

Debreceni Egyetem

Informatikai Kar

Digitális szövektan

Témavezető:
Dr. habil Fazekas Attila
egyetemi docens

Készítette:
Miskolczi Zsófia Ditta
Programtervező matematikus
egyetemi hallgató

Debrecen
2010

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. A digitális szövetten	4
2.1 A mikroszkópos vizsgálat.....	4
2.2 A digitális szövetten megszületésének okai	6
2.3 A digitális szövetten kezdetekben	8
2.4 Innovációs díj	10
2.5 A hardverek	11
2.6 A szoftverek.....	16
2.7 Telepatológia	21
2.8 A digitális szövetten előnyei és hátrányai	22
3. A program	25
3.1 A feladat leírása	25
3.2 Mik is azok a FISH képek?.....	25
3.3 Az első program	26
3.4 A felmerülő gondok és a megoldás	31
3.5 Az új program.....	31
3.6 A programban szereplő alapvető képfeldolgozási módszerek	33
3.6.1 Szürkeskála (GrayScale).....	33
3.6.2 Hisztogram alapú eljárások	34
3.6.2.1 Küszöbölés (Threshold).....	34
3.6.2.2 Hisztogram-kiegyenlítés, kontraszt nyújtás (HistogramEqualization, ContrastStretching)	37
3.6.3 Éldetektálás.....	38
3.6.3.1 Gradiens módszer (Sobel éldetektáló).....	39
3.6.3.2 Canny éldetektálás (CannyEdgeDetection).....	40
3.6.3.3 További éldetektálók	41
3.6.4 Simítás (Smoothing).....	43
3.6.4.1 Környezeti átlagolás (Mean)	43
3.6.4.2 Medián szűrés (Median)	43
3.6.4.3 Sávszűrés (ChannelFiltering)	44
3.6.4.4 Konzervatív simítás (ConservativeSmoothing).....	44
3.6.5 Matematikai morfológia	46
3.6.5.1 Dilatáció (Dilatation).....	46
3.6.5.2 Erózió (Erosion)	47
3.6.5.3 Nyitás (Opening)	49
3.6.5.4 Zárás (Closing)	49
3.6.5.5 Hit-Miss transzformáció	50
3.7 Általam megírt módszerek a feladat megoldásához	51
3.7.1 Éldetektálás.....	51
3.7.2 Újabb problémák és a segítség	54
3.7.3 A vizsgálandó sejtek megkeresése	55
3.7.4 Kromoszómák számolása	56
4. Összefoglalás	58
5. Köszönetnyilvánítás	60
6. Irodalomjegyzék	61

1. Bevezetés

Az információs technológiai forradalom, a kommunikációban végbement forradalmi változások, illetve ezek egymásra gyakorolt hatása átalakította a világunkat. Néhány évtizede még elképzelhetetlen technikai eszközök állnak ma a rendelkezésünkre a mindennapi életben. Manapság már elképzelhetetlen számítógépek nélkül a világ. Gondoljunk csak bele, hogyan is tudna működni számítógépek nélkül például egy repülőtér, egy mobilhálózat, egy bank, egy vállalat, vagy csak hogy egyszerűbb dolgokat említsünk, egy bolt, vagy egy könyvtár. A mai világban szinte mindent a számítógépek irányítanak és a fejlődés nem állt meg. Ebben a percben is sok ezer ember dolgozik azon, hogy az informatika tovább bővüljön, szélesedjen.

Talán egyik legfontosabb terület, ahol a számítástechnika fejlődésére szükség van, az orvostudomány. Az egészségügy tudományos alapjaiban, az orvostudományban hatalmas változás ment végbe az utóbbi évtizedekben, ami nem jöhetett volna létre informatikai alkalmazások nélkül. Az immunológia, a genetika, az agykutatás és talán az összes orvosi terület számára olyan új távlatok nyíltak meg, amelyek korábban elképzelhetetlenek lettek volna. Ma már elfogadott megállapítás, hogy a technika, az elektronika, az automatizáció, a számítástechnika alkalmazása nélkül aligha lehet komoly fejlesztésről beszélni az orvostudományban. A számítógépeket minden nap használják a kutatásokhoz, fejlesztésekhez, vizsgálatokhoz, diagnosztizálásokhoz, adatbázisok tárolásához, sőt még az orvosok oktatásban is nagy szerepük van.

Az egyetemi éveim alatt ez a témakör kalltette fel leginkább az érdeklődésemet és mivel igen érdekesnek és még inkább nélkülözhetetlennek gondoltam, diplomamunkám témáját az orvosi képfeldolgozás területéről választottam. Ezen belül is azért a digitális szövevtant, mivel ebben az irányban hatalmas fejlődés ment végbe az utóbbi időben, melynek ráadásul kitalálója egy magyar orvos, így sok magyar vonatkozása van és a fejlesztésben is élen járunk.

Célom az volt, hogy a diplomamunkámhoz végzett alapos kutatómunkával jobban megismerkedjek ezzel a témával. Megtudjam mit is takar a digitális szövevtant, milyen előnyei és hátrányai vannak. Mennyire elterjedt ma a világban. Milyen orvosi és főképpen milyen informatikai háttér húzódik meg mögötte. Hogyan fejlesztették ki a szükséges hardveres és szoftveres eszközöket. Majd miután ezekről információt gyűjtöttem, egy olyan program implementálása volt a célkitűzésem, mellyel még inkább beleáshattam magam a képfeldolgozás rejtelseibe és mellyel talán az orvosok munkáját is könnyebbé lehetne tenni.

2. A digitális szövettan

2.1 A mikroszkópos vizsgálat

A gyógyítókat mindig is foglalkoztatta a betegségek eredete, és nem csupán pusztán kíváncsiságból, hanem az ellenük való küzdelem szempontjából is. Ehhez hozzá tartozik a megbetegedett testrészek vizsgálata, amelynek legkézenfekvőbb módja a boncolás. Hozzá tartozik ez évezredek óta az orvostudományhoz, mivel nélkülözhetetlen a betegségek megismeréséhez, és az orvosok képzéséhez.

A patológia, vagy kórtan, az emberi orvoslásban a beteg sejtek, szövetek és szervek szerkezeti és funkcionális változásaival foglalkozik. A patológia az orvostudomány alapja, összeköti az elméleti tudományokat a klinikummal, választ keres a betegségek tüneteit és a betegek panaszait okozó morfológiai és funkcionális elváltozásokkal kapcsolatos kérdésekre. [1]

A legtöbb ember nem tudja, hogy a patológusok mivel is foglalkoznak valójában. Sokaknak a boncolást végző orvosok jutnak eszükbe, és megborzonganak. Pedig nagyon sok esetben találkozunk velük közvetlenül és közvetetten is, mivel sok betegség pontos diagnózisa a patológusok tevékenysége nyomán születik meg, ezekben az esetekben ez a tevékenység a betegágnál gyógyító orvosok munkájához elengedhetetlen. Ma már sok olyan patológus dolgozik, aki egy-egy adott kóros elváltozásból maga vesz mintát, majd a minta mikroszkópos vizsgálata után diagnosztizálja a betegséget. [2]

A patológiában az orvosok az üvegtárgy-lemezeken levő szövettani metszeteket vizsgálják, tárolják, archiválják, vagy küldik el más orvosoknak. A klinikai információkból (betegvizsgálat és képalkotók adatai), valamint a szövettani mintákból készített metszetek mikroszkópos vizsgálatával megállapítja a betegség típusát, súlyosságát, bizonyos esetekben azonosítja a kórokozó baktériumokat vagy gombákat, daganatos betegségek esetén megállapítja a pontos stádiumot is. A patológiai lelet gyakran a gyógyulás első és egyik legfontosabb lépése. A szakorvos mintát vesz az szervből vagy szövetből, melyet egy speciális folyamat során asszisztensek előkészítenek arra, hogy mikroszkópos vizsgálatra alkalmassá váljon. [2]

A szövettani lelet készítésének első fázisa az úgynevezett indítás. Az indítást végző

orvos elolvassa a klinikus által írt kísérő levelet. A formalinban fixált (tartósított) anyagot pontosan leméri és egy makro státuszt diktál az asszisztensnőnek arról, hogy az anyag mekkora és hogyan néz ki. Ez a státusz is olvasható a szövettani lelet elején. Az anyagon fekete tussal megjelölik a kimetszési felszíneket, hogy azok a vizsgálatkor pontosan azonosíthatóak legyenek a mikroszkóp alatt, majd a megfelelő helyen kettévágják úgy, hogy az elváltozás szempontjából szimmetrikus darabokat kapjanak. Az anyag ekkor egy úgynevezett kapszulába kerül. A következő fázis a víztelenítés, amikor különböző vegyszerekkel kivonják az anyagból a vizet, majd a kapszulát feltöltik paraffinnal. Ennek a fázisnak a végén a szövetdarabok paraffinba ágyazottan várják a továbbiakat. A beágyazásnak a lényege az, hogy egy szilárd darabot kapjunk. Ezt követően jön a metszés, amikor a paraffinba ágyazott anyagot (blokkot) az úgynevezett mikrotomba fogják. Ezzel az eszközzel a blokkból 2-3 mikron (a milliméter ezred része) vastagságú szeleteket készítenek. Amikor elkészül egy jó minőségű szelet, akkor ezt óvatosan leveszik a mikrotomról, hideg vízre úsztatják, majd innen kerül fel a tárgylemezre. Minden ilyen szelet egy-egy tárgylemezre, majd a termosztátba kerül. A termosztátban magas hőmérsékleten a szeletek gyakorlatilag rásülnek a tárgylemezre. Utána következik a festés, melynek első fázisa a festő automatában a paraffin kivonása az anyagból. Majd ezt követően megfestik a sejtek magját és a plazmáját, míg végül fixálják a festéket. Így készülnek el a színes tárgylemezek, melyeket hajszálvékony üveg fedőlapokkal fednek le, hogy a vizsgálandó metszetek ne sérülhessenek meg. [3]

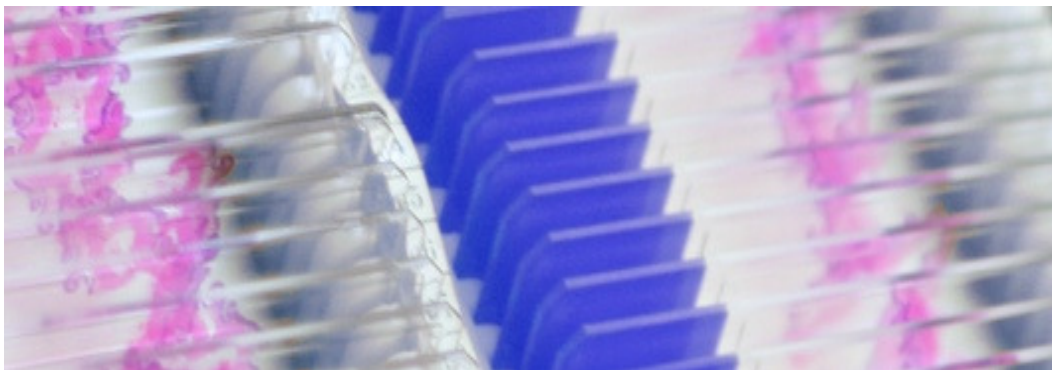


1. ábra. A mikroszkópos vizsgálat lépései

Ekkor következik a szövettani vizsgálat legfontosabb része a véleményalkotás. Ezt a patológus szakorvos végzi, aki mikroszkóp alatt, különböző nagyításokban vizsgálja meg a metszeteket. Nagyon sok szempont figyelembevételével állítja fel a végleges döntést. Megnézi a sejtek alakját, azok esetleges eltérését a normálistól, a sejtosztódások számát és helyét, az erek érintettségét, stb. Amikor mindezeket végignézte, és egyértelmű számára, hogy mit lát, akkor lediktálja a diagnózist és egy úgynevezett mikro leírást, tehát azt, hogy a metszetben pontosan mit látott és mire alapozta a véleményét. [3]

2.2 A digitális szövettan megszületésének okai

Ez a folyamat egészen eddig kiállta az idők próbáját. Azonban újabb és újabb kihívások jelentkeztek, amelyekre a hagyományos patológiai munkafolyamat már nem tudott hatékony választ adni. A mikroszkópos leletek nem tartalmaznak képi információt, és nem biztosítják ennek még a lehetőségét sem. Azt sem szabad elfelejtenünk, hogy végeredményben az orvos és a kutató is ember. Órákon keresztül adott testtartásban ülni, a végtelenbe fókuszálni a szemet (az okulárba nézve), majd a papírra, amire fel akarunk jegyezni valamit - ez biztos recept a fej- és hátfájásra.



2. ábra. Tárgylemezek

Ezek és még sok más probléma hozta létre a patológiában forradalmi változásokat hozó új technológiát, a digitális szövettant. A digitális szövettan tulajdonképpen a digitalizált metszetek elemzése monitoron. A szövettani metszetek hagyományos, mintegy száz éve létező mikroszkópos vizsgálata helyett teljesen digitalizált rendszert kínál [4]. Egy speciális

mikroszkóp-szkenner segítségével a szövetminták metszetei - melyeken a daganat diagnózisát és terápiás lehetőségeit jellemző molekuláris szintű festések történtek - digitalizálhatók, és egy programmal könnyen tanulmányozhatók, összekomponálhatók, elforgathatók, kicsinyíthetők, nagyíthatók, így gyorsan pontos vizsgálati eredmények állnak az orvosok rendelkezésére [5]. Ezen kívül szükség van még hozzá egy nagyteljesítményű számítógépre, egy nagyfelbontású monitorra, és nagy tárhelyre.

Nagyszámú beteg mintáinak elemzésével a betegek állapota (gyógyulás, áttétképzés, esetleg a betegek elvesztése) összevethető a szövetmintákban vizsgált egyes molekulák megjelenésével, melyek szerepet játszhattak a rák kialakulásában, fenntartásában. A klinikai tanulmányok leírhatják, hogy egy-egy ilyen úgynevezett "biomarker" molekula jelenléte például kapcsolatban van-e a rosszabb túlélési eséllyel, esetleg az adott molekulát célzó terápiás beavatkozás is lehetségessé válik. A felismert elváltozásokat mennyiséggé lehet alakítani – a hagyományos mikroszkópos vizsgálatok során alkalmazott szubjektív skálát mikrométerben vagy grammban is ki lehet fejezni. Ezzel a technikával sorozatmetszeteken akár háromdimenziós, komplex molekuláris struktúrában jeleníthető meg a vizsgált anyag, vagyis láthatóvá válik az is, hogy a kóros sejtek egymáshoz képest hol helyezkednek el, milyen sejtek vannak az adott területen és a vizsgált molekulából mennyi van a sejtekben. [5]

Kutatási célból, az úgynevezett szöveti mikro-"chip" (tissue microarray, vagy TMA) módszerben egy hagyományos metszeten akár több száz betegből származó mikro-betegminta helyezhető el, melyek mindegyike így is akár 20-30 ezer sejtet tartalmaz. Így az elhelyezett betegminták számával arányos mértékben csökkenthetők a kutatás költségei, az alkalmazott reagensek és munka mennyisége. A keletkezett adatbázis - klinikai, patológiai és digitális képi adatok ezreinek csatolt feldolgozása - a digitális metszet kezelésére is alkalmas speciális programmal végezhető el. A digitális mikroszkóp egy-egy TMA mintáról százszoros nagyítással kb. 12 ezer felvételt készít néhány perc alatt, ami 1 GB helyet foglal el, így a rendszer jelentős tárolókapacitást is igényel. Hagyományos technikával a patológusnak a mikroszkópos nagyító lencse változtatásakor mindig újra kell állítania a minta élességét. A digitalizált metszet éles nagyított felvételek együttese, így a számítógép egérgombjának tekerésével folyamatosan nagyítható-kicsinyíthető, miközben mindig éles marad. Egy, a mm 200-300-ad részének megfelelő vastagságú hagyományos metszetben választható akár több optikai sík is, melyek egymásra vetítésével például a daganatos szövet még finomabb jellemzői is feltérképezhetők. A digitális technika rendkívüli előnye, hogy egyszerre

kezelhető több száz szövetminta, az összes ahhoz tartozó betegadattal együtt - a kiértékelést nagyon megkönnyíti, és az emberi tévedés lehetőségét is kiküszöböli a számítógép. [5]

A digitális képábrázolás megjelenése a patológiában új lehetőségeket nyit a diagnosztikában, kutatásban és ma már az oktatásban is. Az üveg tárgylemezek digitalizálása és utána vizualizálása a virtuális mikroszkópban lehetővé teszi az oktatás teljes forradalmasítását. Az orvosi és oktatásbeli alkalmazáson kívül számos egyéb területen - a gyógyszerkutatásban, a biotechnológiai fejlesztésekben, a kémiai kutatásban, az igazságügyi orvostani szakértés területén, a kriminológiában - jó szolgálatot tehet. [6]

A digitális patológia terén a hazai ipar világszinten is csúcstechnológiát képvisel.

2.3 A digitális szövettan kezdetekben

Az ötlet Dr. Molnár Béla fejében született meg, aki orvosi és laboratórium vezető munkája során rendszeresen találkozott a tárgylemezek elemzésekor felmerülő feladatokkal, nehézségekkel, gondokkal. Ezek megoldásának szándéka informatikai érdeklődésével párosulva eredményezte azt, hogy 10 évvel ezelőtt kidolgozta a virtuális tárgylemez és a virtuális mikroszkópia elképzelését. Akkor talán rajta kívül senki sem hitt igazán elgondolásában. Így megkereste a megfelelő embereket, akikkel elkezdte a fejlesztést. Az alkalmazásához szükséges első programokat a BME végzős diákjai írták meg. [7]



3. ábra. Dr. Molnár Béla

Dr. Molnár Béla kandidátus, belgyógyász, gasztroenterológus szakorvos, a SOTE II. számú Belgyógyászati Klinikáján gyakorló orvos, a SOTE általa alapított Sejtanalitikai

Laboratóriumának vezetője, akinek rendkívüli teljesítményét 2006-ban Gábor Dénes díjjal ismerték el. Ezt az elismerést a virtuális mikroszkópia, ill. a digitális szövettan elméletének kidolgozásáért, eszközeinek kifejlesztéséért, az eljárás hazai és nemzetközi elterjesztésében végzett kiemelkedően sikeres tevékenységéért, a graduális hisztológiai oktatás létrejöttében vállalt meghatározó munkájáért, a virtuális mikroszkópos alkalmazások fejlesztését folytató, világszinten elismert cége megszervezéséért kapta. [7]

A 3D HISTECH Kft. 1991-ben alakult, műszaki kutatást és fejlesztést végző, hazai tulajdonú, spin-off vállalkozás. 1996 óta foglalkozik orvosi, alapvetően mikroszkópos műszerfejlesztéssel. Mára világvezetővé vált a virtuális mikroszkópia területén. Fő terméke a Digitális Szövettani Laboratórium. Ez egy több komponensből álló technológiai fejlesztés, amivel pontosabbá, hatékonyabbá, gyorsabbá, kvantitatívvá, akár 3 dimenzióssá tehető a szövettani minták kiértékelése. Részei:

- . vonalkódolt speciális tárgylemezek,
- . tárgylemez tartó dobozok,
- . automatikus tárgylemez digitalizáló rendszer,
- . digitális tárgylemez server számítógépek,
- . digitális orvosi munkaállomás,
- . programcsomagok, amelyek a digitalizált tárgylemez virtuális mikroszkópos kiértékelését támogatják. [7]

Első próbálkozásként már felvett digitális képeken próbált elemezni. Rövidesen rájött, hogy ez nem elegendő: a képeket elő is kell állítani, mégpedig úgy, hogy nem elég egy látómezőről egy képet felvenni, hanem a teljes tárgylemezt be kell szkennelni, összes fontos részéről digitális képet kell készíteni. Az erre alkalmas céleszköznek lényeges feladata, hogy gyorsan végezze el ezt a munkát, továbbá, hogy kezdjen el úgy működni, mint egy mikroszkóp: legyen változtatható, hogy mekkora részét látjuk a mintának, tudjunk belenagyítani, „belezoomolni” a képbe [7].

Az első időkben több napig tartott 1db tárgylemez beszkenelése és viszonylag sok helyet igényelt. Ebben az időben a CD volt a legfejlettebb, legfontosabb hordozható tárolóeszköz és egy tárgylemez információ tartalmának tárolása legalább 3 CD-t igényelt. A cég fejlesztései a továbbiakban jelentős mértékben irányultak a készülékek gyorsaságára, a megbízhatóság mellett [7].

A cég működésében meghatározó szerepet játszanak humán erőforrásai, belső és külső

együttműködései. A vállalkozásban informatikus, villamosmérnök, gépészmérnök, fizikus, optikus, szemész, sok területről érkezett munkatárs dolgozik, ők valamennyien épp a különböző szemléletükkel tudják alakítani a vállalkozást és annak szemléletét, termékeit. Olyan csapatot sikerült kialakítaniuk, amelyik sosem elégszik meg azzal, amit már létrehozott, rögtön továbblép és keresi, hogyan lehet még jobbat, még szebbet kifejleszteni. [7]



4. ábra. Az első digitális szkennerek egyike

2.4 Innovációs díj

A megfogalmazott ötletet követően a hardvert, az úgynevezett metszetszkennert, az ASK Rt. műhelyében fejlesztették és valósították meg. A több tízezer óra fejlesztői munkát igénylő szoftvert a 3D HISTECH Kft. csapata készítette, a rendszert pedig a Semmelweis Egyetem Sejtanalitikai Laboratóriumában tesztelték. A teljes munka mintegy 4 évet vett igénybe, értéke pénzben nem fejezhető ki. A rendszer elnyerte a 2003. év legjobb magyar innovációjának járó elismerést. [6]

A Magyar Innovációs Szövetség a szellemi termékek létrehozását, elterjesztését, illetve átadását, átvételét és gyakorlati hasznosítását kívánja segíteni annak érdekében, hogy növekedjék a vállalatok és velük a magyar gazdaság teljesítménye, jövedelemtermelő képessége, illetve hogy az innováció segítségével felgyorsuljon a modernizáció és ennek eredményeképpen a gazdasági fejlődés. [9]

Az innováció eredménye: A HI-SCOPE automata tárgylemez-digitalizáló rendszer és a virtuális mikroszkóp programcsomagok segítségével a világon először lehetővé vált a

mikroszkópos kiértékelések elvégzése teljesen digitális környezetben. A digitális hisztológiai laboratórium kifejlesztésével modern, kényelmes, biztonságos, munkakörülményeket és eszközöket teremtenek, ennek a száz éve gyakorlatilag változatlan orvos diagnosztikai munkának, elősegítve ezzel a gyorsabb, pontosabb, hatékonyabb, reprodukálhatóbb szövettani diagnosztikát. [9]



5. ábra. Dr. Molnár Béla átveszi az Innovációs díjat

2.5 A hardverek

Az üveg tárgylemezen és a mikroszkópon alapuló hagyományos patológiai munkafolyamat egyre kevésbé felel meg a modern betegellátás követelményeinek. A korlátok főként abból az elavult módszerből fakadnak, ahogyan kinyerik és feldolgozzák a metszeten található információt.

Egyszerű és mégis hatásos párhuzam vonható a fényképezéssel. Ha összehasonlítjuk a mostani és az akár csak 10 évvel ezelőtti fényképezőgép-piacot, egy dolog biztos: a digitális fényképezőgép jött, látott és győzött. A digitális fényképezőgép nemcsak azonos vagy akár jobb képminőséget produkál, mint a hagyományos filmes, hanem gyorsabb és kényelmesebb használni is, valamint segítségével a felhasználó egyszerűen szerkesztheti, nyomtathatja és megoszthatja a képeit. A mikroszkópiában most ugyanez a folyamat zajlik. [10]

Ha a teljes felszerelést nézzük, amihez a virtuális mikroszkópiának szüksége van, akkor a következőket sorolhatjuk fel: metszet-szkenner, nagyteljesítményű számítógép, nagyfelbontású monitor, nagy tárhely, szélessávú internet.

Amikor 1998 tájékán ez a koncepció megfogalmazódott, egy jó ötletnek látszott, de egy

olyannak is, amit lehetetlen megvalósítani. Akkoriban ugyanis a számítógépek nem rendelkeztek elegendő számítási teljesítménnyel, a tárhely pedig igen drága volt. Ezek a tényezők sokat fejlődtek azóta. Jelenleg a virtuális tárgylemez koncepciója virágzását éli, és egyre több ember kezdi élvezni az általa nyújtott előnyöket. [10]

A virtuális mikroszkópia a virtuális tárgylemez koncepciójára épül. A virtuális tárgylemez az üveg tárgylemezen lévő minta digitális képe. A számítástechnika és a technológia néhány év alatt végbement fejlődése során jelentősen gyorsultak a számítógépek, finomultak a szkennelési technikák, technológiák, új ötletek, algoritmusok születtek - mindezek alkalmazásának eredményeként ma igen gyorsan beszkennehető egy tárgylemez. A gyorsítás érdekében ma már nem szkennelik be az egész tárgylemezt. Működtetnek a mikroszkópban egy ún. preview kamerát, ami nagyjából megnézi, hogy hol van minta és csak azt a részét szkenneli be a tárgylemeznek, ahol talált. A sebesség jelentős mértékben függ (az alkalmazott számítógép mellett) a kamerától is. Többféle kamera-opció van: léteznek drágább, gyorsabb, vagy drágább, nagyobb felbontású kamerák, és vannak kisebb felbontású, de pontosabb kamerák. Ugyancsak jelentős szerepet játszik a fényerő. A mikroszkópok nem csak átmenő fényes mikroszkópiára képesek, hanem fluoreszcens mintákat is képesek beszkenneelni. [10], [7]

Természetesen a digitális kép felbontásának megfelelőnek kell lennie, vagyis ugyanazt a minőséget kell látnunk, mint a mikroszkóp okulárjába nézve. Hogyan érhető ez el? A következő a megoldás: ahelyett, hogy egy, nagy felbontású képet készítenénk a mintáról (akkora felbontásút készíteni jelenlegi tudásunk szerint még jó ideig nem lehetséges), akár több tízezer kisebb képet veszünk fel a mikroszkóp objektíven keresztül. [10]

A lépések a következők:

- **Fókuszálás:** a tárgylemezt Z-irányban mozgatjuk, amíg a program nem észleli, hogy az objektíven keresztül látott kép a lehető legélesebb.
- **Képfelvétel:** a digitális képalkotó szenzor felveszi a képet, és eltárolja a számítógépen.
- **A tárgylemez mozgatása a következő pozícióba:** a tárgylemezt X vagy Y irányban mozdítjuk el, úgy, hogy szomszédos legyen az előzőleg felvett képpel. Aztán megint a fókuszálás következik, és így tovább. [10]

Mindez igen egyszerűnek hangzik, és a koncepció valóban egyszerű. Megvalósítani az ötletet azonban egyáltalán nem volt könnyű. A tárgylemez mozgatásánál mindhárom irányban

mikrométeres pontosságot kell tartani. Fejlett képfeldolgozó algoritmusokra van szükség a több ezer képkocka folytonos egymáshoz illesztéséhez. Több tényező optimális koordinálását kell megoldani ahhoz, hogy a szkennelés sikeres legyen. A virtuális tárgylemez vizsgálatának is gyorsnak kell lennie. Csak tökéletes optikai paraméterekkel lehet az aberrációt elkerülni és állandó magas minőséget elérni. Nagysebességű képtömörítési eljárásokat kell alkalmazni a helytakarékosság miatt, miközben megőrizzük a jó képminőséget. [10]

A 3DHISTECH Kft.-nél folyó fejlesztési folyamatban különválnak a szoftver és a hardverfejlesztés. A hardverfejlesztés kevésbé rugalmas, hisz itt nem elég a meglévő igényeket fontossági sorrendbe állítani. Messzemenőig figyelembe kell például venni, a meglévő berendezésekkel való kompatibilitást. [10]

Több fajta digitális szkennerek megalkotása fűződik a 3DHISTECH Kft. nevéhez. A főbb közös tulajdonságok a következők:

- Nagy sebességű tárgylemez mozgás X, Y és Z irányban
- A minta automatikus felismerése
- A fő kamera a szkenneren kívül helyezkedik el, hogy könnyen és gyorsan ki lehessen cserélni
- Minden általános 1D és 2D vonalkód olvasása, a szkennelt tárgylemezek vonalkód szerinti csoportosítása. [8]

A szkennerek mozaikos szkennelést használnak a virtuális tárgylemez elkészítéséhez. Ez azt jelenti, hogy a minta nagy felbontású képe úgy keletkezik, hogy az objektív teljes nagyításán akár több ezer különálló képet veszünk fel, majd ezeket összekapcsoljuk, így folyamatos képet adnak. A kép felvétele egy nagysebességű digitális kamerával történik. A CCD érzékelő az objektív által adott kép közepét veszi fel, amely így mentes az optikai aberrációktól. Miután megtörtént a kép felvétele, a tárgylemez-továbbító mechanizmus a következő képkockára viszi a mintát, és közben ügyel arra is, hogy fókuszált maradjon a kép. [8]

Természetesen meg kell birkóznunk a rosszabb minőségű metszetekkel is, amelyek változó vastagságúak (pl. felgyűrődtek). Ezért a fókuszt folyamatosan felül kell vizsgálnunk, hogy mindenhol éles képeket kapjunk. Néha azonban még ez sem elég, ugyanis egy látómezőn belül is eltérhet a minta vastagsága. Ez a probléma viszonylag egyszerűen kiküszöbölhető a mikrométercsavar használatával a hagyományos mikroszkópnál. Mivel hatalmas tárhelyet emésztene fel, ha minden egyes fókuszcípon eltárolnánk a képkockákat,

ezért a szkennerek a kiterjesztett fókuszálást használják ilyen esetben. A kiterjesztett fókuszálás annyit tesz, hogy az egyes látómezőket több fókuszszíkban vesszük fel (ennek a mértékét a felhasználó állíthatja be), az alapértelmezett fókuszszík felett és alatt. A képfeldolgozó algoritmus ezután minden egyes képet nagyon kicsi részletekre bont, és az azonos helyen elhelyezkedő kis részleteket hasonlítja össze egymással. Amelyik kis részlet a legélesebb, az kerül a végső kép adott helyére. Az eredmény egy mindenhol éles, virtuális tárgylemez lesz - ez a hagyományos mikroszkóppal elérhetetlen. [8]

A 3DHISTECH Kft. első szkennere, amellyel az innovációs díjat is megnyerte a Panoramic Scan. Ez a gyors, nagyfelbontású szkennerek egy menetben, automatikusan 150 tárgylemezt képes bedigitalizálni. Automatikusan felismeri a mintát a tárgylemezen, beolvassa az esetleges vonalkódot, és aszerint csoportosítja, beszkeneli illetve ki- és beadagolja a mintákat. Az eredmény kitűnő minőségű és nagy felbontású virtuális tárgylemezek a számítógépén. Támogatja a fluoreszcens szkennelést. Segítségével lehetőség nyílik arra, hogy a minta bizonyos részeit (pl. egyes fehérjék) fluoreszkáló festékekkel fessék meg. Az ily módon festett mintát aztán speciális hullámhosszú fénnel megvilágítva, a festett részek fluoreszkálni kezdenek, amit a kamera rögzít. [25]



6. ábra. Panoramic Scan

A másodikként a Panoramic DESK nevű szkennerek megalkotása következett. A különbség a Panoramic Scanhez képest az, hogy ez a kompakt, hangszigetelt és apró szkennerek csak egyetlen tárgylemez gyors és kitűnő minőségű bedigitalizálására képes. Ezért főképpen kisebb laboratóriumok és egyes patológusok számára nagyon hasznos, de tökéletes eszköz lehet oktatás céljaira is, azonban ez a szkennerek nem képes fluoreszcens szkennelésre. [26]



7. ábra. Pannoramic Desk

A harmadikként a Pannoramic MIDI megalkotásán volt a sor. Ez a szkennerek egy menetben 12 tárgylemezt képes beszkennelelni és ez a gép képes a fluoreszcens szkennelésre is. Ezen tulajdonságai miatt leghasznosabb kórházak patológiai osztályán és a gyógyszerkutató laboratóriumokban alkalmazni. [27]



8. ábra. Pannoramic MIDI

Bár nem szorosán a virtuális mikroszkópia része, de érdemes megemlíteni még egy eszközt, ami a TMA Master nevet kapta. Ez a gép szöveti mikroblokkok készítésére alkalmas, amit kézzel elkészíteni igen időigényes és nehéz feladat, nem is beszélve arról, hogy egyáltalán nem standardizált. Ezzel a géppel akár 400 mintát is lehet illeszteni a tárgylemezre. A beépített digitális kamera segítségével közvetlenül és pontosan meghatározható a kiszúrás helye. Azért is nagyon fontos ennek a gépnek a megalkotása, mivel így a szövettani elemzés kevesebb reagenst, tárgylemezt és időt vesz igénybe és akár standardizált laboratóriumi körülményeket is teremthetünk vele. [28]



9. ábra. TMA Master

2.6 A szoftverek

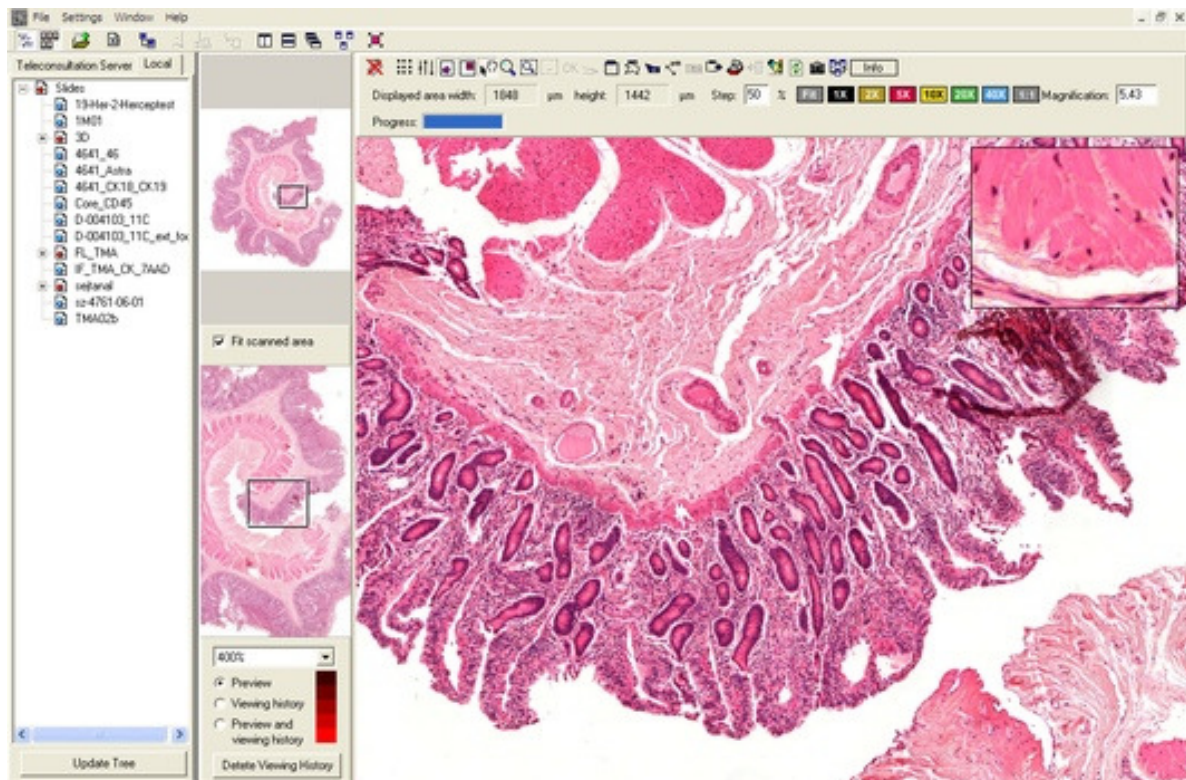
A szoftverfejlesztés rendkívül rugalmas: miután lehetetlen az összes felmerülő igényt egyszerre kielégíteni, működik egy gördülő fejlesztési lista. Amikor egy szoftver fejlesztése lezárul és újat kezdenek, akkor választanak a rengeteg igényből. Sok szempont alapján végigszűrjük a listát, majd felállítanak egy feladatsorrendet, elemeire bontva azt. Amikor elkészül a szoftver, tesztelik, majd egy hibakövető rendszeren keresztül visszajuttatják a fejlesztőkhöz, akik kijavítják és így tovább. Hiba esetén eldöntendő, hogy az kritikus e, vagy nem, mi azaz esetleg létező, ismert hiba, ami majd csak később kerül javításra. Mindenesetre, menet közben is módosulhatnak a prioritások, hisz előfordul, hogy egy, a fejlesztési periódus elején nem kritikusnak tűnő problémáról kiderül, hogy az. [7]

A 3DHISTECH Kft. sokféle szoftvert állított már elő, ami mind a digitális szövetant segíti elő. A legelső és talán a legfontosabb program a Panoramic Viewer. Ezzel nemcsak megtekinthetjük a tárgylemezt, de annotációkat és méréseket is végezhetünk vele. A Panoramic Viewert megnyitva az összes virtuális tárgylemezt láthatja kis képeken. Egyszerre akár tízet is megnyithatunk, amelyek így a virtuális mikroszkóp virtuális objektívje alá kerülnek. Itt folyamatos és gyors mozgásra és nagyításra van lehetőség az egér segítségével. Fontos kiemelni, hogy igen gyors, ugyanis egy nagyobb virtuális tárgylemez több GB méretű is lehet. [29]

Főbb tulajdonságok:

- A virtuális tárgylemez folyamatos mozgása és nagyítása
- Könyvjelző (annotáció) elhelyezése, korábbi könyvjelzők keresése

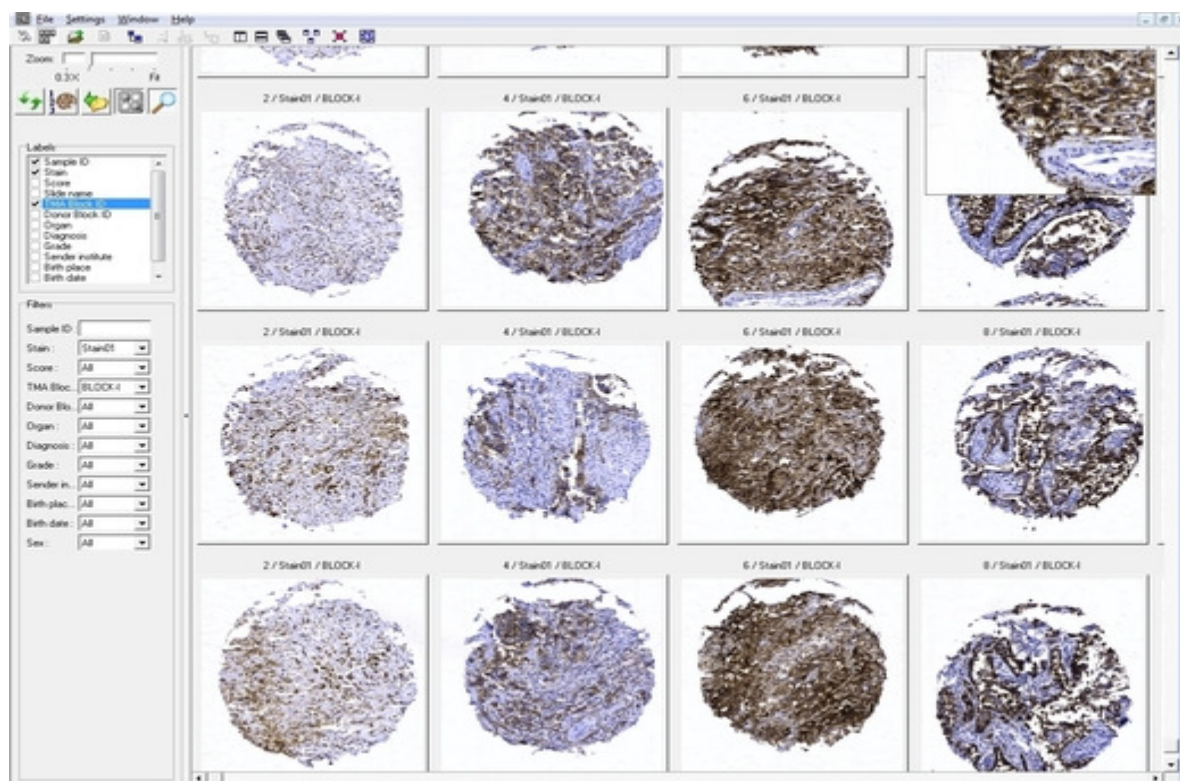
- Könnyen és pontosan elvégezhető mérések
- A színértékek, világosság és kontraszt valós idejű beállítása
- Tárgylemez feltöltése telekonzultációra
- Szinkronizált nézet több tárgylemez összehasonlítására
- Tárgylemez részletének képként való elmentése
- Könnyedén kiterjeszhető funkcionalitás a szoftvermodulok segítségével. [29]



10. ábra. Pannoramic Viewer

Egy másik nagyon jelentős szoftver a TMA, amely a szöveti mikroblokkok készítéséhez használt TMA Master hardverhez tartozó szoftver. A szöveti mikroblokkok nagy előrelépést jelentenek a gazdaságosság és állandó minőségi követelmények felé az immunhisztokémiában ugyanis akár több száz mintát illeszthetnek egy tárgylemezre, amelyeket így egyszerre festenek meg. A mintát tartalmazó paraffin blokkból egy tűszerű szerszámmal kis hengereket emelnek ki, majd illesztnek bele a recipiens blokkba. A metszés után ezek a metszetek tárgylemezre kerülnek, majd megfestik őket. A program segítségével a minták közül többet is meg is tudunk jeleníteni egyszerre a képernyőn és így együtt látva a mintákat könnyebben össze is lehet őket hasonlítani. [30]

A TMA technológia akkor mutatja meg, mire képes, ha az orvos csak arra kíváncsi, bizonyos tulajdonságú szövetrészek (általában fehérjék) vannak-e a mintában. Az immunhisztokémia eszköztárával ezek a speciális részecskék megfesthetők, így nagyon eredményesen alkalmazhatók pl. a rákdiagnosztikánál. Az immunhisztokémiánál nagyon fontos, hogy konstans minőségű legyen a festés, ezért is jó ötlet minél több mintát a tárgylemezre tenni. Ezzel azonban a hagyományos mikroszkóp nem tud lépést tartani, ugyanis egyrészt nagyon megnövekszik az adminisztrációs munka a minták számának növekedésével, másrészt a navigálás sem egyszerű. Meg kell találnunk az adott pontot, feljegyezni a hozzá tartozó diagnózist, majd a következő pontra ugrani. Ha ellenőrizni szeretnénk a diagnosztikai folyamat alatt adott értékeinket, akkor ez szinte lehetetlen az analóg mikroszkóp tárgylemezmozgatásának jellege miatt. [30]

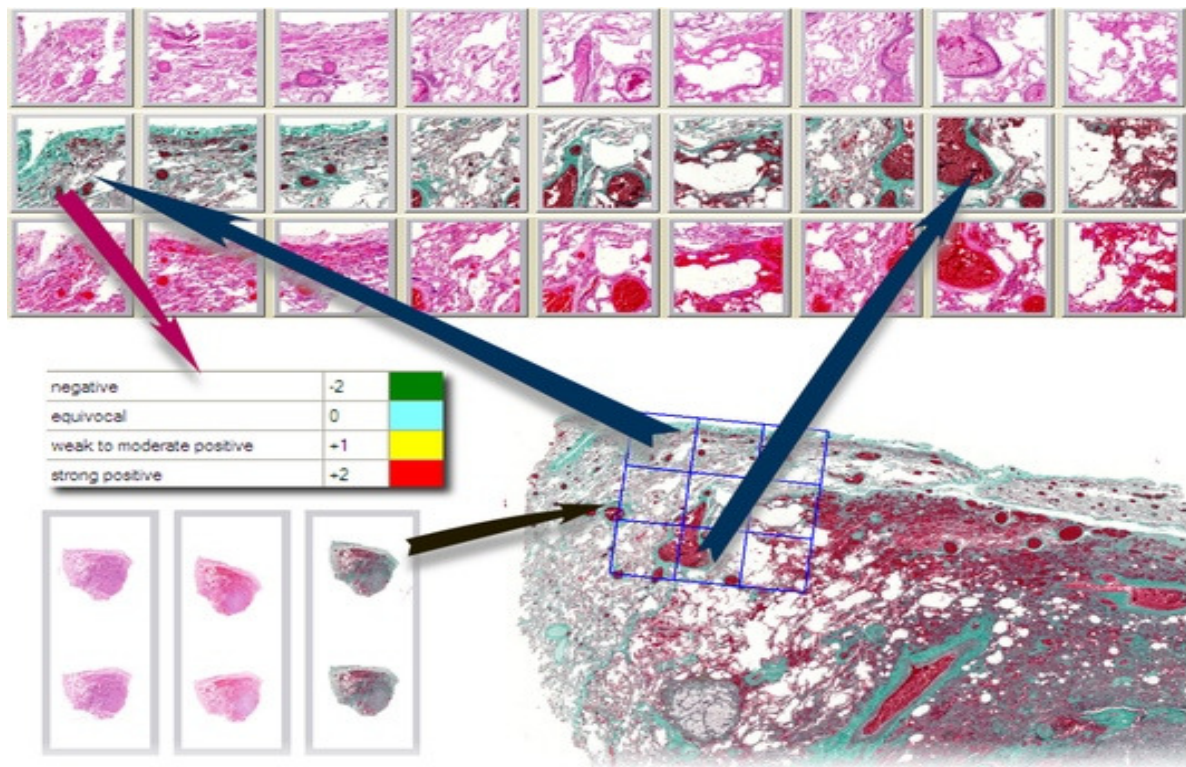


11. ábra. TMA

Következő szoftver, amit igen fontos megemlítenünk az ImmunoScreener. A program ugyanazon a koncepción alapul, mint a TMA, vagyis: projekt alapú szoftveralkalmazás nagy mennyiségű adat kiértékelésére. Mint a nevéből is látszik, az ImmunoScreener az immunhisztokémiai festésű tárgylemezekhez készült. Az immunhisztokémia eszközeivel

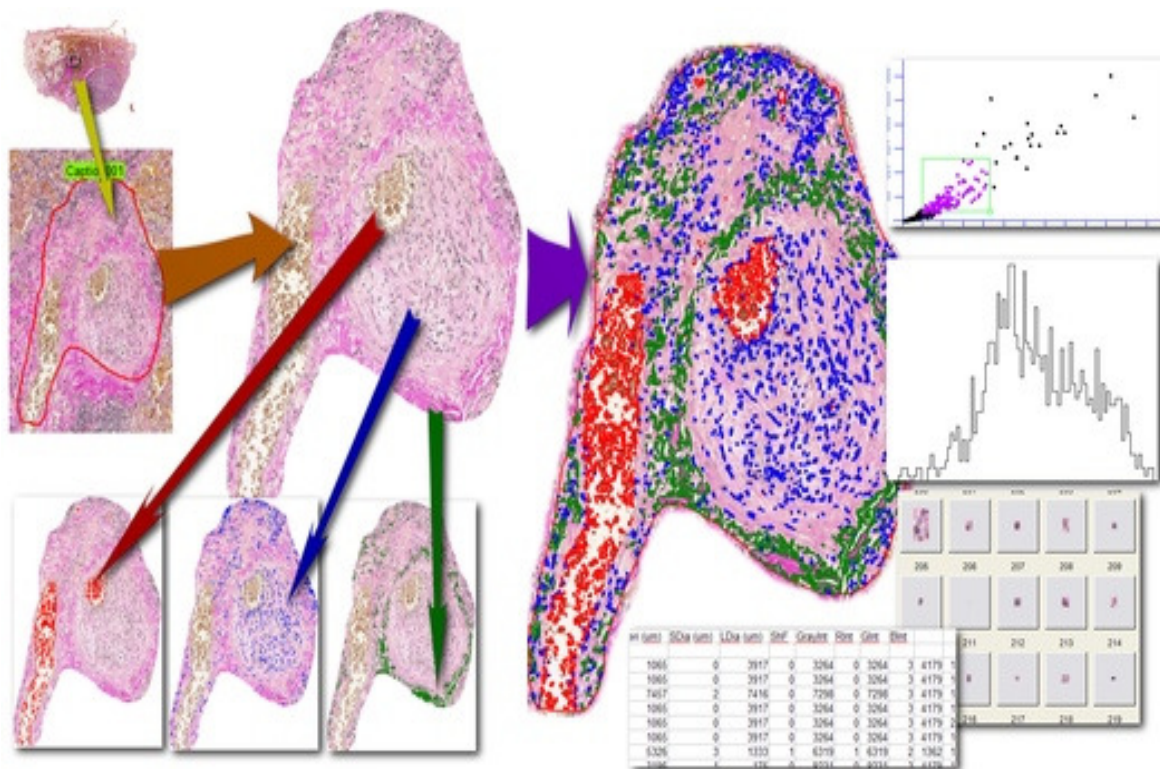
ugyanazon minta metszeteit különbözőképpen festhetjük meg, így más és más elemeket emelhetünk ki. [31]

Az ImmunoScreener rács alapú képszegmentálást alkalmaz a metszetek kiértékeléséhez. Ha ugyanazt a rácsot ráillesztjük ugyanannak a mintának a különbözőképpen megfestett metszeteire, méghozzá pontosan ugyanarra a részre, akkor a rács egyes celláit könnyedén ki tudjuk értékelni és összehasonlítani. Egyszerre több felhasználó is dolgozhat a projekten, az elmentett értékekből pedig statisztikákat készíthetünk. Ily módon a különbözőképpen megfestett tárgylemezek kiértékelése standardizált és objektív lesz, a különböző felhasználóktól kapott értékekből például átlagot is vonhatunk. [31]



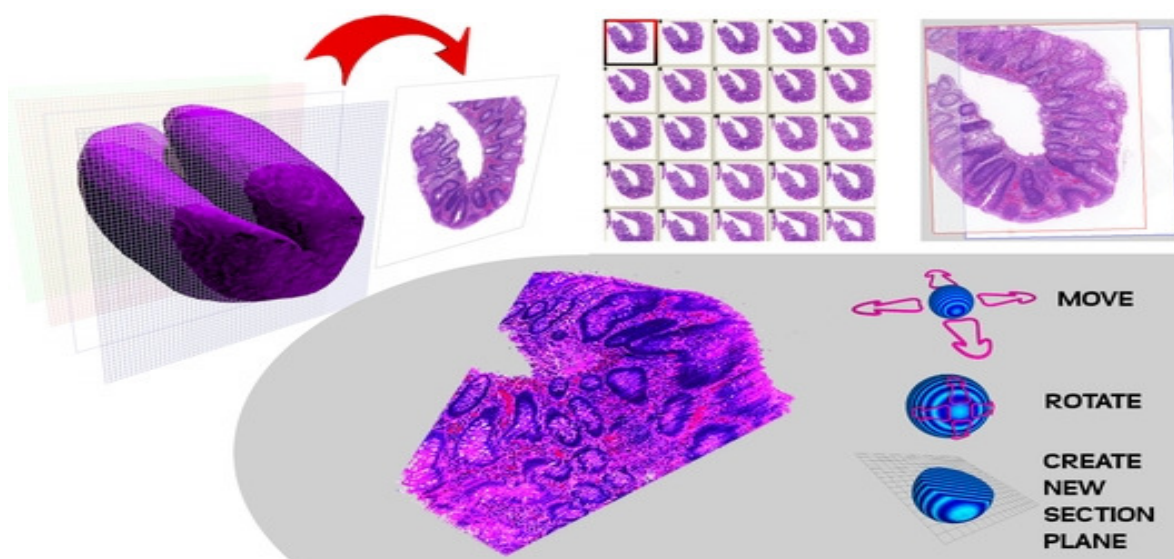
12. ábra. ImmunoScreener

A HistoQuant nevű szoftver egy kvantitatív és kvalitatív méréseket végző szoftvermodul. Képes sejtszámlálásra, és a sejtek jellemzőinek mérésére (alak és sűrűség szerint). Az elmentett makrókat újra be lehet tölteni, a mérési eredmények pedig a tárgylemezbe íródnak. Igen fontos, hogy magas fokú integráltság biztosítható a Panoramic Viewer-rel és az ImmunoScreener-rel illetve, hogy használható átmenőfényes és fluoreszcens mintákra is. [33]



13. ábra. HistoQuant

A szövetek 3D-ban való megjelenítésére is lehetőség van egy program segítségével. Így az MRI-hez és a CT-hez hasonlóan, most már a patológusok is három dimenzióban vizsgálhatják a szövetstruktúrákat. Ez igen fontos, mivel így a szakemberek pontosabban meg tudják vizsgálni a sejtek alakját, méretét, egymáshoz képesti elhelyezkedését. [34]



14. ábra. A Panoramic Viewer 3D modulja

Folyamatos kommunikáció zajlik a szoftver és hardver fejlesztői között, ami többek között azért is elengedhetetlen, mert folyamatosan dönteniük kell arról, hogy a meglévő készülékeket tudják-e és, ha igen, hogyan, a kívánt magasabb szintre fejleszteni, vagy az igény kielégítése új készülék fejlesztését jelenti – ehhez más szellemiség szükséges. A két terület szakemberei természetesen törekszenek arra, hogy teljesítéseiket közösen időzítsék. [7]

2.7 Telepatológia

Távgyógyászat, távdiagnosztika. Az orvoslás e modern formái Magyarországon még gyerekcipőben járnak, mégis, vannak már olyan informatikai fejlesztési irányok, amelyekhez az indítórőt, azt a bizonyos első lökést a távdiagnosztika adta. És ahogy az a legtöbb esetet jellemzi, egy technológiai fejlesztés eredménye sokkal többet jelent, mint egyetlen probléma megoldását. [6]

Az ötlet a Belügyminisztérium Központi Kórházának Patológiai osztályán született. Az intézményben már 1995-ben távgyógyászati kísérleteket indítottak; megoldották, hogy egyes vizsgálatokat - a távközlési hálózat felhasználásával - a távolból is követni lehessen [8]. A telepatológiai fejlesztés lényege tehát hogy két orvos vagy két kórház is tudjon egymással kommunikálni. Tegyük fel hogy van egy beteg akinek egy különleges problémája van. Az ő mintája egy helyi kórházban feldolgozásra, digitalizálásra kerül. Ezt utána egy másik orvos, aki ennek a problémának a szakértője, akár a világ bármelyik pontjáról meg tudja nézni és tud egy olyan véleményt adni, amire másképp nem is lehetne esély. Alapjában véve ez adta az ötletet a digitális mikroszkóphoz [11]. Ugyanis amikor egy orvos távkonzíliumot akart tartani, mert egy-egy szövettani metszetről folytattak konzultációt, akkor a metszetet is el kellett juttatni a távolban dolgozó szakorvosnak. De a hagyományos módszerekkel az óriási adatmennyiségű, analóg formában tárolt metszetképeknek csak nagyon kis töredékét tudták eljuttatni a távkonzílium résztvevőikhez. A megalapozott vélemény- és diagnózisalkotáshoz tehát nem volt meg minden feltétel. [6]

Óriási előrelépés, hogy gyakorlatilag a metszetek teljes információtartalmát rögzíteni lehet, majd szükség esetén mindazt a távolban dolgozó kollégákhoz el lehet juttatni. Persze az analóg vagy ISDN-vonal nem alkalmas ilyen feladatok elvégzésére, kizárólag valamilyen

szélessávú megoldás jöhet szóba, hiszen egyetlen szövettani metszet 200-500 megabájtnyi grafikus információt tartalmaz. E hálózati összeköttetés ma már lehet 2 megabit/másodperc átvitelű internetkapcsolat is. [6]

2.8 A digitális szövettan előnyei és hátrányai

Mint arról már korábban szó esett, a hagyományos patológiai munkafolyamat már nem tudott minden felmerülő problémára választ adni, ezért volt szükség arra, hogy a digitális mikroszkóp megszülessen. A digitális mikroszkóp egy nagyon jelentős találmány, mivel orvosok ezreinek könnyíti meg a munkáját és emberek millióinak hozhat megoldást egy-egy betegségre. De valóban minden mellette szól, vagy vannak azért hátrányai is ennek a fejlesztési csodának.

A digitális mikroszkóphoz a tárgylemez elkészítése ugyanúgy zajlik, mint a hagyományos mikroszkópnál, tehát e tekintetben nincs sem időbeli, sem pénzübeli különbség a két módszer között. A hatalmas különbség mégis abban áll, hogy minden a számítógépen digitális formában tárolható. Ez részben tárolási szempontból is nagy előrelépés, mivel nem kell tárgylemezek millióit eltárolni, részben pedig azért is nagyon fontos, mert a tárgylemezek idővel megrongálódhatnak, ami a digitális mikroszkóp megjelenésével már nem okoz problémát. Az így elkészült képek nem csak hogy könnyen és kényelmesebben elemezhetőek, de az adott szoftverekkel rengeteg transzformáció is végezhető velük, amit korábban nem, vagy csak nagyon körülményesen lehetett elvégezni. Jelentős előrelépés az is a korábbiakhoz képest, hogy a szoftverek segítségével egyszerre kezelhető több száz szövettanminta, az összes ahhoz tartozó betegadattal együtt.

Lehetőség van olyan új dolgokra a szövettanban, amire eddig még nem volt példa. Ilyen például a szövetek 3D-s előállítás, illetve a telepatológia.

A 3D-s előállítással képesek az orvosok egész sejteket, és ezáltal ezek alakját, méretét, egymáshoz viszonyított elhelyezkedését megfigyelni. A telepatológia segítségével pedig teljesen megszűntek a távolságok a szövettani diagnosztikában.

A digitális szövettannal a kutatás költségei, az alkalmazott reagensek és munka mennyisége is csökkenthető, mivel egy hagyományos metszeten akár több száz betegből származó mikro-betegminta helyezhető el, így kevesebb felhasznált anyagra és időre van

szükség ezek elkészítéséhez.

Kizárható az emberi tévedés, hiszen amit az ember szeme nem biztos hogy egy mikroszkóp használatakor észrevesz, az a monitoron, beépített szoftverek segítségével sokkal könnyebben felismerhető és bár eleinte igen lassan lehetett beszkennelelni egy tárgylemezt és igen sok helyet foglalt el ennek eltárolása a számítógépen, mára már ez is sokat javult.

Az orvosi előnyökön kívül a digitális mikroszkópia egyik legfontosabb várt hozadéka az oktatás korszerűsítése. Elsősorban az alapszintű és posztgraduális orvosképzésre kell itt gondolni, de szóba jöhetnek a jövő biológusai, vegyészei, gyógyszerészei is. A digitális mikroszkópos oktatás lehetőséget biztosít arra, hogy a hallgatók egyidejűleg ugyanazon készítményt vizsgálják, hogy az oktató a hallgatók számítógépét egyidejűleg vezérelve magyarázza el az elváltozásokat és végül, hogy a hallgató az általa legfontosabbnak ítélt képeket rögzítse és pendrive-ra vagy lemezre elmentve vigye haza. Sőt a digitális mikroszkópos képek elérhetőek interneten keresztül is. Nem szükséges évente drága, törékeny mintákat készíteni. A vizsgák lebonyolításához is nagy segítséget adhat az elektronikus anyag. A digitális mikroszkóp ugyancsak egyedülálló lehetőségeket kínál a távoktatás területén. [12]

Ha van olyan berendezés, amelyik a mikroszkóppal felnagyított képet nagy sebességgel digitalizálja, azaz tárolhatóvá és továbbíthatóvá teszi, akkor mi lehet az akadály a technológia elterjedésének?

Erre több magyarázat is van. Leginkább talán a pénz. Bár maga a kutatás költségei ugyan csökkenthetőek a fent említett módokon a digitális mikroszkóppal, azonban a mikroszkóp és a hozzá kapcsolódó nagy teljesítményű számítógép igen jelentős összegbe kerül.

A tároláshoz valóban csak a számítógép szükséges, ami méretileg kisebb, mint a sok millió tárgylemez, azonban erre a típusú tárolásra kevésbé vannak felkészülve például a kórházak.

Az is igaz, hogy a digitális mikroszkóp sebessége sokat nőtt a kezdetekhez képest, azonban még mindig sokkal több idő beszkennelelni egy tárgylemezt, mint betenni a mikroszkópba és ott megnézni.

Bár korábban szó volt arról is, hogy az emberi tévedés kiszűrhető a digitális mikroszkóppal, azonban ez a kérdés megközelíthető a másik irányból is. Vajon a gép jól dolgozott? Nem ejtett hibát?

És még egy nagyon fontos tényező, ami talán a digitális szövettan hátrányaihoz sorolható, az az, hogy sok patológus idegenkedik még a virtuális mikroszkóp használatától, ellenállva az újnak. Furcsa is lehet barátkozni a gondolattal, hogy az évtizedek alatt megszokott, mikroszkóp fölötti görnyedés helyett ma már akár úszómedence mellől, laptopon keresztül lehet diagnosztizálni.

Jelenleg a piac annyira új, annyira friss, hogy egyelőre híján van hatósági előírásoknak, szabályozásnak. Ennek következtében a jelenlegi műszerek hivatalosan még nem használhatók diagnosztizálásra, „csak” arra, hogy segítséget nyújtsanak a patológusoknak a diagnózis felállításában.

Van tehát egy elismerten jó termék, a digitális mikroszkóp. A nagy kérdés, hogy mi lesz a jövője. Csak kísérletképpen használják néhány kórházban, laboratóriumban, vagy van rá esély, hogy elterjed tömegméretekben? Egy laboratóriumi körülmények között, kézi módszerekkel előállított berendezés jövőjét a technológia, a gyártás oldaláról mindig az szabja meg, hogy mennyire sikerül szabványosítani a rendszert, mennyire lehet megteremteni a tömeggyártás feltételeit. A fejlődés abba az irányba mutat, hogy valamikorra egy egységesített rendszer kerül kialakításra, amelyben egy emberre vonatkozóan minden egészségügyi adat rendelkezésre áll majd.

3. A program

3.1 A feladat leírása

A digitális szövettan egyik legnagyobb jelentősége az, hogy apró sejtek vizsgálatakor észrevehetőek olyan elváltozások, amelyekkel felismerhető egy betegség, esetleg annak gyógymódját is meg tudják így állapítani. Egyik ilyen nagyon fontos vizsgálat a sejtekben előforduló kromoszómák számának a vizsgálata. Normális esetben egy sejt kétfajta kromoszómát tartalmaz és mind a két fajtából két darabot, azaz összesen négyet. Ha van olyan sejt, ahol ez nem így van, akkor ott valami probléma van. Azonban szabad szemmel a sejtekben a kromoszómák számolgatása igen kimerítő és igen könnyű hibát vétetni.

A feladat ötletét ez a probléma adta, azaz egy olyan program elkészítése, amely egy digitális szkennel készített képen megkeresi a sejteket, majd megszámlolja, hogy hány darab kromoszóma van egy adott sejtben. Ezzel a programmal jelentősen meg lehetne könnyíteni az orvosok feladatát, mivel a program könnyedén kiírná, melyik az a sejt, amelynél eltérés van és így már csak ezeknek a sejteknek a vizsgálatára lenne szükség.

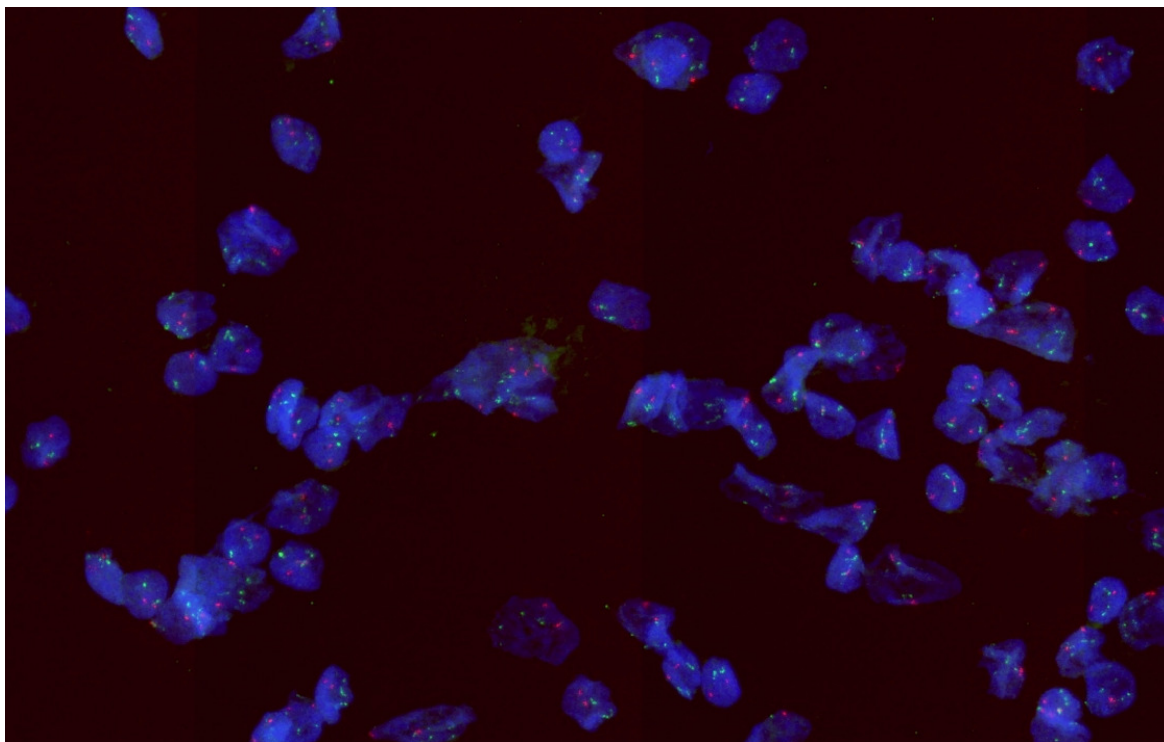
A feladatom tehát egy ilyen funkcióval ellátott program elkészítése volt.

3.2 Mik is azok a FISH képek?

A digitális szkennel által beszkenntelt kép, amelyet a programomhoz felhasználtam egy speciális festési eljárással készített minta digitalizáltja. Ezeket a képeket FISH képeknek nevezzük, ami a fluorescens in situ hibridizáció rövidítéséből ered. A FISH-t DNS kimutatására 1980-ban, mRNS azonosítására 1982-ben írták le. Az eljárás kutató módszereből gyorsan előrelépett diagnosztikus eszközzé és bevonult a molekuláris patológia fegyvertárába. A módszer előnye, hogy a nukleinsavakat egy sejt szinten illetve szöveti környezetben képes elemezni. A próbák kezdeti radioaktív jelzését felváltották a fluorescens festékek, melyek lényegesen jobb minőségű jel-háttérzaj arányt biztosítottak. Az eltelt 20 év során a képalkotó és analízis rendszerek rohamos fejlődésének és a gyárilag előállított jelzett próbáknak köszönhetően ma a FISH technikai kivitelezése nem igényel különösebb molekuláris biológiai előképzettséget, sokkal inkább az eszközigenyessége az, mely gátat szab széleskörű

elterjedésének. [13]

Az eljárás kiválóan alkalmazható kromoszómák számbeli eltéréseinek vizsgálatára, gének szerzett, vagy öröklött deléciójának, vagy amplifikációjának kimutatására. Két gén eltérő színű jelölésével mód nyílik a transzlokációk kimutatására. Ma a diagnosztikában három terület élvezi az eljárás nyújtotta lehetőségeket. Az első a fertőző ágensek kimutatása. A második a nem tumoros örökletes vagy szerzett genetikai betegségek felderítése, ahol a prenatális szűrést és a gyermekkori esetek vizsgálatát végzik. A harmadik, a patológusok számára legfontosabb terület a tumordiagnosztika. A hematológiai tumorok diagnosztikai protokolljában a FISH ma már nélkülözhetetlen. [13]



15. ábra. A programhoz felhasznált FISH kép

3.3 Az első program

A programom első verzióját C# nyelven írtam Microsoft Visual Studio fejlesztői környezetben. Azért választottam ezt, mivel a programomba sok funkciót akartam beépíteni,

amihez szükségem volt arra, hogy létrehozzak egy egyszerű, de annál hasznosabb grafikus felületet, és a Visual Studio ehhez igen bőséges eszköztárat biztosít.

Elsőként mikor átgondoltam a feladatot nem tűnt túl nehéznek, ezért úgy gondoltam, hogy saját algoritmusokkal próbálom megoldani, implementálni.

Alapvető algoritmusok megírásával kezdtem a feladatot, amelyekre vagy csak megfigyelés vagy a későbbiekben a feladat megoldása szempontjából volt szükségem.

Első lépésben megcsináltam a file menüt, ahol be lehet tölteni az elemezendő képet, ki lehet menteni bármilyen aktuális állapotában, amikor valamilyen képfeldolgozási algoritmust végrehajtottam rajta, illetve ki lehet lépni a programból.

Következő lépésben megvalósítottam, hogy a képen egy adott pixelre kattintva a program kiírja az adott pixel R, G és B komponenseinek értékét, illetve egy pixel adott komponenseinek módosításával meg is lehessen változtatni a pixel színét. Erre a későbbiekben a kromoszómák számolásához volt igen nagy szükségem.

Az RGB színtér a monitorok fejlesztése során alakult ki, amikor kényelmes volt a színt három különböző színű sugárnyaláb (piros, zöld, kék) kombinációjaként előállítani. Az RGB színtér a leggyakrabban használt additív színtér digitális adatok processzálására és tárolására. Azonban az egyes színcsatornák között nagy korreláció van.

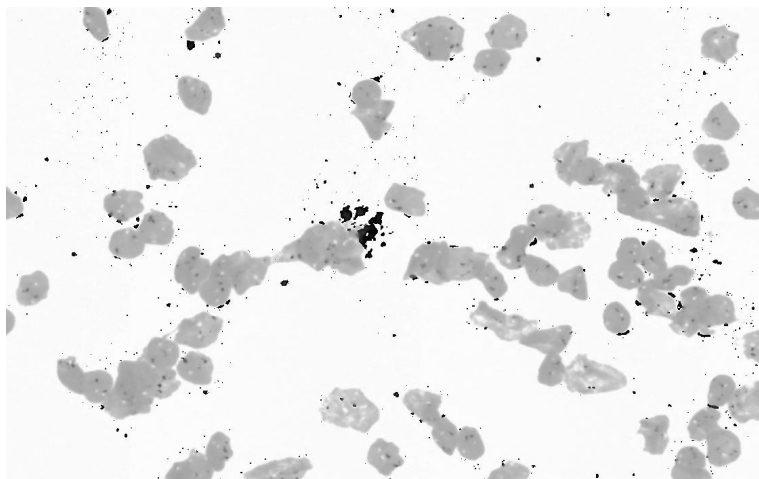
Az RGB komponensek után létrehoztam a HSI színtér komponenseit. Egy adott pixelre kattintva kiírja a program az adott pont H, S és I komponenseinek értékét, illetve a kép megjeleníthető az egyes komponensekkel.

A HSI színtér közelebb áll az emberi érzékeléshez. A hue adja meg a domináns színt, a szaturáció méri a szín telítettségét, az intenzitás pedig a szín luminanciájával kapcsolatos. Az RGB színtérből a HSI színtérbe való transzformáció a következő képletekkel adható meg:

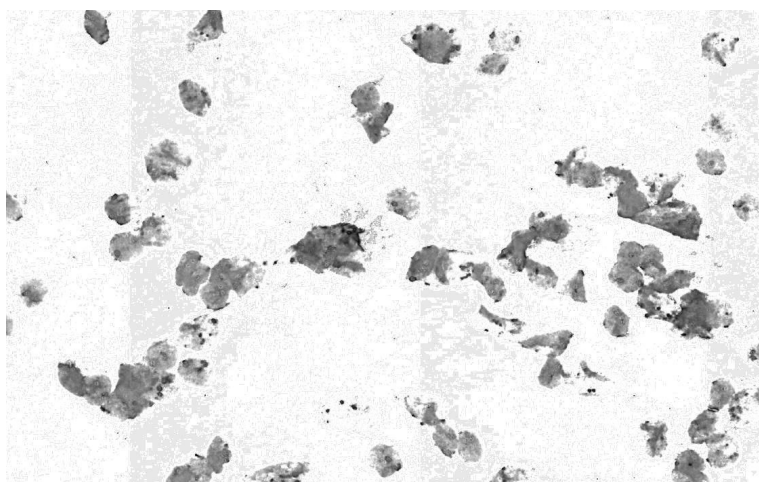
$$H = \begin{cases} \arccos \frac{\frac{1}{2}((R-G) + (R-B))}{\sqrt{(R-G)^2 + (R-B)(G-B)}}, & \text{ha } B > G, \\ 2 - \arccos \frac{\frac{1}{2}((R-G) + (R-B))}{\sqrt{(R-G)^2 + (R-G)(G-B)}}, & \text{egyébként} \end{cases}$$

$$S = 1 - 3 \frac{\min(R, G, B)}{R + G + B},$$

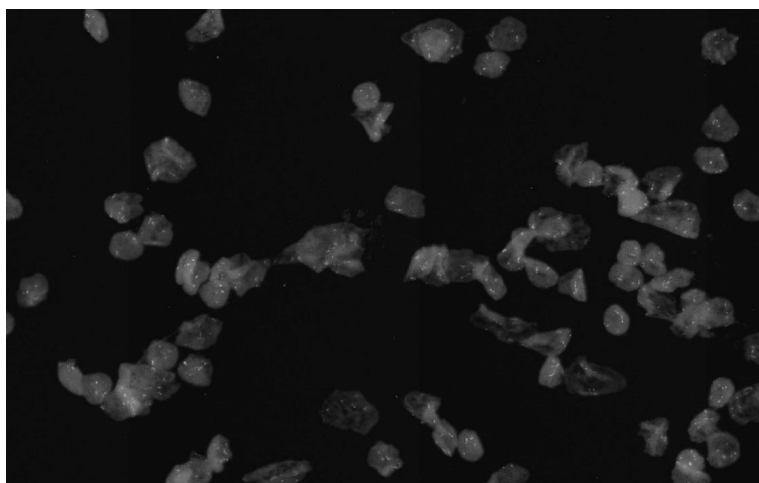
$$I = \frac{1}{3}(R + G + B).$$



16. ábra. A kép H (hue) komponense

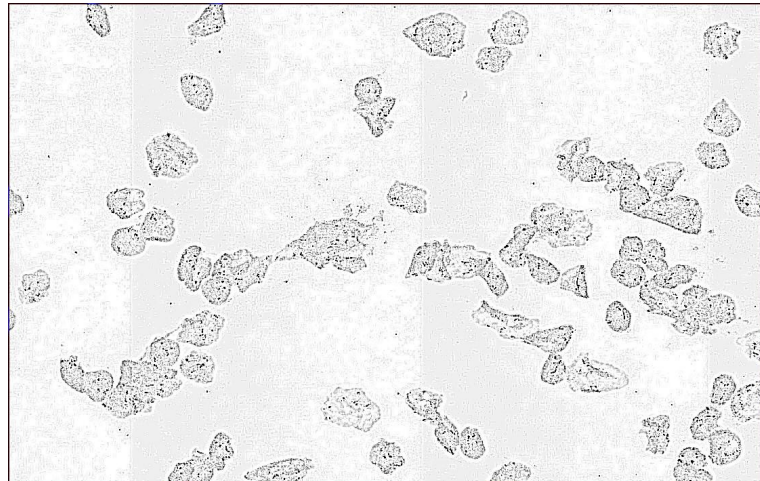


17. ábra. A kép S (szaturáció) komponense

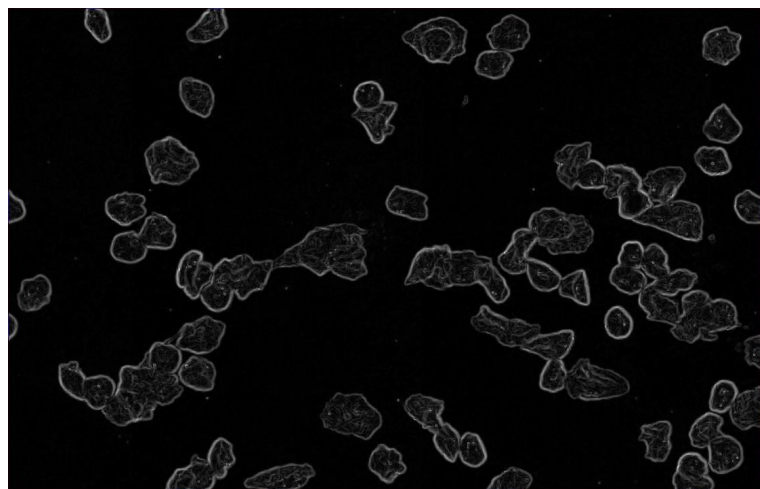


18. ábra. A kép I (intenzitás) komponense

Ezek után jöhettek a fontosabb algoritmusok. Először éldetektálást szerettem volna végrehajtani a képen, hogy így könnyebben meg tudjam találni a sejteket. Laplace és Sobel operátorokat használtam ehhez a lépéshez.



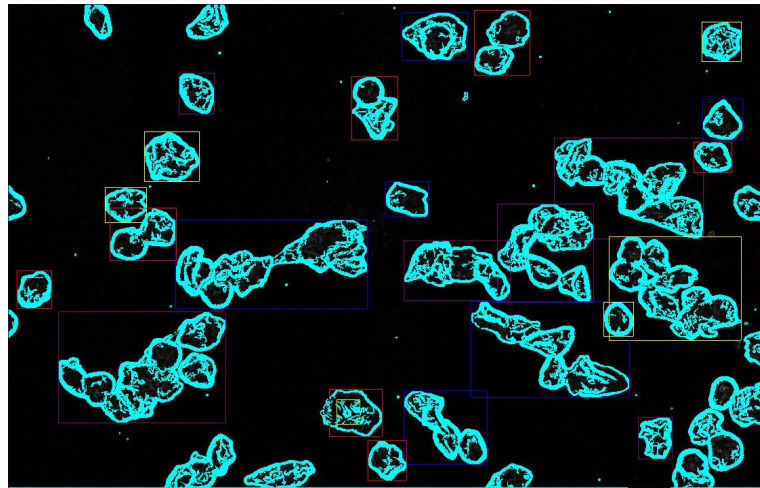
19. ábra. Laplace operátorral történő éldetektálás



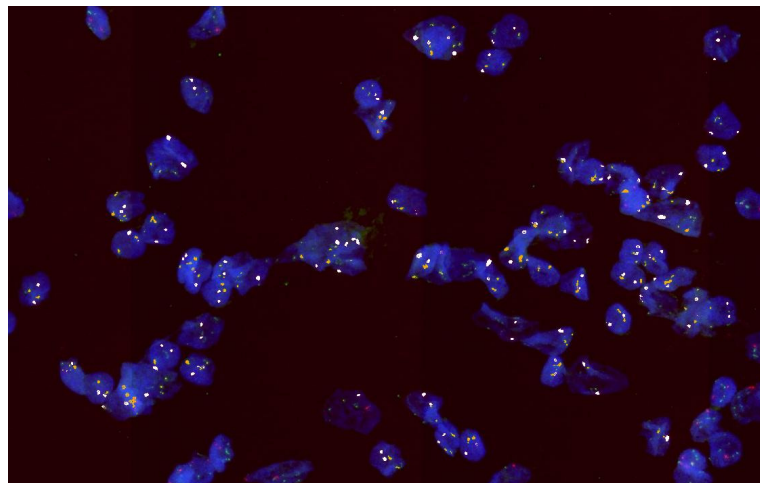
20. ábra. Sobel operátorral történő éldetektálás

Végül a Sobel operátor segítségével tudtam elkezdni a kontúrok és ezáltal a sejtek megkeresését, mivel ezen a képen sokkal jobban elkülönültek az élek. A sejtek pontos helyzetének meghatározására és a kontúrok berajzolására, azért volt szükség, mert így tudtam a sejtek által körbezárt tartományokat külön-külön meghatározni, amikben majd a kromoszómákat kell keresni. Ezt úgy valósítottam meg, hogy végigkövettem a képet és kerestem azon első pixelt, ami nem fekete. Majd ebből a pixelből kiindulva kerestem azon

pixeleket, amelyek szintén nem feketék és 8 szomszédságban állnak vele. Ezeket kékre színeztem a jobb láthatóság kedvéért. Így el tudtam tárolni azt is, hogy a sejtnak vízszintesen és függőlegesen melyik koordináta a minimuma és a maximuma, ami segítségével a sejteket színes téglalapokkal körbe is tudtam rajzolni, így meghatároztam a területeket, amiben a kromoszómaszámlálásokat végezni kellett.



21. ábra. A sejtek meghatározása



22. ábra. A megtalált kromoszómák jelölése a képen

Végezetül az általam meghatározott területeken belül kerestem a piros és zöld színnel jelölt kromoszómákat. Feltételeztem, hogy egy kromoszóma pixeljei 8 szomszédságban állnak egymással és két azonos színű kromoszóma nincs 8 szomszédsági viszonyban. Majd ezek megszámlálásával kiírja a program, hogy melyik sejtben hány piros és hány zöld kromoszóma

található, amelyből meg lehet állapítani, hogy melyik az a sejt, amelyikkel esetleg probléma van. A megtalált kromoszómákat egy új képen fehérre és narancssárgára színeztem, hogy még jobban látszódjon pontosan hol találta meg a kromoszómákat a program.

3.4 A felmerülő gondok és a megoldás

A kezdetben gondolt egyszerűségről hamar kiderült, hogy igen is nehéz feladattal állok szemben. Az általam írt algoritmus igen hosszúra sikerült, több mint 1000 sorosra és nem volt hatékony. A kontúrozást az adott képen több percig csinálta és a kromoszómák számlálásában is gyakran hiba esett. Ezért tovább kutattam, hogy is lehetne megoldani szebben ezt a feladatot.

Kutatásaim során arra jutottam, hogy a Visual Studio C# programozási nyelve valóban az egyik legmegfelelőbb a feladatom megoldására, mivel létezik egy keretrendszere, az Aforge.NET, amely olyan kutatóknak és fejlesztőknek lett tervezve, akik képfeldolgozási folyamatokkal, neurális hálókkal, genetikával, mesterséges intelligenciával vagy robotikával kapcsolatban fejlesztenek.

Számomra a keretrendszernek az Aforge.Math és Aforge.Imaging nevű könyvtárai bizonyultak nagyon hasznosnak. Ezekben a könyvtárakban rengeteg képfeldolgozási algoritmus megtalálható, amelyek segítségével a korábban megírt programom körülbelül 50 soros függvényét, akár 2 sorra is le tudtam csökkenteni és így sokkal gyorsabbá és hatékonyabbá tudtam tenni.

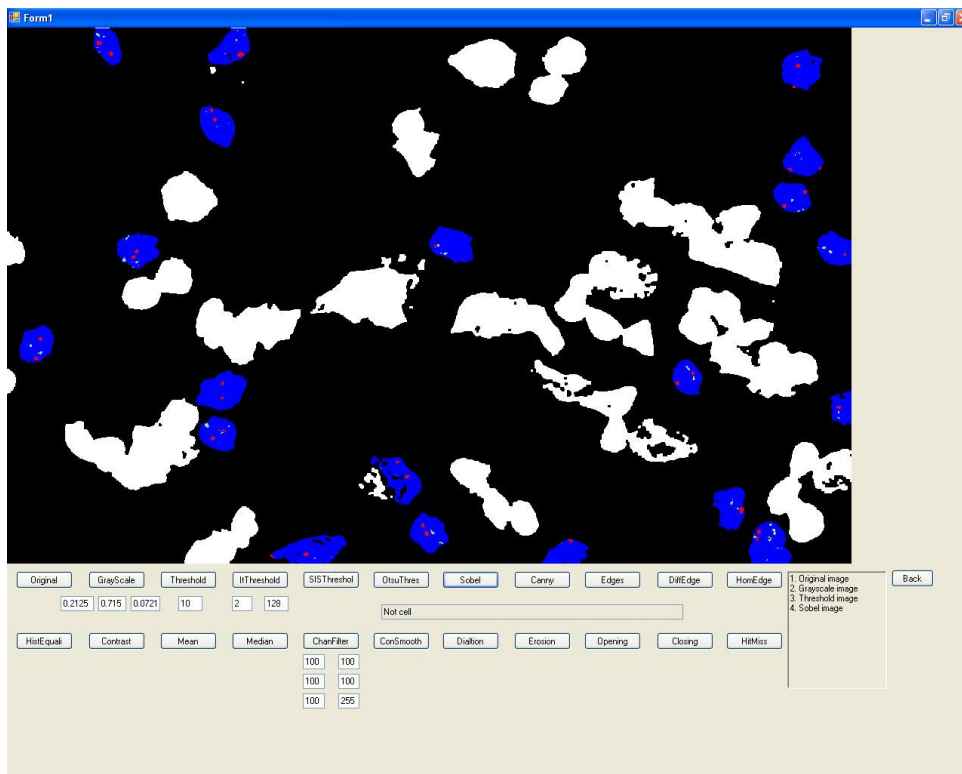
3.5 Az új program

Miután jobban utánanéztem milyen lehetőségei is vannak az Aforge.NET-nek és hogy milyen függvényeket is rejt, hozzákezdttem egy új program megírásához.

Elsőként most is az alapvető funkciók beépítésével kezdtem, azaz elkészítettem a menüsört, amibe beágyaztam a megnyitás a mentés és a program lezárása opciókat.

Ezek után az ötletem az volt, hogy két része lesz a programomnak. Az egyik, a képernyőn megjelenő gombokkal alapalgoritmusok elvégzése az adott képen. Erre azért volt

szükségem, mivel a feladatomban egy része ezen algoritmusok egymás után történő elvégzésével oldható meg. Azonban nagyon sok múlik azon, hogy milyen beállításokat végzünk, illetve, hogy milyen sorrendben követik egymást ezek a lépések. Így a felhasználó a program segítségével, nem csak hogy azt tekintheti meg, hogy mire is képes egy-egy alapvető képfeldolgozási algoritmus, hanem maga is kipróbálhatja a lépések egymásutánjával, hogy például miként lehet egy kép kontúrját a legszebbre megcsinálni.



23. ábra. A program felülete

Tehát betöltünk egy képet, majd egy gombra klikkeléssel ráengedünk a képre egy képfeldolgozási módszert. Ennek végrehajtása után a következő algoritmust, már erre a megváltozott képre engedjük rá és így tovább.

Azon algoritmusok, amelyek rendelkeznek egy olyan értékkel, aminek módosítása nagyban befolyásolja az eredményt (például a küszöbölés küszöbértéke), kis szövegdobozban módosíthatóak a felhasználó által.

Az általunk végrehajtott lépések közben előfordulhat, hogy rájövünk, nem azt a lépést kellett volna megtennünk, amit megtettünk, de nem akarjuk előről elkezdni, újra végigjártva az addig megtett lépéseket. Ezért a program rendelkezik egy olyan funkcióval,

hogy egy gomb segítségével, egyesével visszavonhatjuk a lépéseket. Egy nagyobb szövegdobozban meg is jelenik milyen lépések hajtottak eddig végre, és ha visszavonunk egyet, akkor az eltűnik onnan.

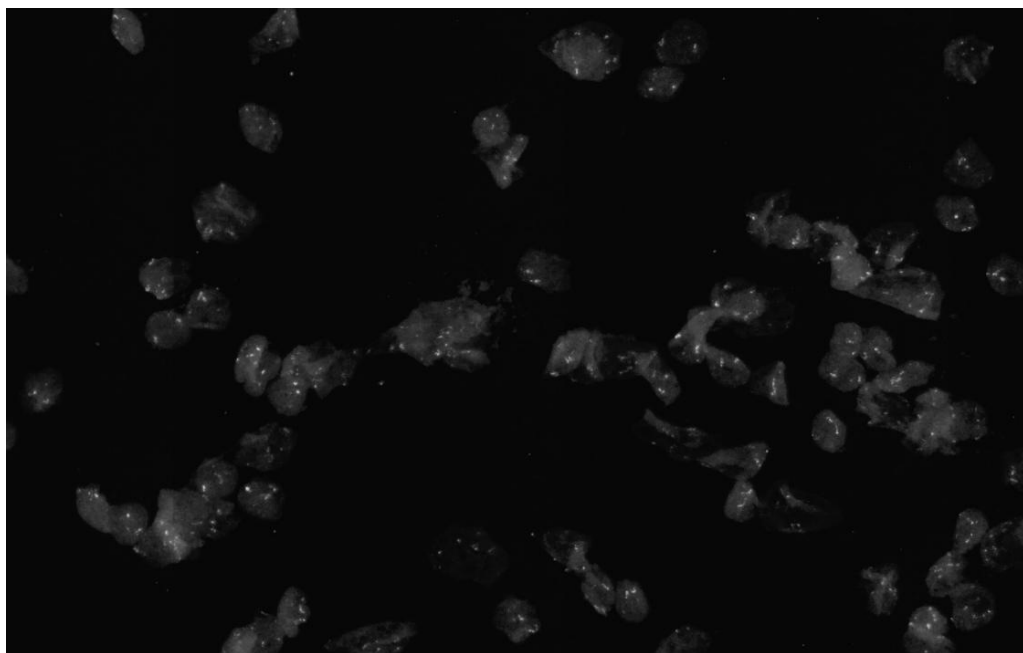
Felvetődhet a kérdés, hogy nem minden algoritmus működik minden képre, tehát mi van akkor, ha rossz az input kép. Ekkor a program egy üzenettel kiírja, hogy ez a lépés nem megengedett.

A program másik része, az általam összetett algoritmusok. Ezek a menürendszerből érhetőek el és minden az általam legjobbnak ítélt beállítások szerint történik. Ezeket nem lehet módosítani, ezek be vannak építve a programkódba.

3.6 A programban szereplő alapvető képfeldolgozási módszerek

3.6.1 Szürkeskála (GrayScale)

A GrayScale nevű gomb feladata a megjelenített kép szürkeskálássá konvertálása. Ennek beillesztésére nem csak azért volt szükség, mert ez egy valóban alapvető lépése a képfeldolgozásnak, hanem azért is mert sok algoritmus, amit a programban végre lehet hajtani, szürkeskálás képet használ.



24. ábra. Szürkeskálás kép

3.6.2 Hisztogram alapú eljárások

A képfeldolgozási eljárásokban a képek intenzitáshisztogramja alapvető jelentőséggel bír. Jelöljön r egy valós értékű valószínűségi változót (az intenzitást), és tekintsünk ennek egy r_1, r_2, \dots, r_M realizációját. Mivel a hisztogram az elméleti sűrűségfüggvény diszkrét közelítése, ezért osszuk fel a számegeyenest $y_0 < y_1 < \dots < y_k$ osztópontokkal, úgy hogy

$$y_0 \geq \min_{j=1}^M \{r_j\} \text{ és } y_k \leq \max_{j=1}^M \{r_j\}.$$

Jelölje n_i az $[y_{i-1}, y_i)$ intervallumba eső mintaelemek számát ($i = 1, \dots, k$), majd rajzoljunk az $[y_{i-1}, y_i)$ intervallum fölé az n_i -vel arányos területű téglalapot. Az így kapott alakzatot az r_1, r_2, \dots, r_M minta $y_0 < y_1 < \dots < y_k$ beosztáshoz tartozó hisztogramjának nevezzük. [14]

Ha a megrajzolt téglalapok összterülete M , akkor gyakorisági hisztogramhoz jutunk, ha az összterület 1, akkor sűrűséghisztogramot kapunk. A gyakorisági és a sűrűséghisztogram ábrázolásában az egyetlen különbség a skála beosztása. A valószínűségi mintát maga a kép, illetve annak intenzitásértékei adják. A hisztogram i -edik oszlopának magasságát az $[y_i, y_{i+1})$ intervallumba eső elemek száma, azaz a képen lévő i -edik szürkeárnyalatú képpontok száma adja. Ebben az esetben a hisztogram alakja attól is függ, hogy milyen nagy képet vizsgálunk. Ennek elkerüléséhez normalizálhatjuk a hisztogramot, leosztva az oszlopokban lévő értékeket a képpontok számával. Ilyenkor az oszlopok a megfelelő intenzitásértékek relatív gyakoriságát mutatják. [14]

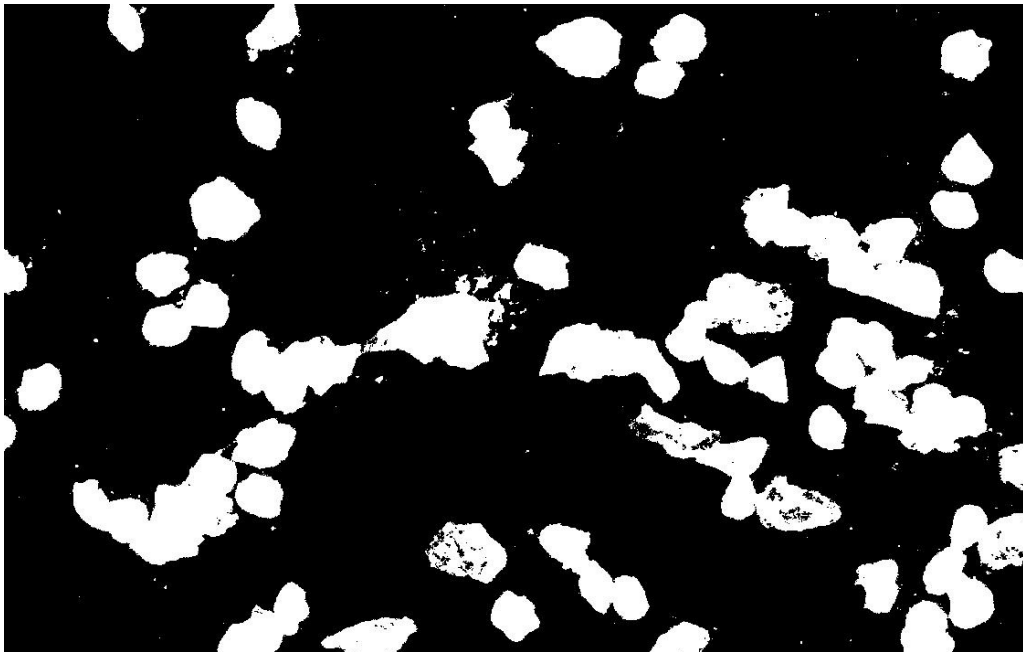
Az intenzitáshisztogram azért nagyon népszerű a képfeldolgozási eljárásokban, mert igen személetesen mutatja az adott kép intenzitáseloszlását. A hisztogram értelmezése azon a tényen alapul, hogy annak erős módusai általában a kép nagyobb méretű, homogén intenzitású objektumaira utalnak. Ennek megfelelően, a hisztogram módusait elválasztó völgyekhez tartozó intenzitásértékek alkalmasak lehetnek az objektumok szétválasztására, vagyis a kép szegmentálására. [14]

3.6.2.1 Küszöbölés (Threshold)

A kép intenzitástartományok alapján történő szétbontását küszöbölésnek nevezzük. A K szintű küszöbölés elvégzéséhez jelölje a kép teljes intenzitástartományát $y_0 < y_1 < \dots < y_L$, rögzítsük a $T_1, \dots, T_K \in \mathbb{R}$ küszöbértékeket, és legyen $T_0 = y_0$, $T_{K+1} > y_L$. A küszöbértékeknek megfelelően a képpontokat $K + 1$ osztályba soroljuk, nevezetesen a j -ik

osztályba azok a pontok kerülnek, amelyek intenzitása a $[T_j, T_{j+1})$ intervallumba esik ($j = 0, \dots, K$). A $K = 2$ eset a kép binarizálást jelenti. A szétbontáshoz használt értékek (küszöbök) megadása általában a hisztogram lokális szélsőértékeinek (módusainak/völgyeinek) meghatározásával történik. [14]

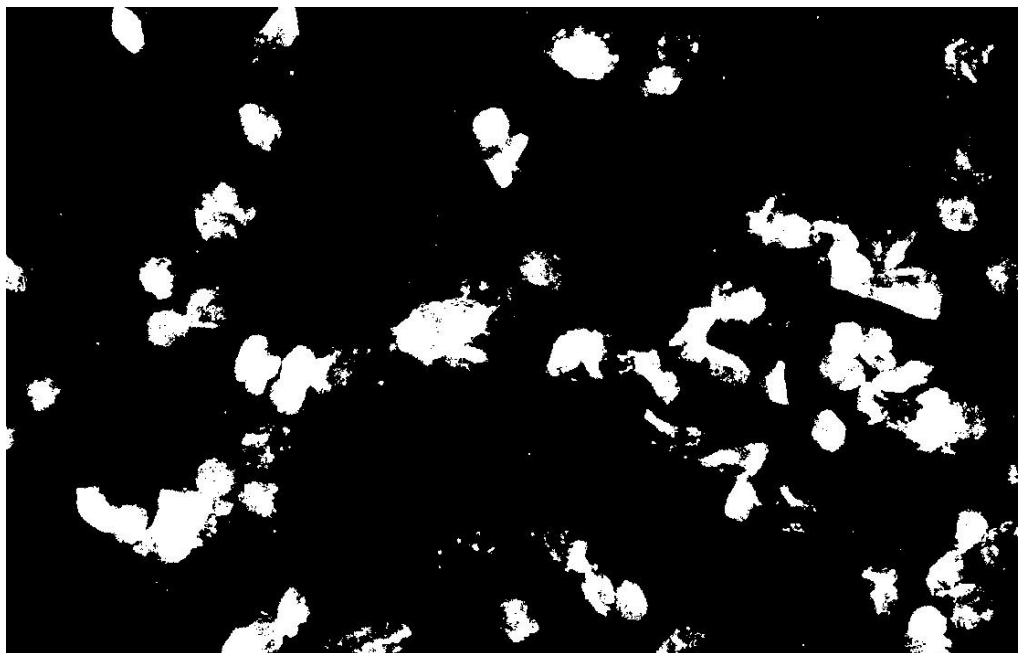
A szintrevágás lényegében a klasszikus egy- vagy többszintű küszöbölés. Az egyszintű küszöböléshez egy T küszöböt rögzítünk és a képpontokat aszerint soroljuk két osztályba, hogy az intenzitásuk T alá vagy fölé esik-e. [14]



25. ábra. Egyszintű küszöbölés

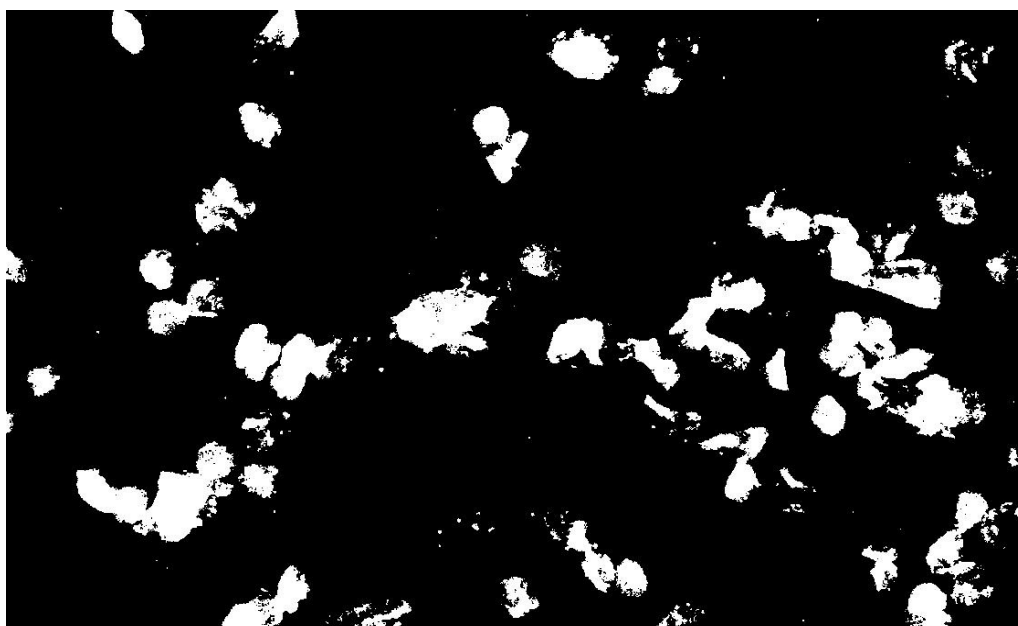
Az Aforge.NET további bináris küszöbölési technikákat tartogat a számunkra. Egyik ilyen az iteratív küszöbölés, mely a következő lépések szerint működik:

- Kiválaszt egy tetszőleges kezdő küszöbértéket.
- Kiszámítja a háttér (H) és az objektum (O) értékeinek átlag értékét: az összes olyan pixel, amelynek az értéke kisebb, mint a küszöbérték a háttérhez és minden olyan pixel, amelynek az értéke nagyobb, mint a küszöbérték az objektumhoz tartozik.
- Kiszámolja az új küszöbértéket a következő módon: $(H+O)/2$.
- Ha a régi küszöbértékből kivonjuk az új küszöbértéket, vesszük az abszolút értékét és ez kisebb, mint egy megadott érték, akkor az iteráció befejeződik és létrehoz egy bináris képet az új küszöbértékkel. [34]



26. ábra. Iteratív küszöbölés

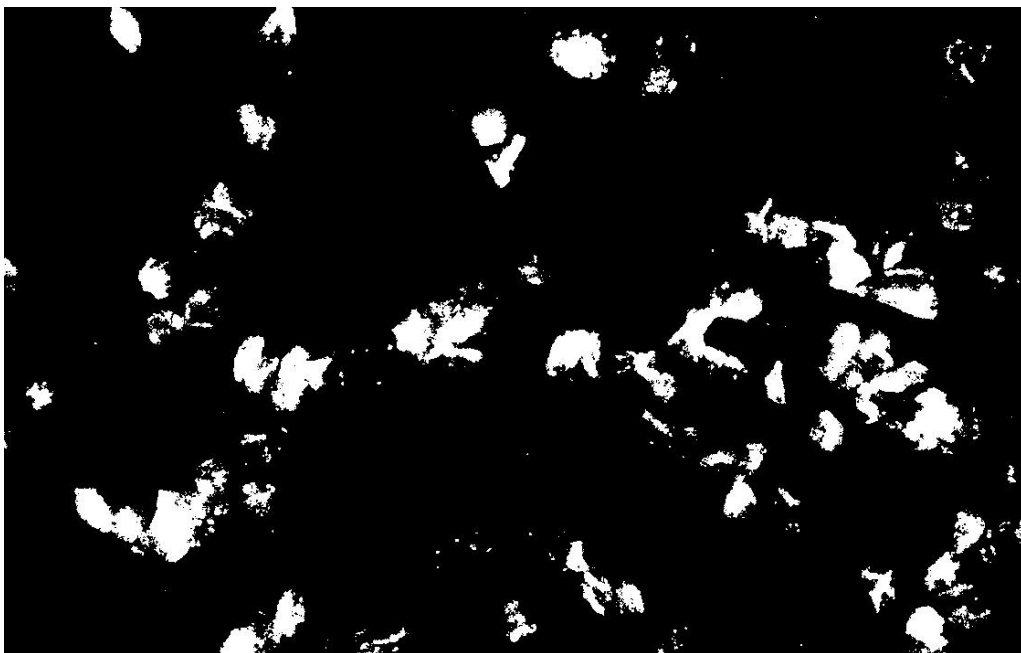
Egy másik módszer az Otsu küszöbölés. Ez az algoritmus feltételezi, hogy a kép, amelyen a küszöbölést végre akarjuk hajtani olyan pixelekből áll, amelyeket két különböző osztályba lehet sorolni (pl.: előtér, háttér). Ezután kiszámít egy olyan optimális küszöbértéket, amely szétválasztja egymástól az osztályokat úgy, hogy az a jó osztályozási eredmény, ha a két osztály közötti a szórás a lehető legnagyobb. [35]



27. ábra. Otsu küszöbölés

A harmadik módszer pedig a SIS küszöbölés, amely úgy hajtja végre a küszöbölést, hogy statisztikai módszert használ. Minden egyes pixel esetén a következők érvényesek [36]:

- A két gradienst a következő módon kell kiszámolni: $G_1 = |I(x + 1, y) - I(x - 1, y)|$ és $G_2 = |I(x, y + 1) - I(x, y - 1)|$.
- A súly a két gradiens maximuma lesz.
- A súlyok összegét az alábbi módon módosítjuk: $\text{összsúly} += \text{súly}$.
- A súlyozott pixel értékek összege a következőképpen módosul: $\text{összeg} += \text{súly} * I(x,y)$.

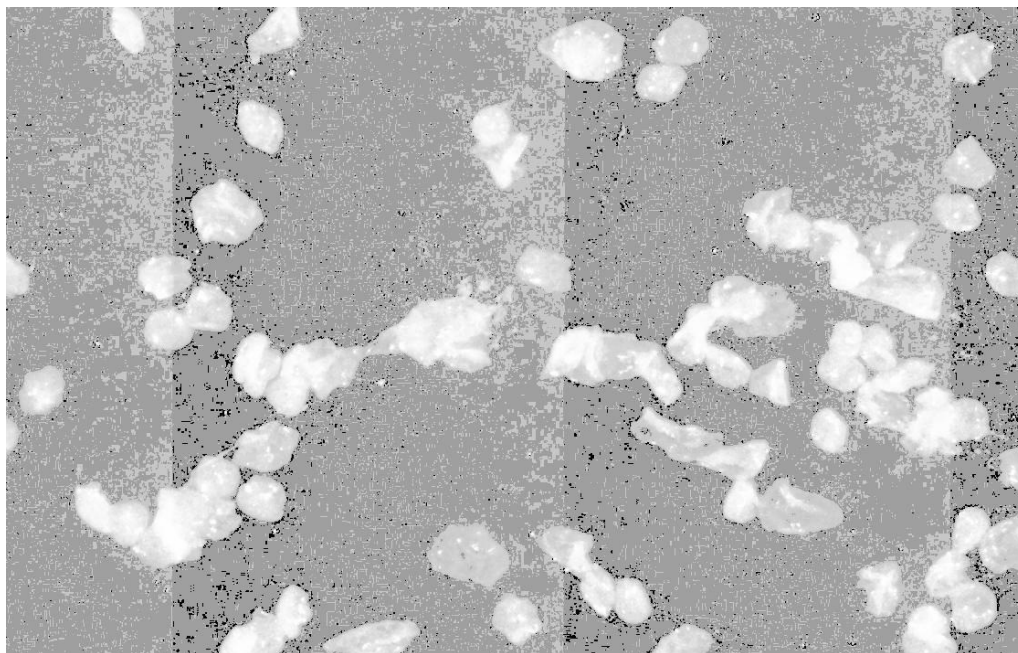


28. ábra. SIS küszöbölés

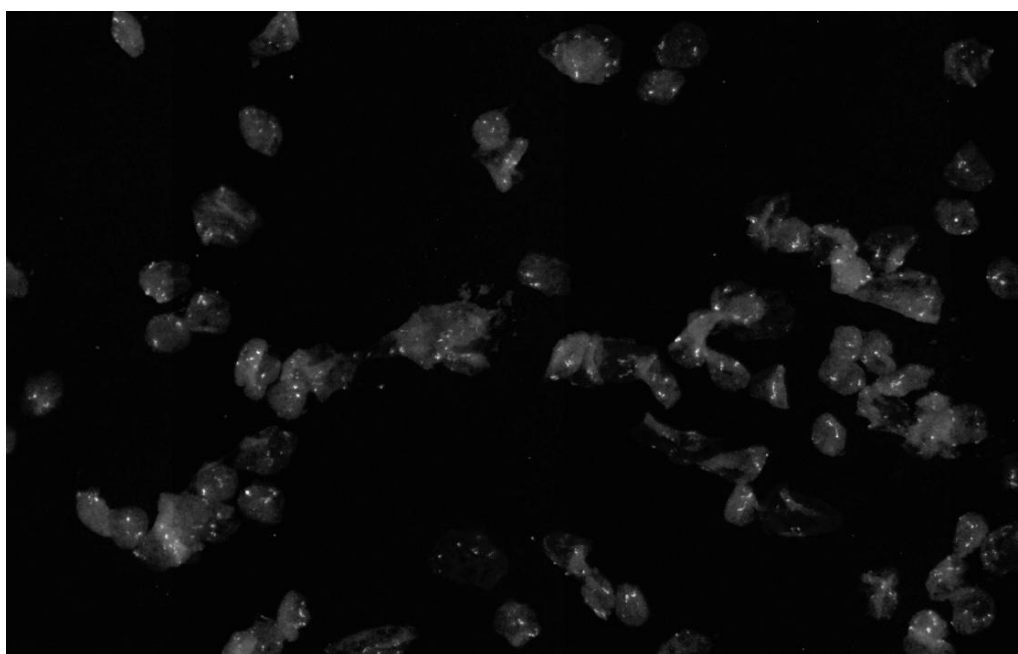
3.6.2.2 Hisztogram-kiegyenlítés, kontraszt nyújtás (HistogramEqualization, ContrastStretching)

Az olyan eljárást, ami a képet úgy transzformálja, hogy a világosság kódok egyenletes eloszlásúakká váljanak, hisztogram-kiegyenlítésnek nevezzük. Ez főként olyan képeknél hasznos, amelyek valamilyen okok miatt kevésbé kontrasztosak, azaz az intenzitásértékek az intenzitástartomány kisebb részére koncentrálódnak. [14]

Egy másik módszer, amellyel egy kép kontrasztosabbá tehető a kontraszt nyújtás, amely úgy javítja a képet, hogy szétnyújtja az intenzitásértékek tartományát. Abban különbözik a gyakrabban használt hisztogram-kiegyenlítéstől, hogy a nyújtás csak egy lineáris skálázást alkalmaz a pixelekre. [37]



29. ábra. Hisztogram-kiegyenlítés



30. ábra. Kontraszt nyújtás

3.6.3 Éldetektálás

Egy képen egy él nem más, mint intenzitásértékek jelentős mértékű megváltozása szomszédos pixelek esetén. Ezek a hirtelen változások tulajdonképpen a képen látható objektumok körvonalait jelentik. A képfeldolgozásban ennek a megközelítésnek a kontúr

alapú szegmentálás felel meg, melynek egy fontos lépése a kontúrponatok detektálása. De hogy az éleket meg tudjuk találni a képen, azokat a helyeket kell keresni, ahol az intenzitásfüggvény gyorsan változik és ehhez természetesen analitikus eszközökre van szükség. [14]

3.6.3.1 Gradiens módszer (Sobel éldetektáló)

A gradiens módszerekre épülő eljárások fontos szerepet játszanak az intenzitásátmenetek detektálásában, így egyúttal a képek élesítésében is.

A gradiensvektor (érintővektor) a kép első deriváltjaiból képezett

$$G [f(x, y)] = (G_x, G_y)^T$$

vektor, ahol $G_x = \partial f / \partial x$, illetve $G_y = \partial f / \partial y$ a gradiensvektor két komponense. A gradiensvektor hosszát (a gradiens nagyságát), illetve irányát euklideszi módon definiáljuk, azaz

$$|G [f(x, y)]| = \sqrt{G_x^2 + G_y^2}, \quad \text{illetve} \quad \angle G = \tan^{-1} \frac{G_y}{G_x}$$

a gradiens nagysága, illetve szöge,

$$\Delta f = G_x \cos\Theta + G_y \sin\Theta$$

pedig a Θ irányba eső változás gyorsaságát mutatja. A gradiens iránya a változás irányát, nagysága pedig a változás mértékét adja meg. Értelemszerűen, az intenzitásátmeneteknél (élpontoknál) a gradiens relatíve nagyobb, az élek pedig a gradiens irányára merőlegesen futnak. Az élpontok detektálásához általában a gradiensnek ezt a két jellemzőjét használják. A gradiens digitális közelítésére differenciákat használhatunk. [14]

A Sobel gradiens a következőképpen néz ki:

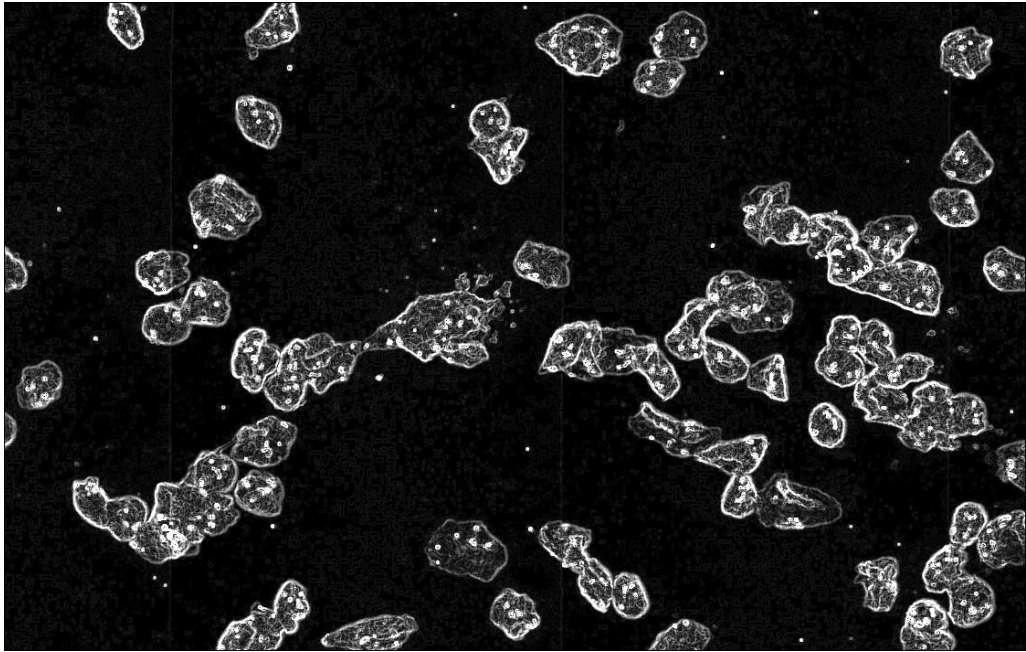
$$|G [f(x, y)]| = \sqrt{(f(x, y) - f(x+1, y))^2 + (f(x, y) - f(x, y+1))^2} .$$

Ha jobban megfigyeljük a képletet, kiderül, hogy lényegében egy 2×2 -es környezetben belül végzünk összehasonlítást, nyilvánvalóan az intenzitáseltéréseken alapulva. [14]

A kiszámolt gradiensértékekből készíthető el az eredeti $f(x, y)$ intenzitáskép $g(x, y)$ él- vagy gradiensképe. A legegyszerűbb élkép a

$$g(x, y) = |G [f(x, y)]|$$

módon állítható elő. Az élkép megjelenítésekor ügyelni kell arra, hogy a gradiens értékeket kerekíteni és normálni kell a megjelenítési intenzitásokra. [14]



31. ábra. Sobel éldetektálás

3.6.3.2 Canny éldetektálás (CannyEdgeDetection)

Canny egy új megközelítést javasolt az éldetektáláshoz, amely elsősorban fehér zajjal terhelt lépcsős élatmenetek detektálására optimális.



32. ábra. Canny éldetektálás

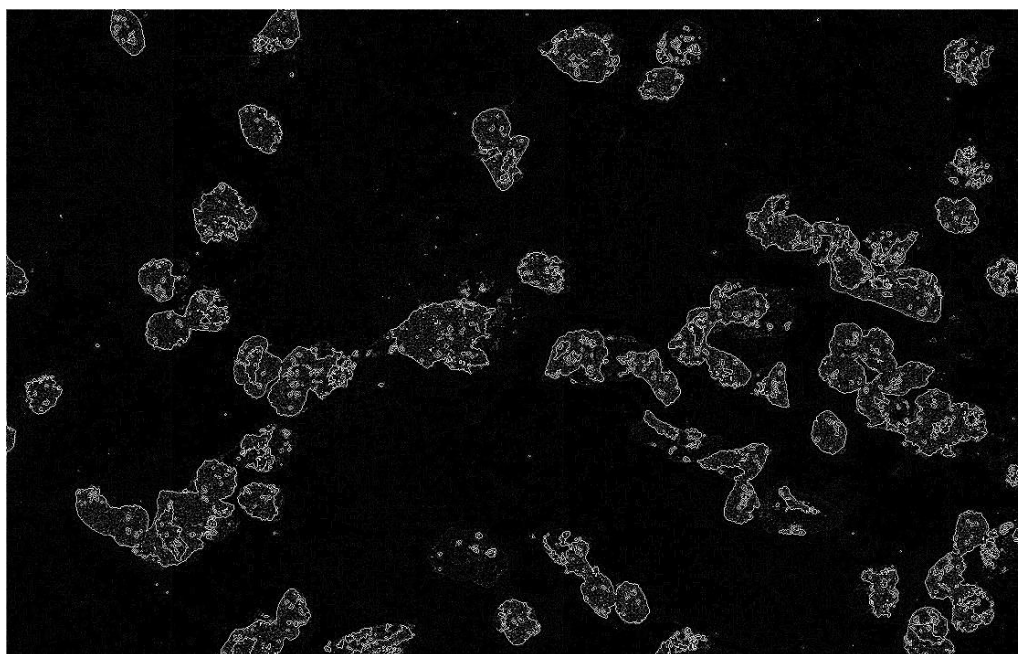
Az éldetektáló tervezésekor az alábbi három fő kritériumot vesszük figyelembe:

- A fontos élek nem veszhetnek el, de ne legyenek valótlan élek.
- Az él detektált és tényleges helye között minimális legyen az eltérés.
- Ugyanazon élek ne legyenek többszörösen detektálva. Ezt a kritériumot az első feltétel lényegében lefedi, mivel ha egy élet duplán detektálunk, az egyiket hamisnak tekinthetjük. Ez a kritérium főleg a zajos élek detektálásához fontos. [14]

3.6.3.3 További éldetektálók

Az Aforge.NET keretrendszerben további éldetektáló algoritmusokat találhatunk meg. Egyik ilyen a Edges, amely egy egyszerű éldetektálást hajt végre, úgy hogy egy 3X3 maszkkal konvolúciós szűrést végez.

0	-1	0
-1	4	-1
0	-1	0

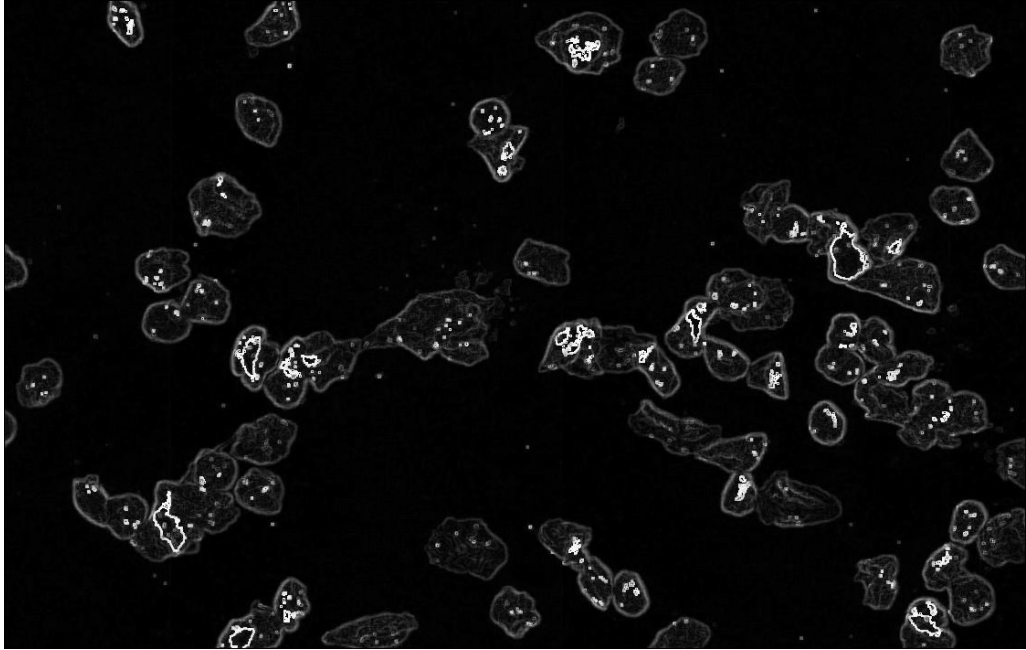


31. ábra. Edges éldetektálás

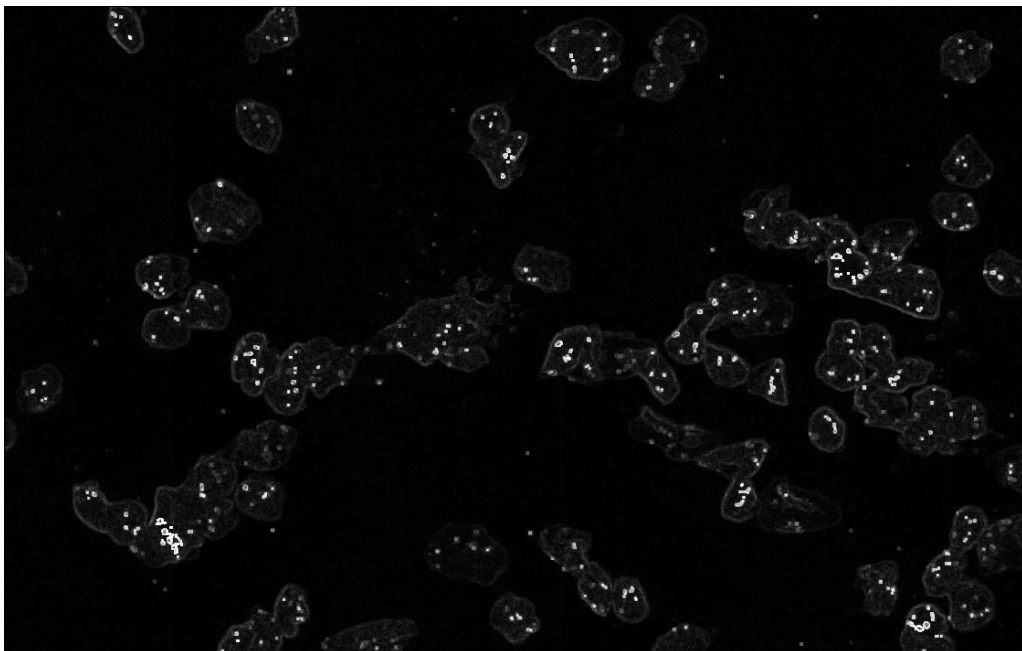
Másik ilyen módszer a DifferenceEdgeDetection. Ez a következő módszerrel határozza meg a pixelek értékét:

P1	P2	P3
P8	x	P4
P7	P6	P5

$$\max(|P1-P5|, |P2-P6|, |P3-P7|, |P4-P8|) .$$



32. ábra. DifferenceEdgeDetection



33. ábra. HomogeneityEdgeDetector

A következő éldetektáló módszer a HomogeneityEdgeDetector. Ez pedig a következő módon határozza meg a pixelek értékét

:

P1	P2	P3
P8	x	P4
P7	P6	P5

$$\max(|x-P1|, |x-P2|, |x-P3|, |x-P4|, |x-P5|, |x-P6|, |x-P7|, |x-P8|) .$$

3.6.4 Simítás (Smoothing)

Az éldetektálás a képek élesítésében és a szegmentálásban játszik fontos szerepet. Azonban az erős intenzitásváltozások is lehetnek nemkívánatos jelenségek, különösen, ha azokat zaj okozza. Ebből következően gyakran indokolt lehet az intenzitáségyenetlenségek kiküszöbölése, azaz a képek simítása. A képsimító eljárásokat elsősorban zajsűrésre használják, de hasznosak lehetnek a vizuális élmény kellemesebbé tételében is. A képsimítás lényegében az éldetektálás inverz műveletének is tekinthető. [14]

3.6.4.1 Környezeti átlagolás (Mean)

A környezeti átlagolás egy képtartományban végrehajtható konvolúciós maszkolás.

1	1	1
1	1	1
1	1	1

A simítást több iterációs lépésben is alkalmazhatjuk. Amennyiben kellően sokszor alkalmazzuk az iterációs lépést, úgy egy idő után elérjük a tovább már nem változó konstans intenzitású képet. Az átlagolást nagyobb maszkkal is végezhetjük, mely esetben erősebb simításhoz jutunk. Mivel most nem egy elütő tulajdonság detektálása a célunk, a maszk súlyok összegének nem kell 0-nak lennie. A környezeti átlagolás zajsűrésre jól használható, ám hátrányos lehet, hogy új intenzitásértékek is megjelenhetnek a képen. [14]

3.6.4.2 Medián szűrés (Median)

3 × 3-as medián szűrésnél a vizsgált képtartomány pontjainak intenzitását növekvő sorba rendezzük, majd kiválasztjuk az így kapott sorozat középső elemét (mediánját), amelyet

új intenzitásértékként a centrális képponthez rendelünk. Ahhoz, hogy valóban létezzen a sorozatnak "fizikailag" középső eleme, általában az mind a 9 intenzitást felhasználjuk a sorbarendezésben. Amennyiben a centrális képpontot ajánlatosabb kihagyni ebből, úgy a sorozat 8 elemet tartalmaz, amelyből értelemszerűen a 4. vagy 5. elemet tekinthetjük középsőként. [14]

A medián szűrés alapötletét az adja, hogy a kiugró intenzitásértékek (zajok) a sorba rendezéskor a sorozat széleire szorulnak, a középső elem az adott képtartomány átlagos intenzitását mutatja. A medián szűrés népszerű módszer a zajszűrésben, melynek egyik oka, hogy az eljárás során nem jelennek meg új intenzitásértékek (szemben például az átlagoló szűréssel). A medián szűréshez az átlagoló szűrésnél leírtakhoz hasonlóan használhatunk nagyobb maszkokat, illetve tekinthetünk több iterációs lépést is. A medián szűrésnél az átlagoló szűréstől eltérően nem biztos, hogy megfelelő számú iterációs lépés után a konstans intenzitásképet kapjuk meg és kevésbé mossa el az éleket, mint az egyszerű környezeti átlagolás. [14]

3.6.4.3 Sávszűrés (ChannelFiltering)

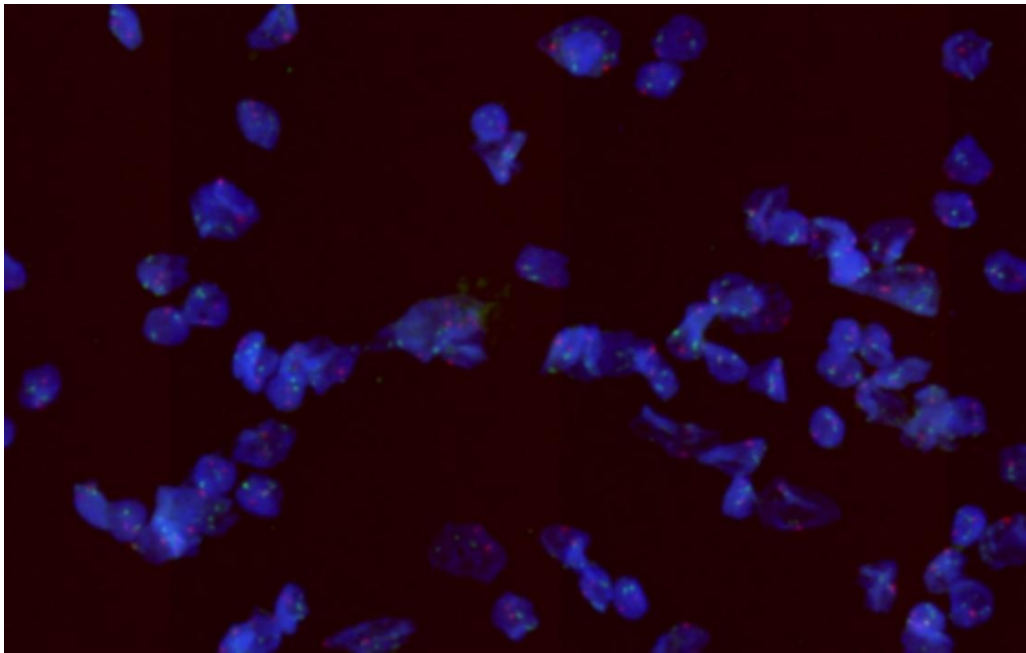
Feladata egy adott frekvenciasávba eső értékek gyengítése vagy erősítése. Ezzel a technikával lehetőség nyílik a kép éleinek azok erőssége alapján való feldolgozására. Egy ideális sávkiemelő szűrőfüggvény:

$$H(u, v) = \begin{cases} 1, & \text{ha } K_1 \leq \|(u, v)\| < K_2, \\ 0, & \text{egyébként,} \end{cases}$$

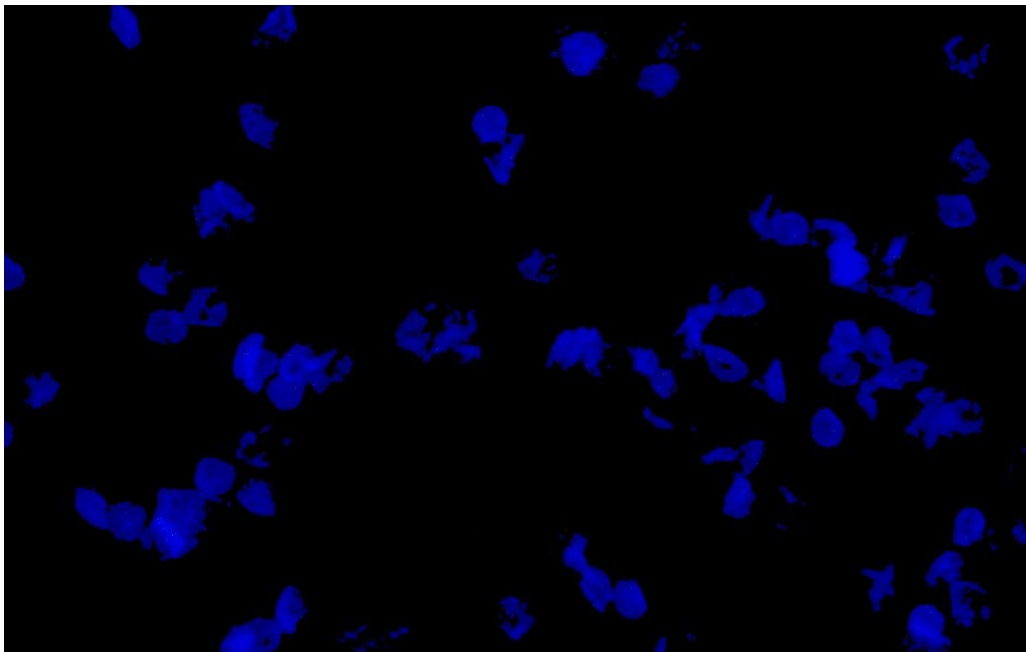
ahol K_1 és K_2 nemnegatív vágási frekvenciák. [14]

3.6.4.4 Konzervatív simítás (ConservativeSmoothing)

A konzervatív simítás feladata is leginkább a zajszűrés. Ahogy az a nevéből is kiderül egyszerű és gyors algoritmusról beszélünk. Úgy tünteti el a zajokat a képről, hogy közben megőrződjenek a magasfrekvenciás részletek (pl.: az éles élek). Ezt úgy teszi, hogy eltünteti a képről a nagyon magas illetve nagyon alacsony intenzitású pixeleket, ami úgy történik, hogy megvizsgálja egy adott pixel 8 szomszédságában lévő pixeleket, és ha a megfigyelt pixel az összes körülötte lévő pixelnél kisebb/nagyobb, akkor ezt a pixelt módosítja a szomszédok közül a legkisebbel/legnagyobbval. [38]



34. ábra. Környezeti átlagolás



35. ábra. Sávszűrés

3.6.5 Matematikai morfológia

A képi alakzatok reprezentációjára és leírására a matematikai morfológiát használjuk. A matematikai morfológia a halmazelméleten alapul, azaz a képi objektumokat halmazokkal reprezentáljuk. A halmazelméleti alapfogalmak a következők:

Legyenek $A, B \subseteq Z^2$ digitális halmazok és legyen $x = (x_1, x_2) \in Z^2$ egész vektor. Ekkor

- az A halmaz x vektorral való eltoltja

$$(A)_x = \{y \in Z^2 \mid y = a + x, a \in A\},$$

- az A halmaz (középpontos) tükrözöttje

$$\hat{A} = \{y \in Z^2 \mid y = -a, a \in A\},$$

- az A halmaz komplementere

$$A^c = \{y \in Z^2 \mid y \notin A\},$$

- az A és B halmaz különbsége

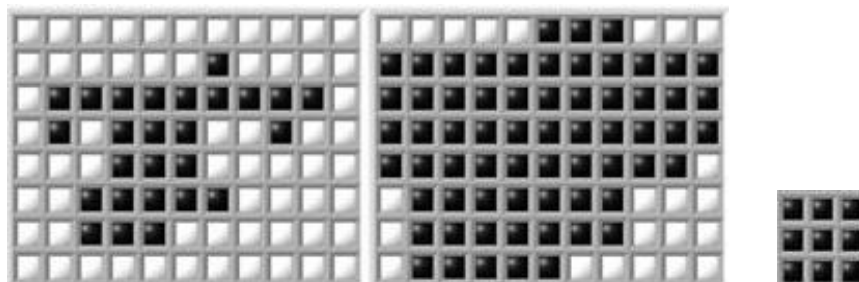
$$A \setminus B = \{y \in Z^2 \mid y \in A, y \notin B\} = A \cap B^c. \quad [14]$$

3.6.5.1 Dilatáció (Dilatation)

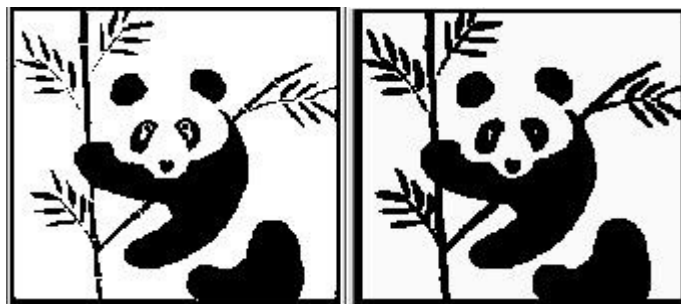
Legyen $A, B \subseteq Z^2$ és jelölje \emptyset az üres halmazt. Az A halmaz B -vel való dilatáltja alatt az

$$A \oplus B = \{x \mid [(\hat{B})_x \cap A] \neq \emptyset\}$$

halmazt értjük. A dilatáció során tehát először középpontosan tükrözzük a B halmazt, majd eltoljuk az x vektorral. Az $A \oplus B$ dilatált meghatározásához ezután az összes olyan x eltolásvektort tekintjük, amelyekkel a \hat{B} -t eltolva annak még marad közös pontja az A -val. A B halmazt, amivel az A halmazt dilatáljuk (növeljük) struktúraelemnek nevezzük. A dilatálást hízlalásnak is nevezzük, mivel növekszik az objektumok mérete a képen. A dilatáció alkalmas az objektumon támadt lyukak befoltozására. A hízlalás eredményeképpen a szétválasztott, közeli objektumok újra összeolvadhatnak. [14], [16]

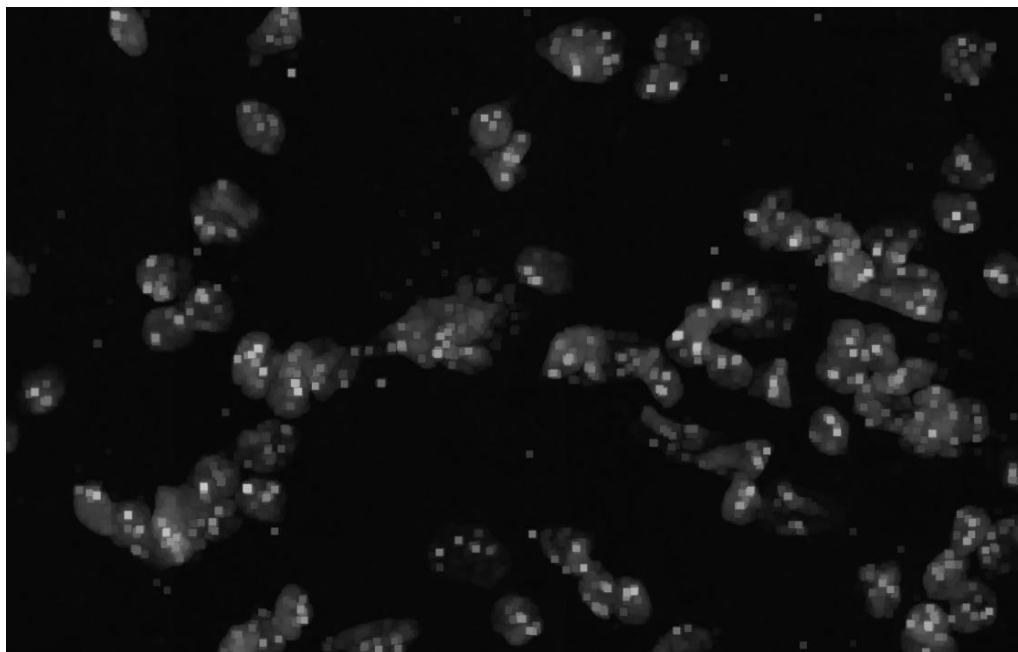


36. ábra. Eredeti ábra és dilatáltja az adott struktúraelemmel



37. ábra. A dilatació eredménye

Az Aforge.NET Dilatation nevű függvénye úgy működik, hogy a struktúra elem egyetlen pixelből áll, melynek értéke 1, ha szükség van az adott pontra és -1, ha nincs rá szükség.



38. ábra. Dilatació

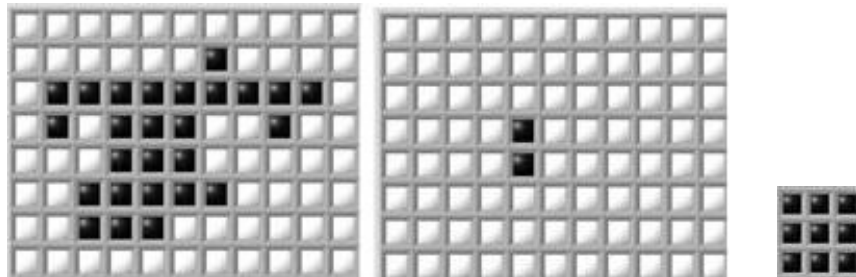
3.6.5.2 Erózió (Erosion)

A dilatació duális műveletének, az eróziónak a definíciója a következő:

$$A \ominus B = \{x \mid (B)_x \subseteq A\}.$$

Az erózió az objektum körbenyírását jelenti, a struktúráló elem sugarával csökken minden irányban az objektum mérete. Nevezik még hámozásnak és fogyasztásnak is. Az erózió végrehajtása során az objektumnak azok a képpontjai maradnak meg továbbra is az

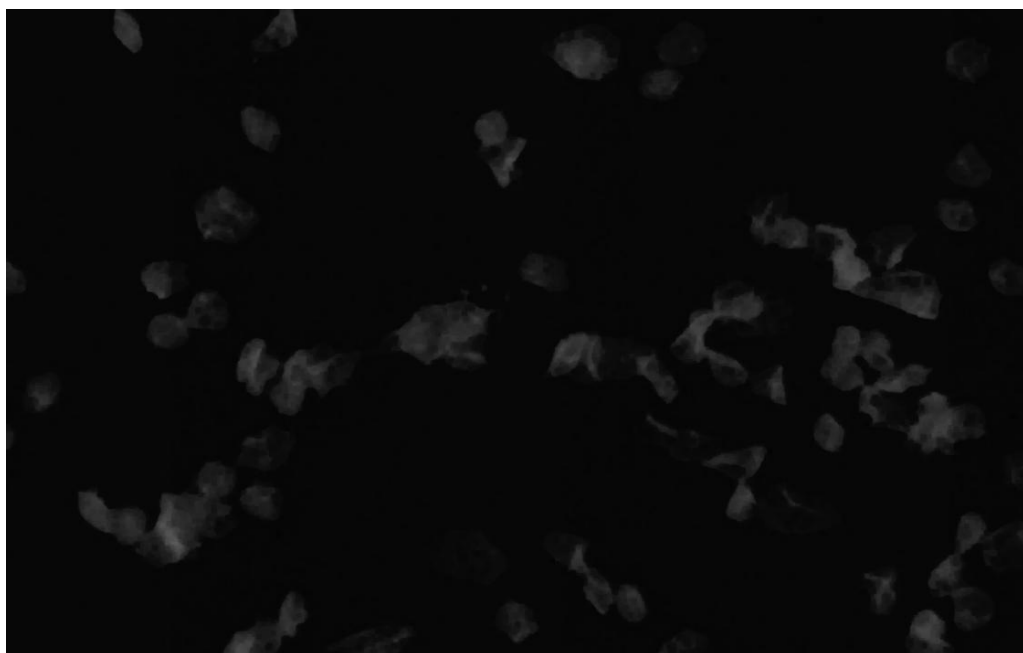
objektum részeként, amelyre ráhelyezve a struktúráló elemet, annak minden pontja az objektumhoz tartozó képpontot fed. Az erózió hatékonyan tünteti el az apró objektumokat és alkalmas az összeolvadt objektumok szétválasztására. [14], [16]



39. ábra. Eredeti ábra és erodáltja az adott struktúraelemmel



40. ábra. Az erózió eredménye

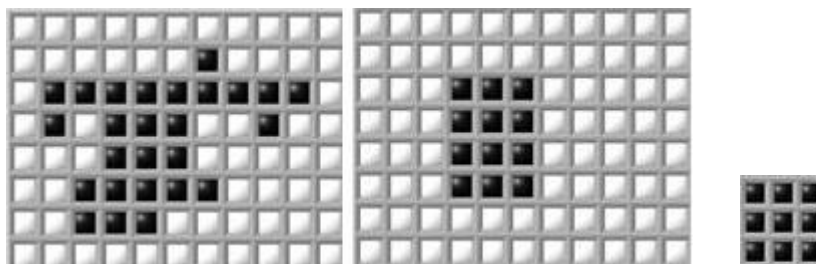


41. ábra. Erózió

3.6.5.3 Nyitás (Opening)

Habár a dilatació és erózió duális műveletek (azaz a komplementerhalmazokon fordított a hatásuk), a két művelet nem inverze egymásnak, így a dilataciót követő erózió ugyanazon struktúraelemmel, illetve a műveletek fordított sorrendje nem adja vissza az alaphalmazt. Az eróziónál láttuk, hogy a művelet alkalmas a háttérben keletkezett apró objektumok eltüntetésére és az összeolvadt objektumok szétválasztására. Ezzel egyidejűleg csökkenti az objektum eredeti méretét. Ha fontos az eredeti méret (pl.: területet akarunk mérni), dilatacióval visszahizlalhatjuk az eredeti objektumot. Természetesen a lekerekített sarkaktól és az elfogyasztott alakzatoktól eltekintve. A nyitás simítja az objektum határát az azon lévő kisebb kinövések törlésével, és megszakítja a keskeny szálakat. A nyitás ugyanazon struktúráló elemmel végzett erózió, majd az eredményképen végzett dilatació. [14], [16]

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B$$



42. ábra. Eredeti ábra és a nyitás után keletkezett eredmény az adott struktúraelemmel



43. ábra. Nyitás eredménye

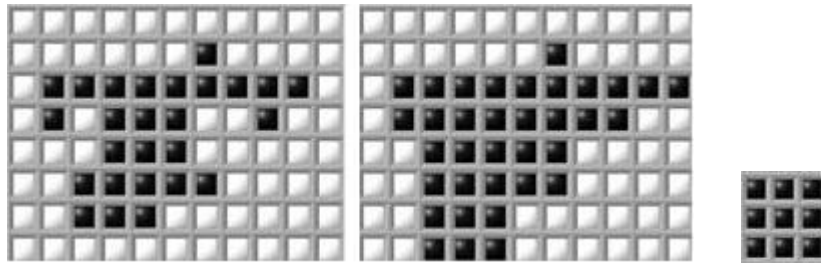
3.6.5.4 Zárás (Closing)

A zárás a nyitás ellentéte és az alábbi módon definiáljuk:

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B .$$

A zárás szintén simítja a határokat, de a nyitással ellentétben az azon lévő kisebb hézagok

lyukak betömésével, továbbá megszünteti a szakadásokat és keskeny csatornákat. [14], [16]



44. ábra. Eredeti ábra és a zárás után keletkezett eredmény az adott struktúraelemmel



45. ábra. A zárás eredménye

3.6.5.5 Hit-Miss transzformáció

A morfológiai hit-miss transzformáció alakzatok keresésére használható. Legyen adott az A bináris halmaz, és ebben definiálva 3 alakzat, rendre X, Y, Z . Keressük ezen A halmazban X alakzat helyét!

Első lépésként X -et körbe kell venni egy kerettel. Ez nem más, mint a háttérszín (W) és X különbsége, azaz $(W-X)$. Ezek után képezzük az A bináris halmaz komplementerét, A^c -t. Majd vesszük A^c erodáltját $(W-X)$ -el. Az A erodáltja az X -el pedig megadja az X alakzat középpontját. Ezen két halmaz metszeteként előáll a transzformáció eredménye. A definíció tehát a következő:

$$A \otimes B = (A \ominus X) \cap (A^c \ominus (W - X)),$$

ahol $A \otimes B$ a transzformáció jelölése és B jelentse $B = (B_1, B_2)$ struktúrákat. A fenti esetben $B_1 = X$ és $B_2 = W-X$. Ekkor az összefüggés a következőképpen is felírható:

$$A \otimes B = (A \ominus B_1) \cap (A^c \ominus B_2) . \quad [16]$$

3.7 Általam megírt módszerek a feladat megoldásához

A feladatom megoldásakor elsőként ezen alapvető képfeldolgozási eljárásokra támaszkodtam. Miután beépítettem őket a programba, rengeteget próbálkoztam, hogy a képet miként dolgozzam fel velük, úgy hogy a számomra leginkább megfelelő eredményt kapjam például az éldetektáláshoz. Nagyon sok variációt kipróbáltam, és a leginkább jól sikerülteket építettem be a programomba.

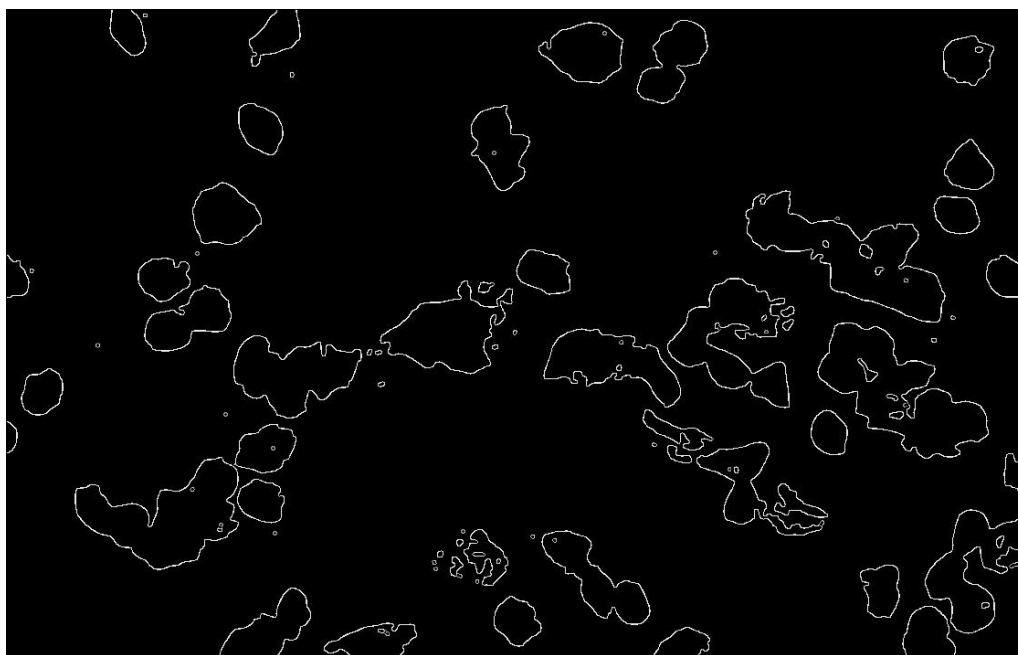
3.7.1 Éldetektálás

Első lépésként a képen látható sejtek kontúrjának meghatározása volt a feladatom. Erre azért volt szükségem mivel látható volt a korábbiakban, hogy a képre engedett éldetektáló algoritmusok önmagukban nem nyújtottak megfelelő eredményt, mivel nem elég tiszták a kontúrok, sok helyen zajok is megjelentek, de volt olyan is ahol pedig a kontúrban szakadás keletkezett. A feladat szempontjából igen fontos volt számomra egy zajtól mentes, szép éldetektálás, mert így sokkal jobban meg tudtam figyelni a sejteket, azok alakját, méretét, elhelyezkedését, illetve később fel is használhattam a sejtek pontos megtalálásához. A kontúrozást a következőképpen végeztem.

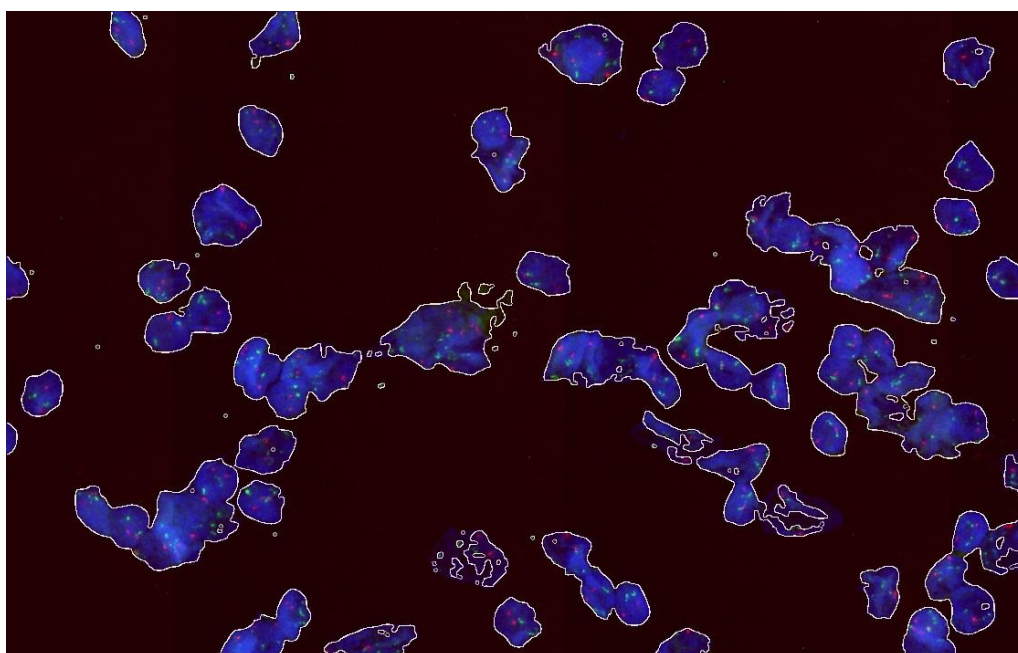
Először is a színes képet rögtön átalakítottam szürkeskálássá, mert mint már korábban is említettem sok algoritmus szürkeskálás képet vár paraméterként és nem színeset. Következő lépésben, hogy kicsit kontrasztosabbá tegyem a szürke képet ráengedtem egy kontraszt nyújtást. Ezután pedig egy egyszerű küszöbölés segítségével bináris képet csináltam belőle, ahol a fehér színek jelentették az objektum pontjait, a feketék pedig a háttérrel. Azonban ezen a képen még nagyon görgyös volt az objektumok felszíne, és sok helyen tarkították lyukak illetve kisebb, pár pixel méretű objektumok, amelyre nem volt szükségem. Ezek eltüntetése érdekében alkalmaztam először egy nyitást, majd egy zárást a képre. Ekkor már egészen szép körvonalai voltak a sejteknek. És legvégül ráengedtem a Canny éldetektáló eljárást, melynek hatására a fehér sejteknek csak és kizárólag a körvonalai maradtak meg, így a kontúrozásom elkészült.

Ezeket a kontúr vonalakat megjelenítettem az eredeti színes képen is, azért mert így láthatóvá vált, hogy pontosan hová is esnek az élek, és ha még nem volt pontos, akkor tudtam rajta módosítani, például a küszöbölés küszöbértékén, illetve a morfológiai transzformációkon, egészen addig, amíg megfelelő képet nem kaptam. Persze ebből a képből

kiderült, hogy nem minden sejt esetébe lett tökéletes a kontúr, mivel ahol nagyon sötét a sejt az eredeti színes képen, ott a küszöbölésnél keletkeztek olyan részek, amelyek a háttérpontokhoz kerültek, pedig az objektumhoz tartoztak volna és így az éldetektálásnál is hibásak lettek. De ezeket a sejteket később figyelmen kívül hagytam.



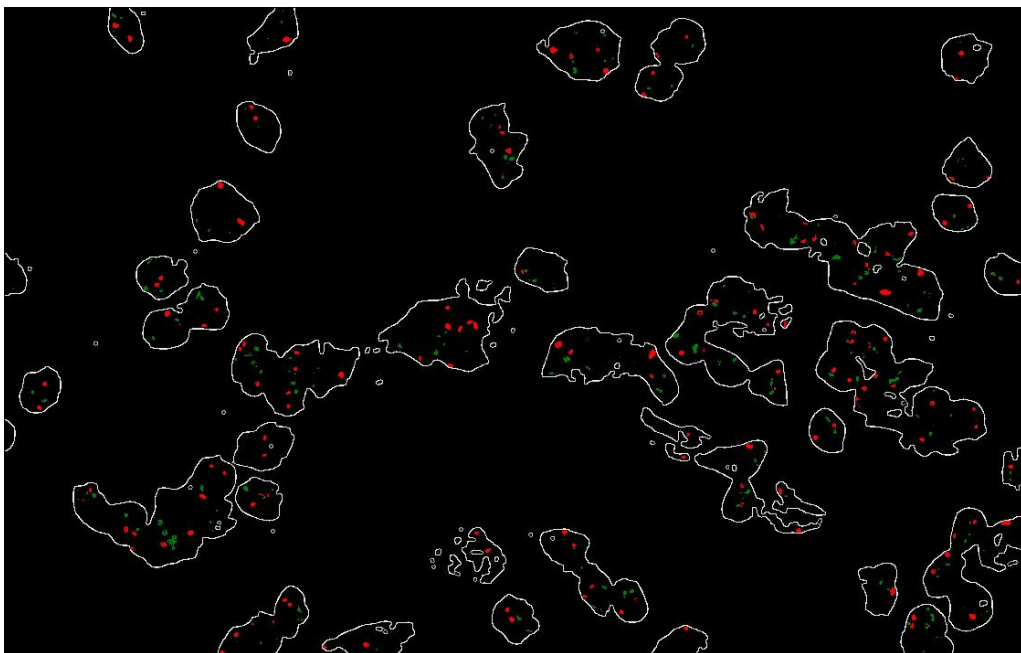
46. ábra. Éldetektálás



47. ábra. Az eredeti képen megjelenített kontúrok

Elkészítettem egy olyan képet is, ahol a sejtek élei, illetve a sejtekben lévő kromoszómák vannak megjelenítve. Ezt úgy hoztam létre, hogy elsőként megcsináltam a kontúrt a korábban említett módon, aztán az eredeti képen végig mentem, és ha piros vagy zöld pixelt találtam, akkor azon koordinátájú pixelt beszíneztem az új képen is, pirosra illetve zöldre. Erre egyrészt azért volt nagy szükségem, mert így jobban láthatóvá vált, hogy hol helyezkednek el a kromoszómák a sejteken belül, illetve akár meg is lehet őket számolni szabad szemmel is, hogy később ellenőrizni lehessen a program jól végzi-e el a feladatot.

Azonban nagyon sok múlik azon, hogy mit számítunk az eredeti képen pirosnak illetve zöldnek. Ezt egy ColorFiltering nevű függvény segítségével tudtam meghatározni, amelyben megadható, hogy a kép pixeleinek az R, a G és a B komponensei milyen tartományba essenek ahhoz, hogy piros illetve zöld színt kapjunk. Ezt tényleg igazán nehéz beállítani úgy, hogy valóban csak azokat a pixeleket szűrje ki, amit mi pirosnak és zöldnek látunk. Pici beállítási módosítás is nagy eltéréseket okozhat. Sok próbálgatás után, választottam egy beállítást, amit a legjobbnak véltem. Ehhez segítségül hívtam az első programomat, mivel ebben van egy olyan funkció, hogy ha rákattintok a kép egy pixelére, kiírja, hogy mik az RGB komponensei. Így a piros illetve a zöld kromoszómákra kattintva nagyjából be tudtam azonosítani azt a tartományt, amit keresnem kellett. Persze ez nem hoz 100%-os eredményt, de ezt nem is lehet elérni. Azért is nagy szükség volt ennek a képnak az előállítására, mert később ezen a képen keresem és számolom meg a kromoszómákat.



48. ábra. Az élek és a kromoszómák

3.7.2 Újabb problémák és a segítség

Miután elkészültem ezekkel a lépésekkel, felvetődött számomra a feladat talán legnagyobb problémája. A probléma az volt, hogy ezzel a módszerrel, amit alkalmaztam, az éldetektálás igen szép lett, azonban azok a sejtek, amelyek bár szabad szemmel láthatóan nem is egy sejt (de ezt is valószínűleg csak az orvosok tudják pontosan megállapítani), hanem több sejtnek az összekapcsolódásából jöttek létre, egyetlen kontúrral vannak körberajzolva, azaz egy sejtnek értelmeződnek. Így ezekben a sejtekben a kromoszómák számlálása értelmét veszti.

Elkezdtem utánajárni, miként lehetne szétválasztani ezeket a sejteket. Sokat keresgéltem, míg rájöttem a feladat korán sem egyszerű és sokan próbálják megoldani ezt a kérdést a világon. Találtam azonban egy algoritmust, a Watershed szegmentáló algoritmust, ami pontosan ilyen esetekben alkalmazandó.

Azonban ez az algoritmus, annyira bonyolult, hogy az implementálása, még az ezzel a témával foglalkozó embereknek is nagy fejtörést okozott, így hát más úton próbáltam meg megoldani a feladatot.

A segítséget Dr. Méhes Gábor Úrtól, a debreceni Pathológiai Intézet Igazgatójától kaptam.

Elmondta, hogy ez a probléma már őket is régóta foglalkoztatja, de a legegyszerűbben úgy lehet megoldani, hogy azokat a sejteket, amelyek feltehetőleg több sejt összeolvadásából keletkeztek, egyszerűen ki kell hagyni a vizsgálatból. Ezt egy területellenőrzéssel meg lehet oldani. Ki kell választani egy sejtet a képen, amely biztosan egy különálló sejt és mivel a sejtek közel azonos méretűek, körülbelül +/- 50% eltérés megengedett, meg kell vizsgálni, melyek azok, amelyek ebbe a tartományba esnek és ezek a sejtek valószínűleg különálló sejtek lesznek.

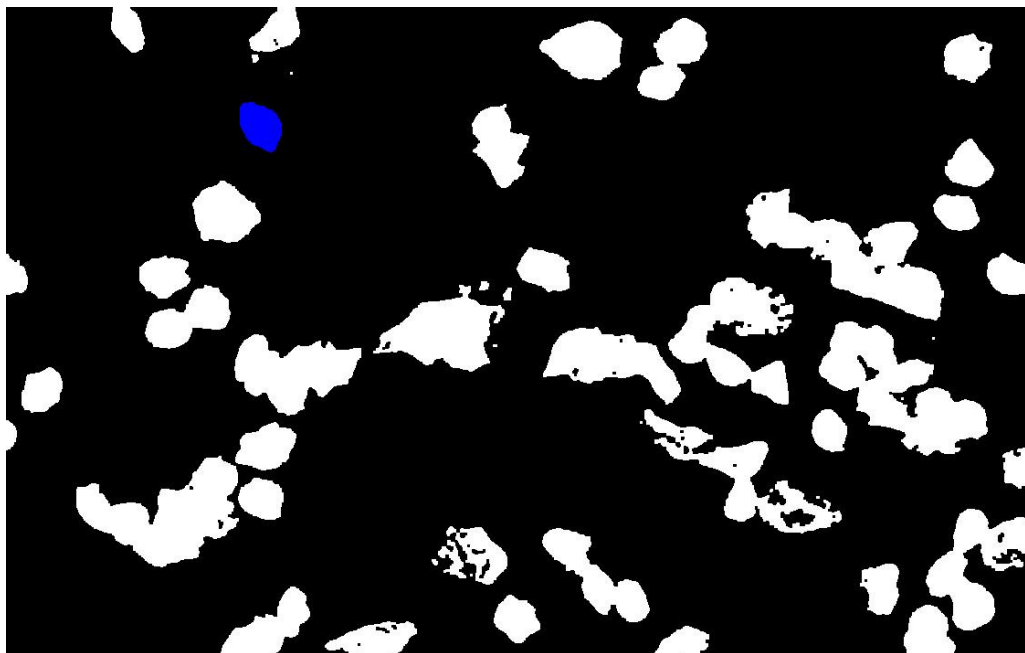
Erre az ötletre felmerült bennem a következő kérdés. Mi van akkor, ha pont azok a sejtek lesznek kiszűrve, amelyekből felismerhető lenne egy betegség és ezáltal egy beteg ember egészségesnek lesz nyilvánítva. Erre azt a választ kaptam, hogy nem egy vagy két sejt hordozza magában az információt a betegségről, hanem több és ezek a sejtek feltételezhetően egyenletes eloszlásban vannak a szövetben, így nem fogjuk az összes rossz sejtet kiszűrni, tehát ezzel a módszerrel valóban megoldást találtam a problémára.

3.7.3 A vizsgálandó sejtek megkeresése

A megfelelő sejtek megtalálásához először is létre kellett hoznom egy olyan képet, amin meg tudom számolni az egyes sejtek területét. Ehhez először szürkeskálássá alakítottam az eredeti képet, majd küszöböléssel bináris képet állítottam elő, ahol fehérek a sejtek és fekete a háttér. Ezen a képen eróziót és dilatációt hajtottam végre. Ezzel elképzelhető, hogy valamelyest módosul a sejtek területe, azonban mindegyiknek arányosan ugyanannyival, így ez most esetünkben nem okozott problémát.

Elkészült az alapkép, jöhetett a kijelölés, mellyel megadjuk, melyik az a sejt, amihez a többi viszonyítani kell. Ezt a kijelölést a megfelelő sejtre történő kattintással lehet elvégezni, mely hatására a kijelölni kívánt sejt kék lesz. Ezt úgy oldottam meg, hogy azon pixelt kezdtem el kiterjeszteni, amelyikre a kattintás történt, úgy, hogy figyeltem a pixel 8 szomszédságát és ahol fehér pixelt talált, azt kékre színeztem. Ezt egészen addig csináltam, amíg még talált a pixelek környezetében fehér pixelt. Eközben egy számláló segítségével meg is tudtam számolni hány pixelből is áll a sejt, így már a területét is ismertem.

Ezután következett a számolást végző függvény megírása, mely megállapítja, melyik sejt az, amelyik a +/- 50%-os intervallumba még belefér. Ehhez végigmegyek a képen, és ha fehér pixelt találok, elkezdem a fent említett módon kiterjeszteni és közben számolni a területét, majd megvizsgálom, hogy beleesik-e az adott tartományba. Ha igen, akkor eltárolom a jó sejtek egy listájába, ha nem akkor pedig tovább haladok.



49. ábra. A megfelelő sejt kijelölése

3.7.4 Kromoszómák számolása

A kromoszómák megszámlálásánál egy újabb kérdés vetődött fel a számomra. Hogyan lehet megállapítani egy kétdimenziós képen lévő sejtről, hány kromoszómát tartalmaz, ha az valójában 3D-s.

Erre a kérdésemre szintén Dr. Méhes Gábortól kaptam meg a választ. Kétféle eljárást alkalmaznak, amikor elkészítik a tárgylemezt. Az egyik az, amikor valóban metszeteket készítenek egy sejtől. Ekkor tényleg nem lehet egy síkbeli képről egyértelmű eredményeket levonni. Azonban olyan kicsik a sejtek, hogy maximum 3 vagy 4 ilyen metszetből áll egy sejt. Tehát ha ezeket a metszeteket is megvizsgáljuk, akkor már egyértelmű következtetést tudunk belőlük levonni. A másik módszer, amikor az adott szövetet csak rányomják a tárgylemezre, ezáltal egy lenyomatot készítenek vele. Így az odatapadt sejtek és kromoszómák egészben maradnak. Ekkor már egy képből is egyértelmű információkat kaphatunk.

A kromoszómák számolásánál hibát képezhet a már korábban említett színek felismerésének nehézsége. Mivel az eredeti képen annyira nehéz megadni azt a beállítást, hogy mit is nevezünk pirosnak, vagy zöldnek, elképzelhető, hogy kimaradnak olyan pixelek, amelyek pedig a kromoszóma részei lennének, ezzel akár ketté is válhat egy kromoszóma. De az is elképzelhető, hogy olyan pixeleket pirosnak vagy zöldnek ítél meg a program, ami tulajdonképpen nem is az, így álpixelek keletkezhetnek.

Ezen kívül további hibát okozhat, hogy a program úgy lett létrehozva, hogy azok a kromoszómák számítanak egy kromoszómának, ahol a pixelek 8 szomszédságban vannak egymással. Azonban itt is lehetnek olyan esetek, amikor két vagy több kromoszóma közel áll egymáshoz, így a pixeleik 8 szomszédságban vannak egymással, ezért előfordulhat, hogy több kromoszóma egynek lesz számolva. Azonban a kromoszómák olyan aprók, hogy ezeket még szabad szemmel sem lehet biztosan elkülöníteni, nem úgy, mint a sejteknél, így algoritmust sem igazán lehet rá írni, hogy kell őket szétválasztani. Ezek a problémák sajnos hibaszázalékot képezhetnek a programban.

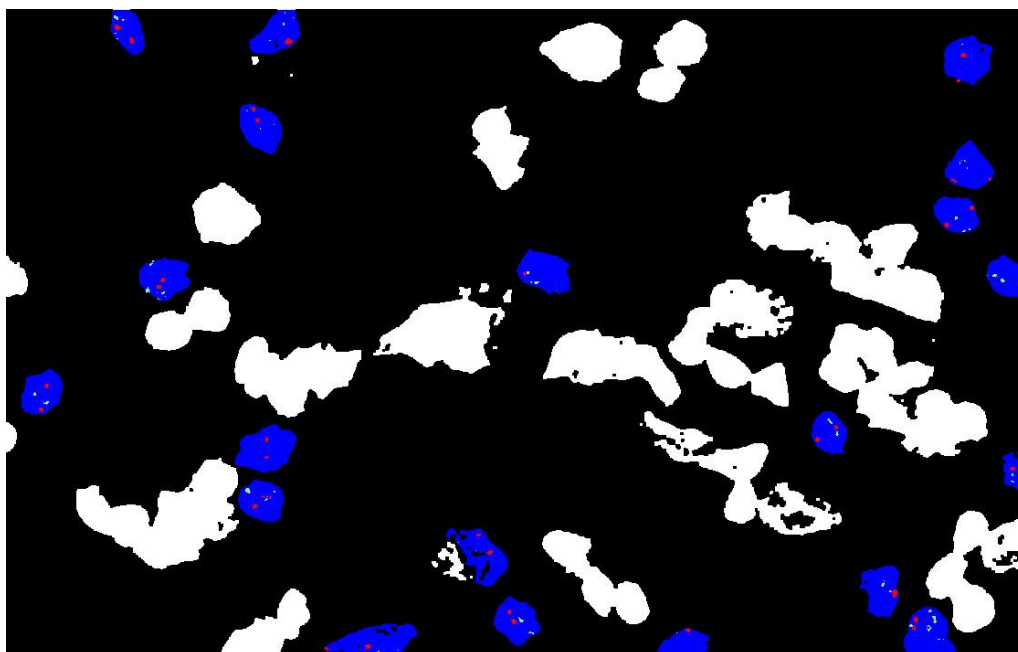
A kromoszómakereső függvény tehát a következőképpen működik. Megkeresi a képen azokat a sejteket, amik el lettek tárolva a jó sejtek listájába. Megvizsgálja ezen sejt területét, meghozza azon a képen, amin a sejtek éleibe belerajzoltam a kromoszómákat is. Ezen a területen keresi a piros és zöld pixeleket. Ha talál egy piros vagy egy zöld pixelt, akkor azt kiterjeszti az összes vele 8 szomszédságban álló pixellel, addig folytatva ezt, amíg még van a szomszédságban az adott színű pixelből. Ekkor megnövel egy változót, amellyel számoljuk a

kromoszómákat. A kromoszómákat a kékre színezett jó sejteken is megjeleníti a program, hogy így még jobban lehessen látni, hány kromoszóma van egy sejtben, és ha egy adott sejt fölé visszük az egeret a képen, egy szövegdobozban megjelenik az eredmény, azaz hogy hány piros és hány zöld kromoszóma található az adott sejtben.

Elképzelhető még egy olyan probléma is, hogy a jónak számolt sejtek tartományába beleesik olyan sejt is, amit nem akarunk. Például olyan, amelyik már a kontúrozásnál hibás volt, mivel túl sötét volt a sejt az eredeti képen és a küszöbölés után már kimaradtak a sejtől olyan pixelek, amelyek amúgy hozzátartoztak volna. Így a sejt jóval kisebb lett, tehát beleillik a tartományba, de közben mégsem egy egész sejt, tehát nem akarjuk megvizsgálni a benne lévő kromoszómákat. Olyan eset is előfordulhat, hogy két sejt takarásban áll, így tulajdonképpen a méretük akkora, mint egy sejtnek, azaz szintén beleférnek az intervallumba, azonban ezeket sem akarjuk megvizsgálni.

Ennek a problémának a megoldására a programba beépítettem egy olyan funkciót, hogy miután a program végrehajtotta a kromoszómaszámolást, egérekattintással bármelyik sejtet hozzá lehet venni a jó sejtekhez, vagy ki is lehet hagyni. Ha tehát fehér sejtire kattintunk, az kékre színeződik és a jó sejtek közé lesz felvéve, ha kékre kattintunk az fehér lesz, és ezzel töröljük a jó sejtek közül.

A program tulajdonképpen kommunikál is velünk, hiszen kiírja a lépéseket, amiket végrehajtunk, sőt ha hibázunk segítséget is tud nyújtani.

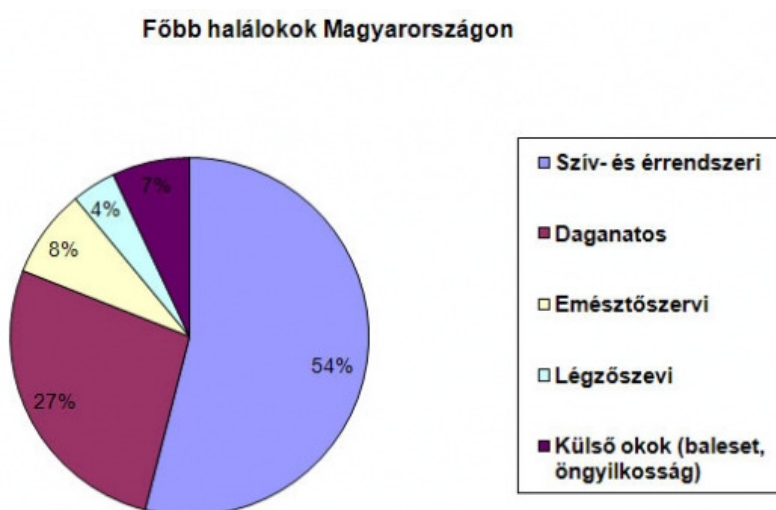


50. ábra. A megfelelő sejtek és a bennük lévő kromoszómák

4. Összefoglalás

Bár mint korábban arról említés esett a digitális szövettannak előnyei mellett hátrányai is vannak ma még Magyarországon, de úgy gondolom ezek főképpen bizonyos technológiai hiányosságokból, hozzáállásból, illetve pénzhiányból erednek. Azonban remélhetőleg a folyamatos fejlesztések, kutatások eredményeképpen ezek idővel meg fognak szűnni. Vélemény szerint sokkal nagyobb a digitális szövettan előnyeinek palettája.

Az országban az egészségügy hatalmas pénzhiányban szenved, ami hátráltatja annak fejlődését is. Ennek ellenére jó tudni, hogy vannak olyan orvosok, akik elkötelezettek a munkájuk felé és akár saját pénzüket feláldozva kezdenek bele egy fejlesztésbe, amiből aztán ekkora orvosi remek születik, mellyel rengeteg emberi élet megmenthető. Az ország ugyanis élen jár a beteg emberek számában, melyből a szív és érrendszeri megbetegedések után a leggyakoribb halálozás a daganatos megbetegedésekből ered.



A digitális szövettan leginkább ennek a betegségnek a diagnosztizálására alkalmas, így elterjedésével akár ezen betegség jelentős visszaszorítását is el lehetne érni, ami persze nem csak az orvosokon és az ehhez hasonló fejlesztéseken múlik, hanem az emberek életmódján is, de az biztos, hogy hatalmas előrelépést jelent a daganatos megbetegedések okozta halálozások csökkentésében.

Az erre a célra kifejlesztett hardverek és szoftverek hihetetlen fejlesztői munkák eredményei és bár az általam megírt program, még közel sem áll ahhoz, hogy orvosok élesben

használják, de jó volt számomra azért, hogy még inkább megismerkedjek ezzel a témával. További fejlesztésekkel pedig akár az ötleteket és a megvalósításokat tökéletesíteni lehet a programban.

Igazán remélem, hogy a jövőben még több ilyen hatalmas orvosi csoda születik meg az informatikával szorosán együttműködve és semmilyen negatív tényező nem szab ezeknek határt. Örülök, hogy az orvosi képfeldolgozás témáját választottam, és azon belül is a digitális szövettant, mert még inkább megéreztem mennyire fontos az informatika, illetve a szakmám ma a világban.

5. Köszönetnyilvánítás

Először is köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Fazekas Attilának, amiért a képfeldolgozás témakörébe bevezetett, a szakmai irányításáért, illetve a hasznos tanácsaiért.

Köszönetet szeretnék mondani apukámnak és anyukámnak mindenkori odaadó támogatásukért, segítségükért és hogy példaként járva előttem a szakma felkeltette érdeklődésemet. Leginkább mégis végtelen szeretetüket köszönöm, ami segített abban, hogy most az legyek, aki vagyok.

Köszönet testvéreimnek, Panninak és Csegőnek, hogy mindig mellettem álltak az elmúlt évek alatt, bármiről is legyen szó.

Köszönet nagyszüleimnek, akikre mindig lehetett számítani, amikor a sok tanulás közepette egy jó beszélgetésre, vagy egy finom ebédre volt szükségem.

Szeretném megköszönni támogatását vőlegényem családjának, akik szintén sokat segítettek, leginkább András bácsinak, akinek a rengeteg szakmai segítségét is köszönöm.

Végül szeretném nagyon megköszönni a segítséget vőlegényemnek, Kruppa Ádámnak, akinek szintén rengeteg szakmai segítsége mellett, ami nélkül nem tudtam volna elvégezni az egyetemet, köszönöm akadályt nem ismerő szeretetét, türelmét, ami miatt talpra tudtam állni a legnehezebb pillanatokban is. Köszönöm.

6. Irodalomjegyzék

- [1] <http://hu.wikipedia.org/wiki/Patol%C3%B3gia>
- [2] <http://www.pathology.hu/a-patologus-munkaja-es-szerepe>
- [3] <http://www.melanomablog.hu/2010/08/13/hogyan-keszul-a-szovettani-lelet/>
- [4] http://www.enc.hu/lenciklopedia/aktualis/digit_szovettan.htm
- [5] <http://daganatok.hu/20071025-diagnozis-akar-a-vilag-masik-felerol-indulhat-a-telepatologia>
- [6] <http://www.origo.hu/techbazis/20040524digitalis.html>
- [7] http://www.ddriu.hu/userfiles/File/Innovacios_sikertortenetek.pdf
- [8] <http://www.3dhistech.com/hu/node/products-hardware>
- [9] http://www.innovacio.hu/3b_hu_2003_dijazottak.php
- [10] <http://www.3dhistech.com/hu/node/vm-virtual-slide>
- [11] <http://musor.100csoda.hu/talalmany/digitalis-patologia>
- [12] <http://www.ujsg.sote.hu/se200711/20071105.html>
- [13] <https://www.doki.net/tarsasag/genetika//upload/genetika/document/biomarkerFISH04.doc>
- [14] Fazekas Gábor, Hajdú András: Képfeldolgozási módszerek, egyetemi jegyzet
- [15] <http://www.aforgenet.com/>
- [16] <http://mzsola.iit.uni-miskolc.hu/~czap/HEFOP/Kepfeld1010.pdf>
- [17] http://e-oktat.pmmf.hu/kepeshang_10_fejezet
- [18] Fazeka Attila, Kormos János: Digitális képfeldolgozás matematikai alapjai, egyetemi jegyzet
- [19] John Sharp: Microsoft Visual C# 2005 lépésről lépésre, Szak Kiadó, 2005
- [20] Berke József, Hegedűs Gy. Csaba, Kelemen Dezső, Szabó József: Digitális képfeldolgozás és alkalmazásai, Veszprémi Egyetem Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, PICTRON Számítás- és Videotechnikai Kft., 2000
- [21] Bruce Batchelor, Frederick Waltz: Intelligent Machine Vision: techniques, implementations and applications, Springer Publisher, 2001
- [22] Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods: Digital Image Processing, Second Edition, Prentice Hall Publisher, 2002

- [23] A. Nedzved, S. Ablameyko, I. Pitas: Morphological segmentation of histology cell images, Pattern Recognition, 2000. Proceedings, 15th International Conference on Issue Date: 2000, Barcelona, Spain.
- [24] Michael R Speicher, Stephen Gwyn Ballard, David C Ward: Computer image analysis of combinatorial multi-fluor FISH, Departments of Genetics and Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University School of Medicine, Volume 4, Issue 2, pages 52-64, June 1996
- [25] <http://www.3dhistech.com/hu/node/mirax-scan>
- [26] <http://www.3dhistech.com/hu/node/mirax-desk>
- [27] <http://www.3dhistech.com/hu/node/mirax-midi>
- [28] <http://www.3dhistech.com/hu/node/tma-arrayer>
- [29] <http://www.3dhistech.com/hu/node/mirax-viewer>
- [30] http://www.3dhistech.com/hu/node/tma_module
- [31] http://www.3dhistech.com/hu/node/ih-lab_module
- [32] http://www.3dhistech.com/hu/node/hq_module
- [33] http://www.3dhistech.com/hu/node/3d_module
- [34] <http://www.aforgenet.com/framework/docs/html/e01406a7-511d-ae4d-79b6-5f7eba523824.htm>
- [35] <http://www.aforgenet.com/framework/docs/html/b2bd54da-46c2-cb64-3577-0962d8f56554.htm>
- [36] <http://www.aforgenet.com/framework/docs/html/39e861e0-e4bb-7e09-c067-6cbda5d646f3.htm>
- [37] <http://www.aforgenet.com/framework/docs/html/e7e63ac5-7c1b-5dc2-40b2-8c80e217a946.htm>
- [38] <http://www.aforgenet.com/framework/docs/html/3a69482f-84c9-8f49-fc7b-61bc6e07cb44.htm>
- [39] Norberto Malpica, Carlos Ortiz de Solórzano, Juan José Vaquero, Andrés Santos, Isabel Vallcorba, José Miguel García-Sagredo, Francisco del Pozo: Applying watershed algorithms to the segmentation of clustered nuclei, Volume 28, Issue 4, pages 289-297, August 1997