

УДК 519.68 : 681.513.7 : 591.169

## Применение методов обработки изображений в компьютерной биологии

И. М. Гостев

*Национальный исследовательский институт «Высшая школа экономики»  
ул. Мясницкая, д. 20, Москва, 101000, Россия*

Разработана система по обработке изображений низших биологических объектов, позволяющая вычислять их геометрические параметры в процессе морфогенеза. Предложен критерий, по которому возможно вычисление скорости регенерации утраченных частей у плоских червей-планариев.

**Ключевые слова:** численные методы, обработка изображений, компьютерная биология, дискретная геометрия, регенерация, морфогенез, планарии.

### 1. Введение

Прогресс в развитии вычислительной техники в конце 20-го и начала 21-го века внес в биологию принципиально новые возможности, основанные на компьютерных технологиях работы с объектами. Этот подход создал новую практику биологических исследований: стало возможным получение, обработка, анализ, классификация и распознавание прижизненных изображений объектов. Для биологии, которая оперирует визуальными образами животных, растений, микроорганизмов, макромолекул и биохимических реакций, это событие ознаменовало начало нового этапа ее развития. Появилась компьютерная биология, как наука, оперирующая электронными изображениями — образами (имиджами) биологических объектов. Работа с электронными изображениями — фундаментальное отличие компьютерной биологии от биоинформатики и математического моделирования биологических процессов.

Хорошим примером применения компьютерных технологий в биологии являются скрининговые исследования, предназначенные для определения биологической активности лекарственных препаратов различной природы, базирующиеся на беспозвоночных животных. В качестве биологической модели используется процесс регенерации — отрастания головной части тела пресноводных плоских червей-планарий. Регенерация планарий — это классическая модель посттравматической регенерации у животных. На скорость ее протекания влияют различные химические факторы среды: тяжелые металлы, пестициды, различные нейротропные препараты, стероидные и пептидные гормоны и другие биологически активные вещества. Пример популяции планарий показан на рис. 1.

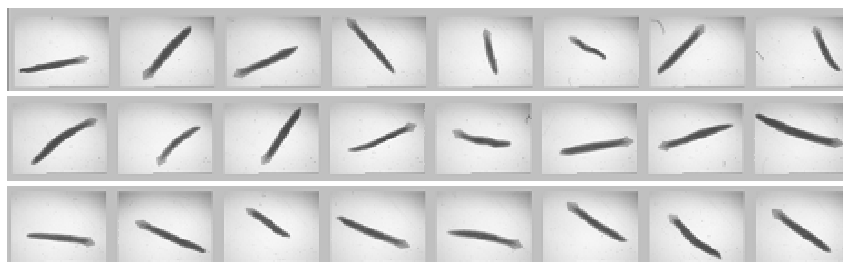


Рис. 1. Пример изображений популяции планарий, предназначенных для проведения экспериментов

Статья поступила в редакцию 13 ноября 2011 г.

Автор выражает благодарность Тирасу Х.П. за предоставленный графический материал, и консультации при написании программного обеспечения и статьи.

Для оценки динамики процесса регенерации был разработан метод прижизненной компьютерной морфометрии [1, 2]. В основе метода — регистрация отрастания утраченного после операции головного конца тела. Она проводится в одинаковых условиях — в ходе равномерного движения планарии в поле зрения микроскопа. Этот подход базируется на биологической особенности планарий — их способности к движению даже в отсутствие головного конца тела с центральным нервным ганглием [3].

Задача заключается в вычислении некоторого критерия, характеризующего форму головы объекта, по которому можно сделать заключение об окончании процесса регенерации (морфогенеза). Несмотря на тот факт, что получение изображений объектов и вычисление свойств каждой особи не представляет трудностей, в работе необходимо учитывать тот факт, что объект наблюдения перемещается в поле зрения микроскопа (соответственно по экрану монитора при создании электронного изображения). Следовательно, условия освещения (яркость и контрастность) постоянно меняются. Полученный контур должен быть максимально приближен к форме объекта. На основе контура объекта необходимо вычислять морфологические характеристики каждого из объектов популяции, а на их основе — количественные показатели для оценки скорости регенерации.

Кроме того, изучение большого количества изображений показало, что автоматическое определение положения отрастающей головной части планария затруднительно из-за достаточно большого разнообразия их формы на разных стадиях регенерации и пространственных положений. Причиной этого является необходимость проведения операции на живом движущемся объекте, что делает невозможным проведение стандартной операции на разных животных. Все это, а также тот факт, что временной интервал между измерениями не превышает несколько часов, свидетельствует о необходимости разработки специального программного обеспечения для автоматизированного решения поставленной задачи.

## 2. Проведение эксперимента

Биологическая схема проведения эксперимента показана на рис. 2. На первом этапе производится отрезание головной части животного, а затем осуществляется постоянный контроль над величиной и формой отросшей головы.

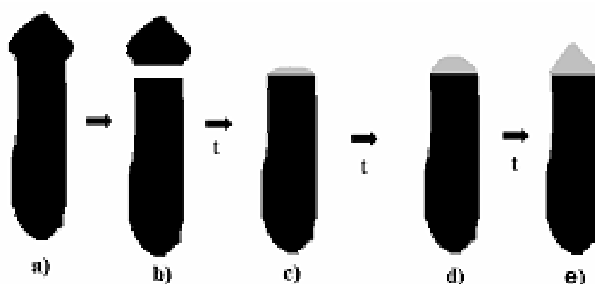


Рис. 2. Схема проведения эксперимента. На схеме a) — исходный профиль планарии; b) — процесс отрезания головной части; c), d) и e) — отрастание новой «головы»

Популяция планарии — макрообъект, для эксперимента в котором отбираются животные 6-8 мм длиной. Регистрация регенерации проводится на группе планарий (30 животных), изображения которых создаются посредством фотографирования объектов через окуляр биноклярного микроскопа с помощью цифровых или аналоговых видеокамер с последующим сохранением отобранных изображений. Процесс получения изображений повторяется с некоторыми временными интервалами, величина которых зависит от особенностей решаемых задач и необходимой точности измерений.

Процесс обработки изображений проводился при помощи специально разработанного полуавтоматического программного приложения, позволяющего контролировать величину и форму отросшей головы по отношению к остальному телу животного. В процессе исследования скорости регенерации осуществляется первичная обработка изображений (например, сглаживание для удаления шумов), построение контура животного, вычисление его общей площади, площади головной части, а также некоторого критерия, по которому происходит определение скорости регенерации и окончание процесса.

Рассмотрим процесс организации вычислительного эксперимента более подробно. На первом этапе производится ручное выделение области изображения, где находится планария, как показано на рис. 3 (слева). Эта операция необходима для получения единственного контура планарии, непересекающегося ни с какими другими объектами на изображении. После этого в автоматическом режиме в выделенной области проводятся следующие операции:

- сглаживание изображения линейным фильтром для устранения шумов;
- бинаризация изображения, т.е. преобразования полутонового изображения в двухградационное;
- получение контура объекта, особенностью которого является его замкнутость;
- построения вербального (текстового) описания контура объекта в виде координат пикселей, из которых он составлен.

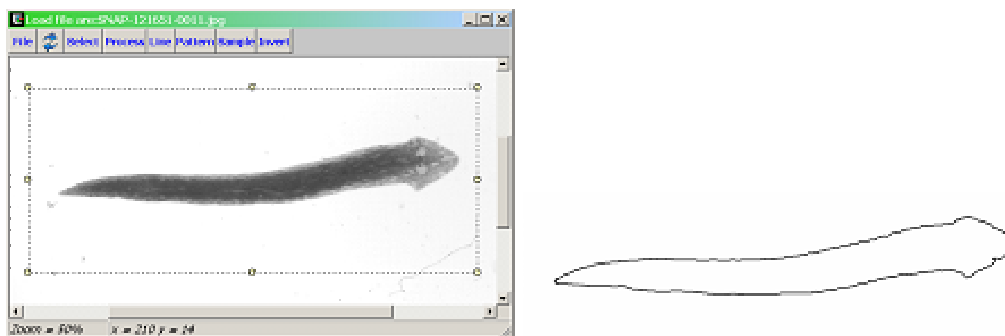


Рис. 3. Выделение области нахождения планарии и ее результирующий контур

Для ускорения проведения операций по обработке изображений разработаны специальные методы [4]. Эти методы обеспечивают качественное выполнение операций всего за один проход по изображению для каждого метода. Пример результатов в виде замкнутого контура объекта после выполнения этих операций показан на правой части рис. 3.

Далее необходима операция по определению положения головной части тела планарии. Эта операция не поддается автоматизации и должна проводиться вручную. На изображение в векторном режиме (без взаимодействия с изображением) наносятся две взаимно перпендикулярные линии. Их можно перемещать при помощи мыши независимо друг от друга и расположить в любом месте экрана. Первая линия используется для определения границы отрастающей головной части тела планарии. В настоящей работе регистрируется отношение площади головной части планарии к площади всего животного на разных этапах регенерации. Таким образом, позиционирование первой линии дает возможность вычислить площадь регенерирующего головного конца и его отношение к общей площади тела планарии.

Вторая линия необходима для вычисления критерия формы, который свидетельствует об окончании процесса регенерации и восстановления головной части. Голова интактной планарии имеет треугольную форму, а в ходе регенерации отрастающая часть тела меняет свою форму от полукруглой до треугольной, что

свидетельствует об окончании процесса морфогенеза (формирования головы). Поскольку форма головной части при регенерации стремится к треугольной, то и критерием восстановления формы должна быть некоторая мера отклонения от треугольника. Пользователь, определяя положение второй прямой относительно первой, находит ее положение по максимальному отклонению контура от первой прямой – положение самой крайней передней точки отрастания. Аналогично первой прямой вторая может быть перемещена при помощи мыши относительно первой, но всегда будет сохранять перпендикулярность к ней.

### 3. Методы измерений параметров

На основании вышеизложенного было предложено определять переднюю краевую точку головной части тела планарии как верхнюю точку треугольника вручную, как некоторое направление, перпендикулярное к первой линии. Примеры таких линий, нанесенных на изображения планариев, приведены на рис. 4.

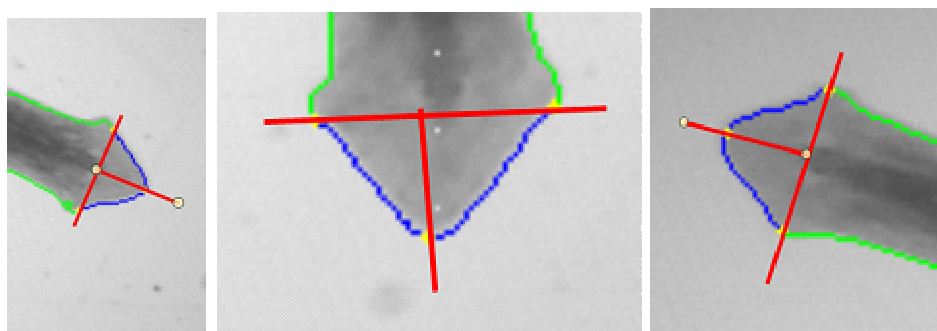


Рис. 4. Изображение головной части трех различных планарий. На рисунках видно отделение общего контура от контура головной части за счет проведения первой линии. Кроме того, показана вторая линия, определяющая высоту треугольной головы планарии

Вдоль абриса тела планарий показаны контуры. На рис. 5 хорошо видно, что при помощи одной из линий (AC) производится определение положения головной части, при этом часть контура (ABC), относящаяся к головной, также выделена. Другая линия BD, перпендикулярная к первой, проводится так, чтобы она проходила через точку контура с максимальным отклонением от первой линии.

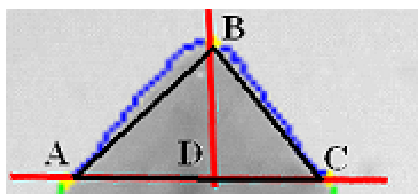


Рис. 5. Геометрические построения для вычисления критерия скорости регенерации

Сложность измерений в данной задаче заключается в том, что пространственное положение объекта априори не определено. С точки зрения дискретной геометрии здесь стоит задача определения пространственного положения объекта по трем точкам (точки пересечения контура с прямыми.) Теоретически возможны четыре положения, показанные на рис. 6.



Рис. 6. Возможные положения головной части планария на изображении при определении его пространственной ориентации

Однако реально, в связи с непредсказуемой ориентацией объекта на изображении, при построении описания контура априори неизвестно взаимное расположение точек пересечения контура планария с первой линией. Точки  $p_1$  и  $p_2$  в описании контура могут меняться местами. Таким образом, к задаче о пересечении контура, к четырем показанным на рисунке вариантам добавляется еще четыре. С учетом этого решение поставленной задачи без второй прямой просто невозможно.

После определения положения фрагмента контура головной части планария, ограниченного с одной стороны контуром объекта, а с другой стороны прямой  $AC$ , легко вычислить как площадь всей планарии, так и площадь ее головной части. Кроме этого, необходимо вычислять критерий окончания регенерации. Исходя из того, что головная часть тела планария треугольная, этот критерий формы можно строить как некоторую метрику отклонения точек контура головной части объекта, от сторон треугольника  $ABC$ . В качестве метрики возьмем среднеквадратичную интегральную и будем вычислять критерий по формуле:

$$\rho = \left( \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (P_i - Tr_i)^2 \right)^{1/2},$$

где  $P_i$  – значение отклонения точки контура объекта от линии  $AC$ , а  $Tr_i$  величина отклонения точки на треугольнике  $ABC$ , соответствующая перпендикуляру, проведенному из точки  $P_i$  к линии  $AC$ . Легко проверить, что данный критерий удовлетворяет определению метрики. Кроме того, он удобен для биологов. Значение критерия при завершении процесса регенерации стремится к нулю. Результаты, получаемые в процессе работы программы, при каждом испытании заносятся в файл. Пример результирующего файла помещен в табл. 1. Здесь кроме параметров тела планарий приведены времена наблюдений в сутках после перерезки. Легко заметить, что со временем значения критерия уменьшаются.

Таблица 1

Пример результирующего файла

Имя файла	Площадь объекта	Площадь головы	Отношение площадей	Критерий формы	Время (сутки)
30001.PCX	10052.000	325.035	30.926	0.19498	3
60007.PCX	21229.000	302.019	70.290	0.09825	4
40013.PCX	6435.000	119.534	53.834	0.07338	5
70003.PCX	9164.000	395.415	23.176	0.06010	8
122205.jpg	95847.000	3553.375	26.974	0.03763	15

*Примечание.* В выбранной популяции невозможно следить за одной особью, поэтому все наблюдения по популяции усредняются, и результаты наблюдаются по дням.

#### 4. Выводы

Итоги проведенной работы можно сформулировать в следующем виде:

1. По результатам изучения изображений планарий были разработаны алгоритмы их обработки и получены графические характеристики, по которым можно оценить скорость регенерации животных.
2. Была создана полуавтоматическая система обработки изображений планарий и вычислений их характеристик.
3. Был разработан алгоритм определения пространственного расположения объектов по трем произвольным точкам контура.
4. Разработан критерий точной оценки скорости регенерации планариев на основе среднеквадратичной метрики.

Полученные результаты являются первым шагом цикла исследований в компьютерной биологии. Они открывают большие возможности в изучении различных биологических механизмов посредством внесения в эксперименты элементов прикладной математики и информатики.

#### Литература

1. Тирас Х. П., Хачко В. И. Показатели и стадии регенерации планарий // Онтогенез. — 1990. — Т. 21(6). — С. 620–624. [*Tiras Kh. P., Khachko V. I. Pokazateli i stadii regeneracii planarij // Ontogenez. — 1990. — T. 21(6). — S. 620–624.* ]
2. Влияние слабого магнитного поля на скорость регенерации планарий *Dugesia tigrina* / Х. П. Тирас, Л. К. Сребницкая, Е. Н. Ильясова и др. // Биофизика. — 1996. — Т. 41, № 4. — С. 826–831. [*Vliyanie slabogo magnitnogo polya na skorostj regeneracii planarij Dugesia tigrina / Kh. P. Tiras, L. K. Srebnickaya, E. N. Iljasova и др. // Biofizika. — 1996. — T. 41, No 4. — S. 826–831.* ]
3. Тирас Х. П., Сахарова Н. Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. — 1984. — Т. 15(1). — С. 42–48. [*Tiras Kh. P., Sakharova N. Yu. Prizhiznennaya morfometriya planarij // Ontogenez. — 1984. — T. 15(1). — S. 42–48.* ]
4. Gostev I. M. A Method for Detecting Image Contour // Journal of Computer and System Sciences International. — 2004. — No 3. — Pp. 419–426.

UDC 519.68 : 681.513.7 : 591.169

### Using the Methods of the Image Processing in Computer Biology

I. M. Gostev

*National Research University "High School of Economic"  
Myasnitskaya str. 20, Moscow, 101000, Russia*

System of image processing of undermost biological object, to permit calculate their geometric parameters in process of morphogenesis was designed. We propose criterion on which base it is possible to calculate velocities of regenerations of the lost parts from flat worms-planaria.

**Key words and phrases:** numerical methods, image processing, computer biology, digital geometry, regeneration, morphogenesis, planarian.