację. Przetworzony obraz przedstawiono na rys. 10. Do segmentacji użyto gradientu ze stałym progiem ustalonym empirycznie [7, 8]. Obraz po segmentacji zaprezentowano na rys. 11.

Jest to binarny zapis konturów plemnika oraz artefaktów. Aby wyliczyć parametry plemnika, należy usunąć artefakty, znaleźć szkielet plemnika oraz podzielić go na główkę i wtykę. W tym celu obraz binarny zostaje przetworzony przez sekwencje operacji morfologicznych [7,8]. Początkowo usuwa się pojedyncze piksele oraz małe artefakty (do 4 pikseli). Wynik

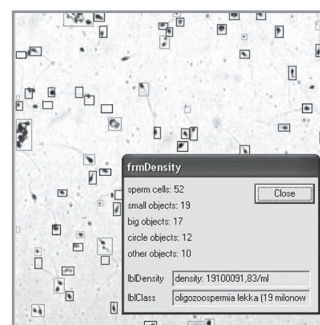
usuwania artefaktów przedstawiono na rys. 12.

W kolejnym etapie następuje operacja zamknięcia, która poprzedza tzw. etykietowanie – każdemu z obiektów przypisana zostaje inna wartość. Wyliczony zostaje histogram i usuwa się obiekty o małym polu – małej liczności pikseli danego poziomu szarości. Na tak przetworzonym obrazie znajduje się tylko plemnik, co obrazuje rys. 13.

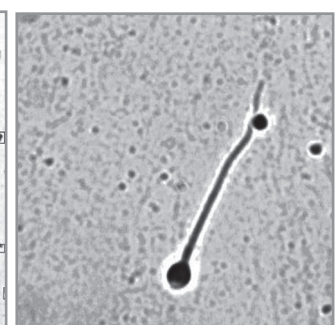
Następnie znajdujący się jego szkielet przy wykorzystaniu operacji szkieletyzacji [8]. Na wyznaczonym szkielecie znajdujący się punkt połączenia główki i wtyki – rys. 14.

Mając wyznaczony plemnik, jego szkielet oraz punkt połączenia główki i wtyki, możliwe jest wyliczenie parametrów plemnika niezbędnych do klasyfikacji wad w jego budowie. Analizuje się więc pole powierzchni główki, jej długość i szerokość oraz długość wtyki.

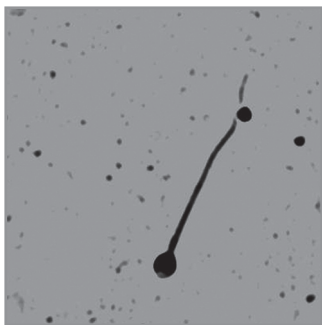
W główce identyfikuje się również akrosom (przednia, jaśniejsza część główki odpowiedzialna za przenikanie plemnika do jajeczka. Następnie piksele tła ujednolicane są do wartości 255, a histogram otrzymanego obrazu rozciągany. Po rozciągnięciu histogramu akrosom jest wyraźnie jaśniejszy. Przetworzony obraz poddaje się operacji segmentowania z użyciem funkcji progowania ze stałym progiem, ustalonym doświadczalnie. Wszystkie wyznaczone elementy plemnika przedstawiono na rys. 15.



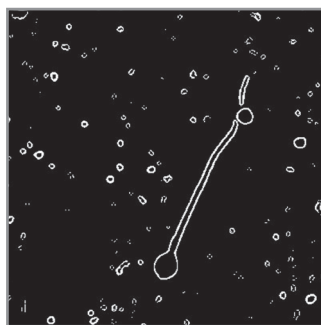
Rys. 8 Rezultat modułu wyliczenia gęstości



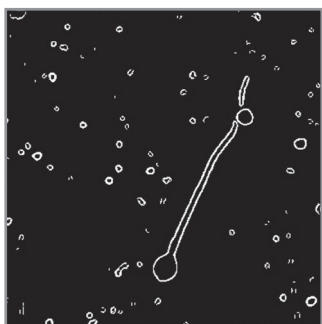
Rys. 9 Przykładowy obraz plemnika w 40-krotnym powiększeniu



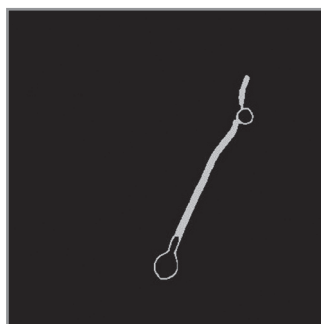
Rys. 10 Obraz z widocznym plemnikiem



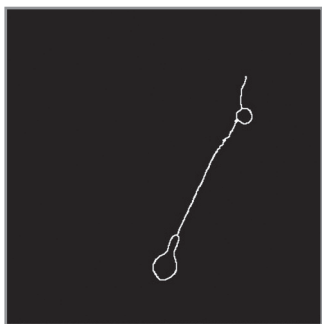
Rys. 11 Obraz po segmentacji



Rys. 12 Obraz z usuniętymi artefaktami



Rys. 13 Obraz po etykietowaniu i usunięciu małych obiektów



Rys. 14 Szkielet plemnika



Rys. 15 Wyznaczone elementy plemnika

Wnioski

Opracowany system pozwala na kompleksową ocenę nasienia – wyznaczana jest ruchliwość plemników, gęstość nasienia oraz badana jest jego morfologia. W odróżnieniu od istniejących systemów plemniki rozpoznawane są po kształcie, a nie wielkości. Dwa pierwsze moduły (badające ruchliwość oraz gęstość) zostały przebadane na materiale klinicznym. W przypadku modułu ruchliwości przebadano nasienie 5 pacjentów. Zarejestrowano 25 sekwencji. W 17 przypadkach (68%) wyliczenia systemu pokryły się z oszacowanym przez lekarzy, w 3 przypadkach lekarze zaakceptowali wyliczenia systemu, natomiast w 5 odrzucili. Moduł gęstości testowano na próbach nasienia pobranych od tych samych pacjentów. Zarejestrowano 40 obrazów (po 8 dla pacjenta). W przypadku 4 pacjentów zaproponowane przez system rozpoznawanie medyczne pokrywało się z diagnozą lekarską [9]. ■

Literatura

1. World Health Organization, *WHO Laboratory manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple*, Cambridge University Press, 1993.
2. M. Semczuk, M. Kurpisz: *Andrologia*, PZWL, 1998.
3. *Technical Guide for IVOX, TOX IVOS, CEROS*, Hamilton Thorne Research, 2000.
4. R.C. Gonzales, P. Wintz: *Digital image processing*, Addison-Wesley, 1987.
5. J. Russ: *The image processing handbook*, CRC Press, 1995.
6. *Intel Image Processing Library*, reference manual, Intel Corporation, 2000.
7. M. Nadler, E. Smith: *Pattern recognition engineering*, John Wiley & Sons, 1992.
8. A. Bovik: *Handbook of image & video processing*, Academic Press, 2000.
9. L. Witkowski: *A computer system for sperm cells motility determination*, MG&V, 2009.

otrzymano / received: 02.06.2009 r.
zaakceptowano / accepted: 08.09.2009 r.