DIGITÁLIS KÉPANALÍZIS

KÉSZÍTETTE: KISS ALEXANDRA

ELÉRHETŐSÉG: kisszandi@mailbox.unideb.hu

ImageJ (Fiji)

- Nyílt forrás kódú, java alapú képelemző szoftver
- https://fiji.sc/
- Számos képformátumhoz megfelelő → fotók (BMP, JPEG, PNG stb.)

  → orvosi képfájlok (DICOM)

  → 2D, 3D képek

NIH által kifejlesztett, bárki hozzáférhet, bármilyen operációs rendszerre letölthető, viszonylag egyszerűen kezelhető felülettel rendelkezik

ImageJ verziók

- ImageJ 1: eredeti verzió, jelenleg is fejlesztés alatt
- ImageJ 2: újratervezett hatékonyabb szoftver csomagok+ imagej1
- Fiji: az ImageJ2 platformra épül, külső féltől származó beépülő modulok szisztematikus elérhetőségével és csoportosításával, elsősorban élettudományokhoz

Miért van szükség képanalízisre?

- Az emberi szem felismerő képességét helyettesítjük
- A képek jel/zaj arányát módosítás
- Kvantitatívan és reprodukálhatóan elemezzük a képet

Képek megjelenítése és tárolása

- A képek pixelekből állnak, a legkisebb egység a digitális képen, amelynek értéke egy szám. A detektor megfelelő helyén detektált fotonok számával arányos.
- Attól függően, hogy egy pixel hány értéket vehet fel 1 pixel:

  → bináris (0,1)

  → szürkeskála (0-255)

  → 12 bites (0-4096)

  → 16 bites (0-65535)

A képek tárolása

- A képeket menthetjük: → tömörítve

  → nem tömörítve, pixelenként

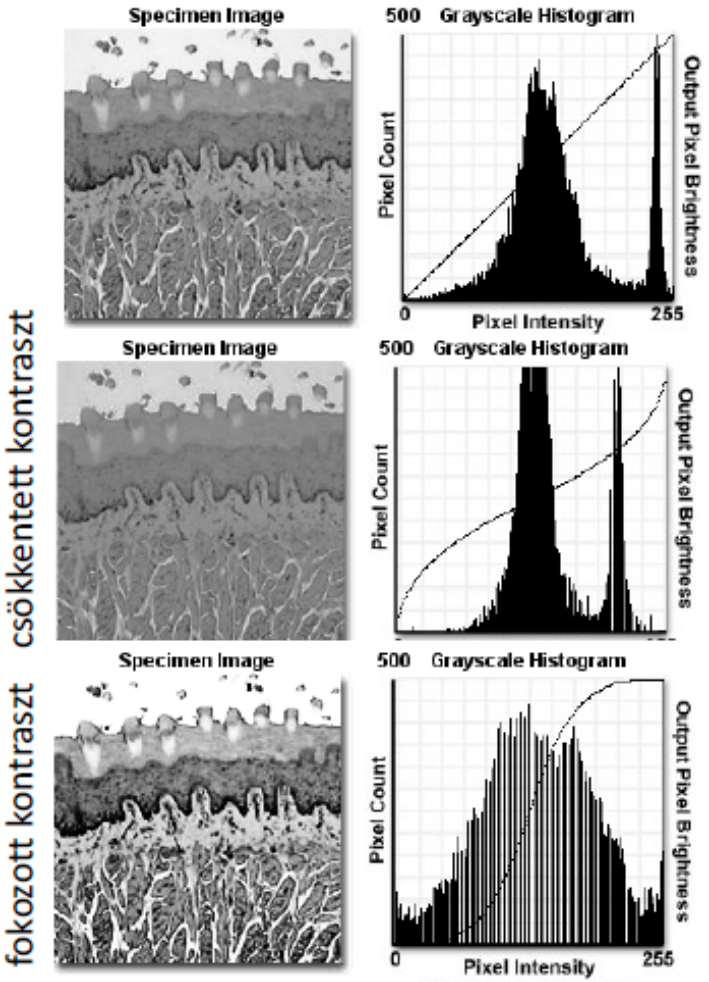
  Ha tömörítve mentünk, akkor az adat veszteséggel jár pl. jpeg formátum, ez prenzentációkhoz megfelelő fájl típus, azonban egy publikációhoz ez nem elegendő inkább TIFF vagy PNG formátumot használjunk.

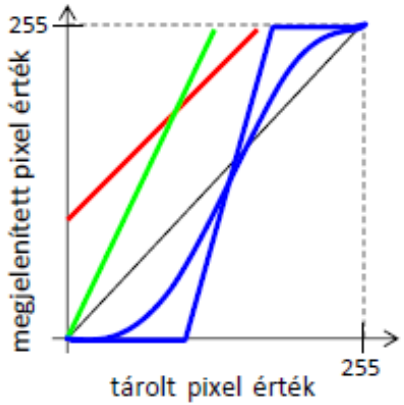
- A képek megjelenítése a RAM-ban történik
- Minél nagyobb a ram mérete annál jobb/gyorsabb lehet az elemzés különösen sok kép esetén → ha nem elég a memória kiírhatja művelet közben, hogy out of memory és innentől kezdve nem lehet mit csinálni. Ilyenkor kezdheted előlről és azt csinálod, hogy csak x. képet töltöd be vagy csökkented a pixel értéket vagy lemented kevesebb információt tartalmazó formátumba pl. jpeg.

Hisztogram, LUT

- A pixelekben tárolt intenzitás eloszlás látható
- A LUT minden pixel értékhez egy színt vagy szürkeskálás értéket rendel
- Az információ tartalom nem változik

A LUT megadható az ábrázolt pixel értékek és a tárolt pixel intenzitások közötti összefüggés grafikonszerű megadásával:





- fokozott fényesség („brightness”): minden pixel ábrázolt értékét növeli.
- fokozott intenzitás: meredekebb összefüggés a megjelenített és a tárolt pixel értékek között. A magas tárolt értékű pixelek ábrázolt értéke jobban nő.
- fokozott kontraszt: a skála közepén levő pixelek megjelenített intenzitáskülönbségét fokozza.

Képet degradáló tényezők

- a) A zajnak 2 forrása van:
  - foton detektálás statisztikus volta (a foton detektálás Poisson-eloszlást mutat)
  - képalkotó rendszer (normál eloszlás)
- b) A mintában jön létre, minél vastagabb a minta, annál jelentősebb.
- c) A mikroszkóp optikai rendszerében létrejövő fényszórás és reflexió következménye.
  - Modern mikroszkópiában általában minimális jól beállított mikroszkóp esetén.
- d) A fény hullámtermészete miatt a képalkotás során bekövetkező diffrakció következménye.

Miért szükséges a kvantitatív kiértékelés?

- A képek alapján levont konklúzió ne legyen szubjektív
- Mikroszkópiával kevés sejtet tudunk megmérni, statisztikai hiba lehetősége

  → a képek kvantitatív kiértékelésével csökkenthető

  → több mérés, kevesebb a statisztikai hiba

Képelemzés

- 1. a képek betöltése
- 2. különböző macro-k, plugin-ok és filterek használata pl.: Stack Deflicker
  Brightness/Contrast
  Enhance local contrast
  Bandpass filter
  Substract background
  Gaussian blur

Képelemzés

- Célszerű a képeket 8-bit formátumba konvertálni, ugyanis így kevesebb helyet foglal és ez nagyon fontos a későbbi műveletek miatt.
- Az hogy hogyan módosítjuk a képek információ tartalmát az mindig attól, függ hogy egy adott szekvencia esetében mire vagyunk kíváncsiak. Az elemzés módja minden egyes szekvencia esetében eltérő, mert sosem fog két képsorozat ugyanolyan beállítással rendelkezni.
- Stack Deflicker: a fényviszonyok változásából adódó villódzást lehet vele megszüntetni

  első sorban videókészítés során hasznos
- Brightness/Contrast
- Enhance local contrast: képenként beállítja a megfelelő kontrasztot

Képelemzés

- Bandpass filter: matematikai algoritmuson, a Fourier transzformáción alapszik

  -tól;-ig pixel tartományon belüli értékeket tart meg a képen pl.: a mi esetünkben 3-40 pixelig megtart mindent ez alatti és feletti értékeket kiszűri
- Substract background: a számunkra fontos információt (előteret) elválasztja a háttértől
- Gaussian blur: életlenítés

Képelemzés

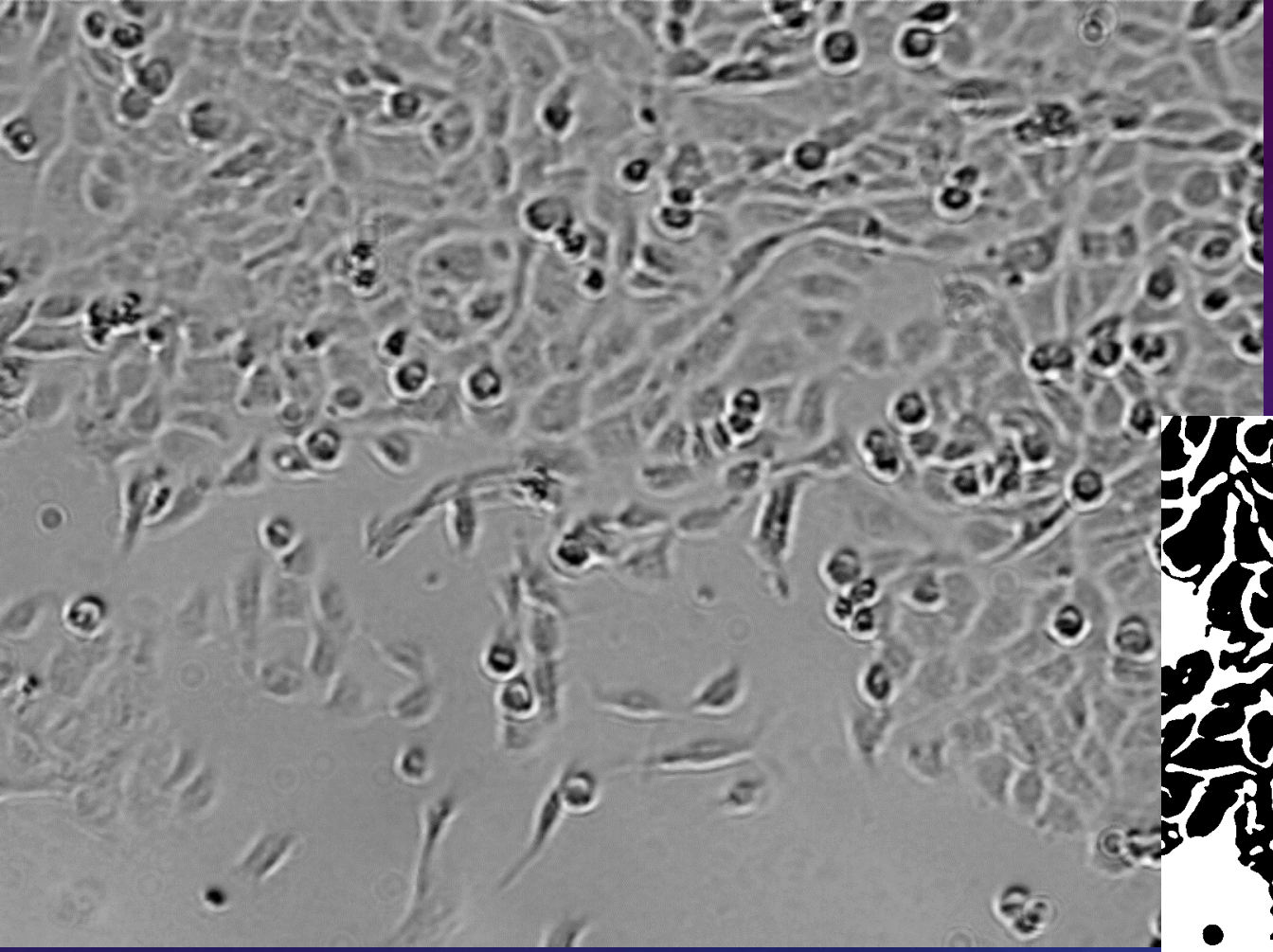
- 3. Szegmentálás: Treshold funkció
- 4. Analyze particles
- 5. kapott értékek Excelbe importálása

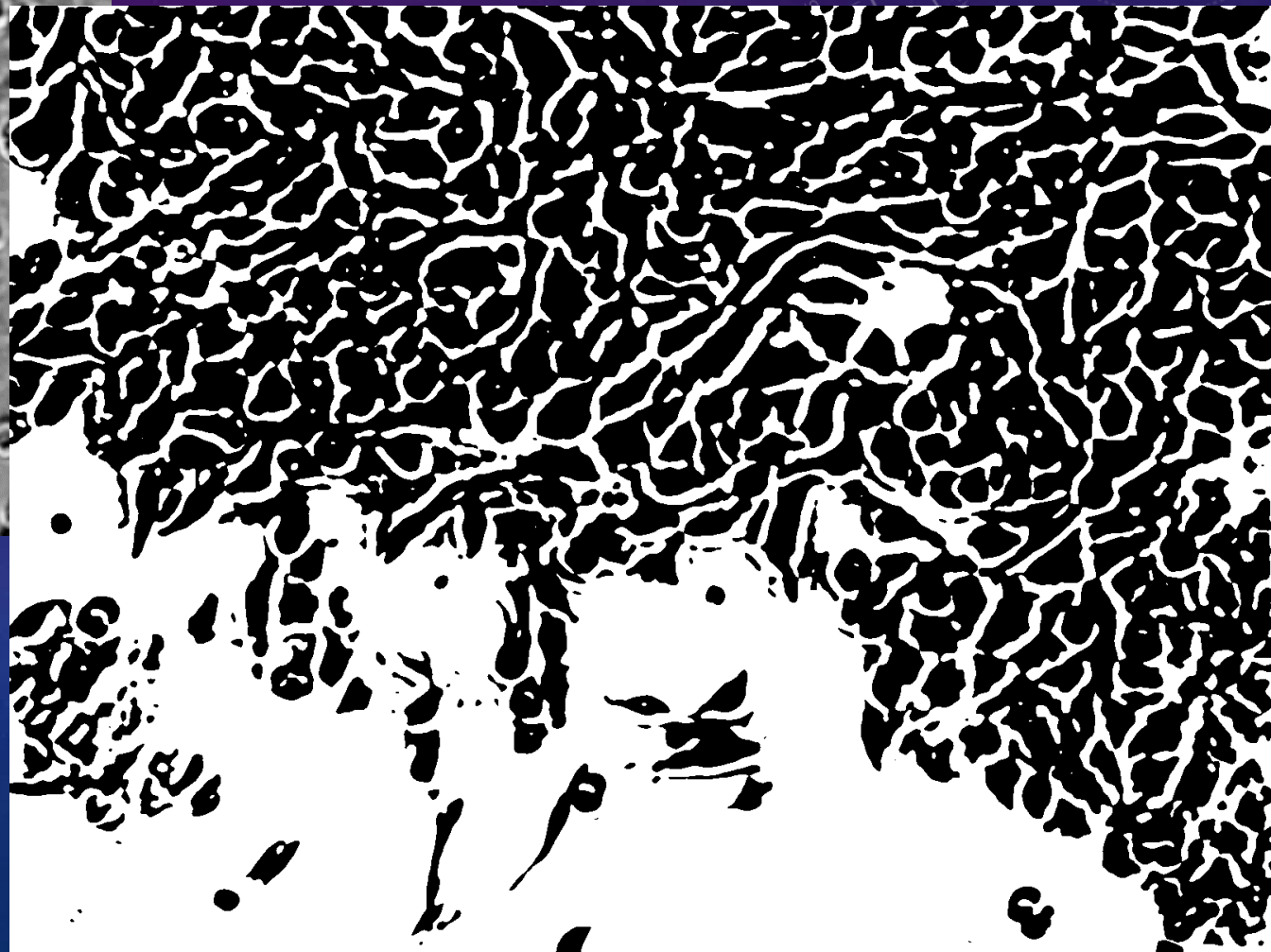
Képelemzés

- Treshold: szegmentálás, a számunkra fontos információ elkülönítése lehetséges ezzel a funkcióval

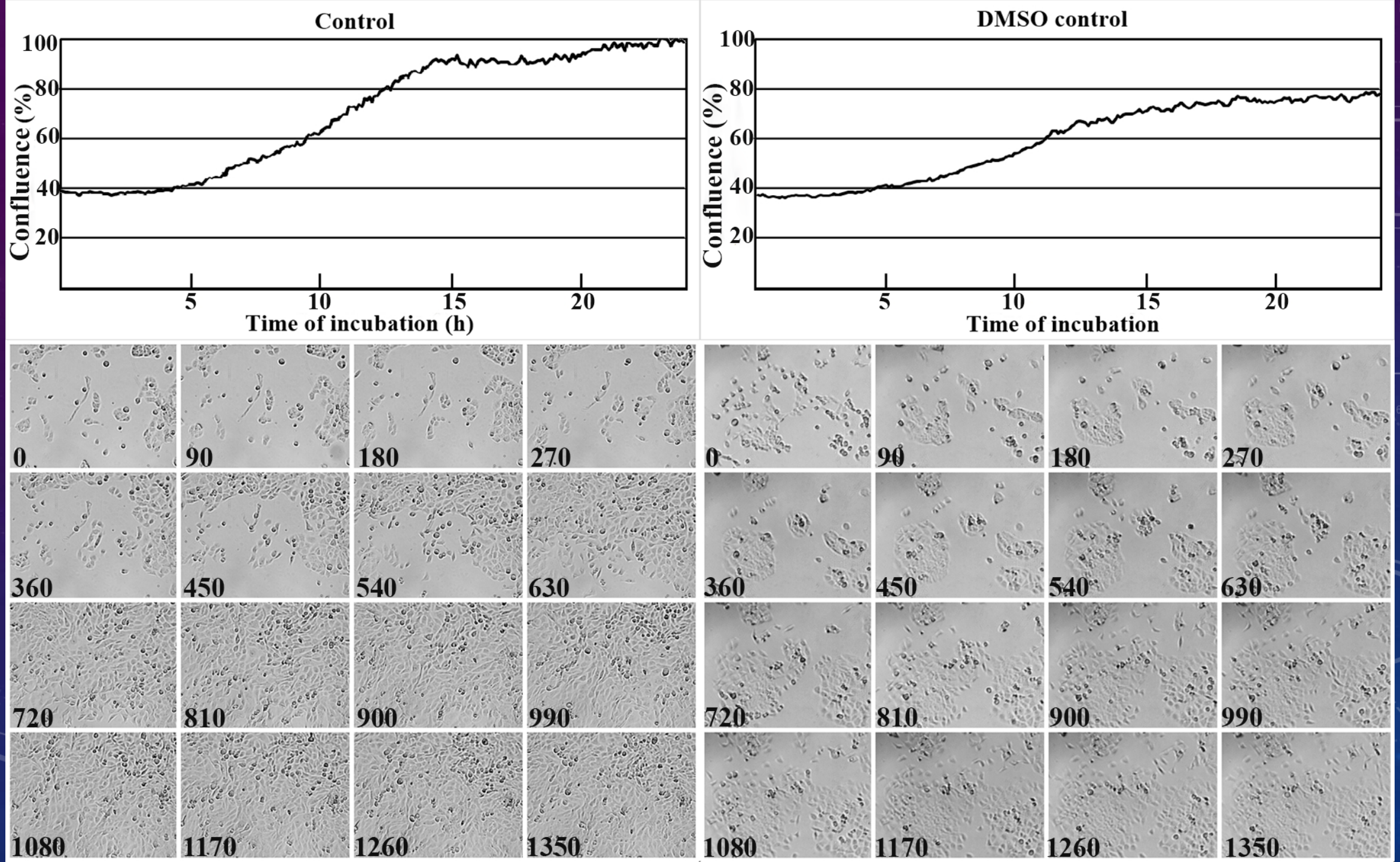
  a művelet eredményeképpen egy bináris, azaz fekete-fehér képet kapunk, ahol a fekete az információ

- Analyze particles: segítségével a fekete területek lemérhetők





- Bal oldalt kiindulási képünk 8 bit formátumban betöltve, jobb oldalt a már előzetesen ismertetett lépéseket használva a szegmentált képet láthatjuk. Azt tudni kell, hogy a treshold funkcióval soha nem fogjuk tudni pontosan kiemelni a nekünk kellő részt, max 90-95% pontossággal, mert attól ahogy te látod, nem feltétlenül fogja a szoftver a kép tulajdonságai miatt úgy érzékelni, ahogy neked szükséged lenne rá. A bináris azaz fekete fehér képet lehet lemérni és a kapott számértékkel jellemezni, pixelben kapunk egy értéket, illetve képsorozat esetén többet, amit ábrázolva egy diagramot kapunk és annak függvényében hogy mit mértünk azt lehet jellemezni az adott diagrammal pl. a monolayer növekedését. Ha vannak a képen, mondjuk a kamera felületén lévő állandó koszok, akkor azoknak le lehet mérni a pixel értékét és ha sokat változtatnak adott esetben az eredményeken, akkor a mérés során meg lehet adni, az analyze particles-nél hogy attól a pixel értéktől mérjen.


Control
Confluence (%)
100
80
60
40
20
5
10
15
20
Time of incubation (h)
DMSO control
Confluence (%)
100
80
60
40
20
5
10
15
20
Time of incubation
0
90
180
270
360
450
540
630
720
810
900
990
1080
1170
1260
1350
0
90
180
270
360
450
540
630
720
810
900
990
1080
1170
1260
1350

Hivatkozások

- Dr. Nagy Péter: Digitális képanalízis
- http://olympusmicro.com
- http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html
- http://docplayer.hu/25822587-Imagej-kepfeldolgozas-java-ban-tanacs-attila-kepfeldolgozas-es-szamitogepes-grafika-tanszek-szegedi-tudomanyegyetem.html

Köszönöm a figyelmet!