Elaborazione, analisi e sintesi delle bioimmagini digitali

Gabriele Cevenini

Dipartimento di Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Siena

Le immagini analogiche possono essere elaborate (o meglio modulate), in funzione di una precisa finalità diagnostica, solo prima della loro acquisizione. Pertanto, quando si parla di elaborazione delle bioimmagini (*biomedical image processing*) per fini diagnostici si intende quasi sempre riferita a quelle digitali.
Per la precisione, occorre distinguere tra elaborazione ed analisi d'immagine. La sostanziale differenza sta nel fatto che per elaborazione si intende l'arte del riarrangiamento, mentre l'analisi rappresenta il processo di estrazione di informazioni dall'immagine e la loro sintesi.
Nel corso degli anni ha assunto sempre più interesse anche l'immagazzinamento delle biommagini digitali finalizzate a un'efficiente compromesso tra risparmio di memoria e mantenimento delle informazioni diagnostiche essenziali. Le tecniche che riguardano questo aspetto sono sia di elaborazione che di sintesi e sono note col termine *compressione* d'immagine.
L'elaborazione, l'analisi e la sintesi delle immagini digitali avviene attraverso l'uso di algoritmi numerici al calcolatore ed ha ampie possibilità d'impiego.
Per quanto concerne l'elaborazione si considerano sia funzioni per migliorare la visualizzazione di particolari regioni d'interesse, orientate per lo più a una diagnosi qualitativa (osservazione soggettiva medica), sia tecniche quantitative di processazione d'immagine, per migliorarne le caratteristiche o renderla idonea all'analisi d'immagine ed estrarne parametri numerici utili alla decisione medica; talora, tali parametri, opportunamente valutati con metodi computazionali di *pattern recognition*, consentono addirittura la diagnosi automatica.
Grazie all'utilizzo di questo insieme di tecniche, le immagini digitali arrivano a consentire, anche in presenza di una risoluzione spaziale inferiore alle immagini analogiche, una pari o maggiore efficienza diagnostica, proprio in relazione alla flessibilità e interattività della presentazione.

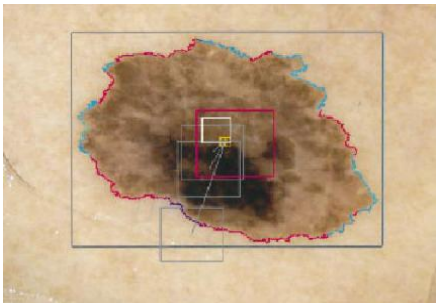
Le tecniche per migliorare la visualizzazione ad un osservatore biomedico, comprendono:

- la qualità di riproduzione delle immagini su carta e su monitor;
- la variazione dell'ampiezza e del livello della finestra dei livelli di grigio (*windowing*);
- l'inversione della scala dei grigi (*image reverse*);
- l'ingrandimento di particolari (*zooming*);
- lo scorrimento dell'immagine sul monitor (*scrolling*);
- la ricostruzione e la visualizzazione 3D di parti anatomiche;
- la traslazione e la rotazione di porzioni d'immagine rispetto ad altre;

Le tecniche per la misura di caratteristiche e strutture nelle bioimmagini digitali, comprendono:

- la riduzione del rumore e delle distorsioni da acquisizione (*filtering*);
- la ricostruzione dell'immagine corretta dai disturbi (*reformatting* e *rendering*);
- l'innalzamento del contrasto di parti, aspetti o componenti dell'immagine (*enhancement*);
- l'elaborazione nel dominio della frequenza (*spatial Fourier transform*);
- la suddivisione dell'immagine in parti, regioni o oggetti d'interesse (*segmentazione*);
- l'elaborazione delle immagini convertite in pixel bianchi o neri (*binary processing*);
- la misura di parametri che sintetizzano le informazioni: contorni, aree, distanze, fattori di forma, quantità e differenze di livelli di grigio o colore, ecc. (*feature measurement*);
- l'applicazione di algoritmi per riconoscere condizioni patologiche (*pattern recognition*).

In questa lezione, si descriveranno succintamente gli aspetti salienti delle principali tecniche d'elaborazione e compressione delle bioimmagini digitali a fini diagnostici, con alcuni esempi applicativi.

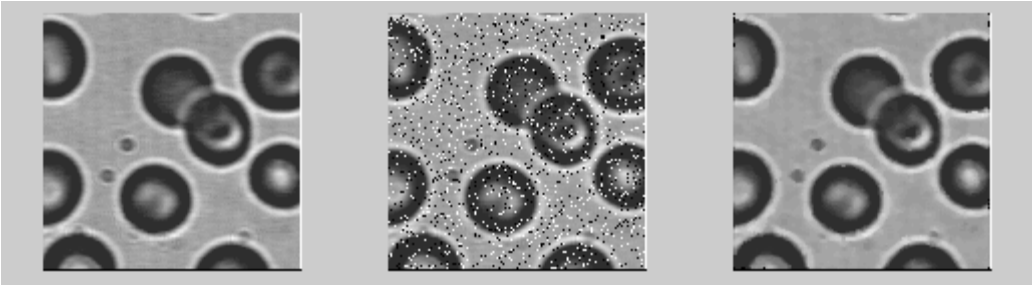


Nell'esempio a fianco si osserva una fase dell'elaborazione numerica relativa all'immagine dermatologica digitale di un neo per il riconoscimento di eventuali condizioni patologiche (dermoscopia digitale).

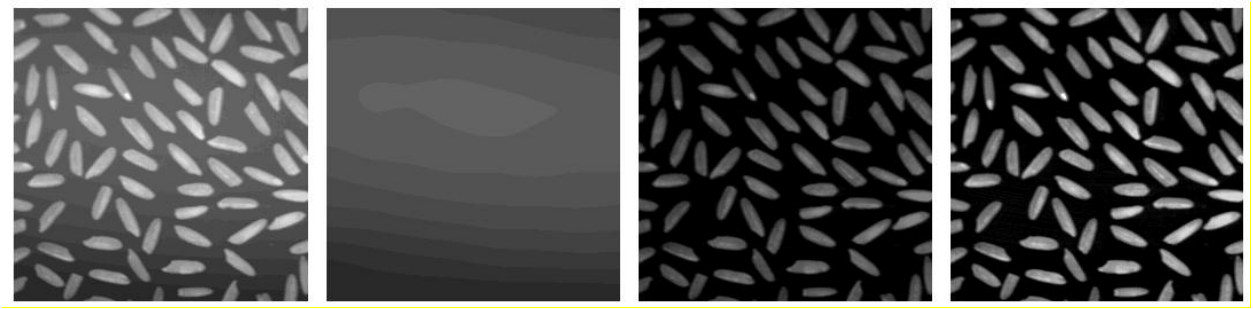
Correzione dei difetti d'acquisizione

A causa del rendimento non perfetto dei sistemi d'acquisizione, dell'illuminazione non uniforme e inadeguata della superficie dei dispositivi di visualizzazione su cui le immagini sono riprodotte e/o del non appropriato punto di vista, si utilizzano particolari procedure d'elaborazione d'immagine per la correzione di alcuni di questi difetti. Va segnalato come queste correzioni avvengono dopo che l'immagine è stata digitalizzata e memorizzata e pertanto non possono mai permettere di raggiungere livelli di qualità elevati, eventualmente ottenibili solo ottimizzando il processo primario di acquisizione. Spesso però risulta impraticabile raggiungere livelli ottimali di qualità, per i limiti intrinseci delle camere d'acquisizione e delle modalità di ripresa, per le sorgenti d'illuminazione che non possono essere controllate (p.es. il sole) e per il punto di vista che non può essere aggiustato (p.es. la posizione di una sonda ecografica da cui partono i raggi ultrasonici, condizionata dalla conformazione anatomica del corpo umano).

Esistono molte tecniche per la riduzione del rumore derivato dall'acquisizione dell'immagine. Le più diffuse sono basate sull'uso di filtri numerici spaziali di tipo passa-basso, sia nel dominio spaziale (filtri mediani), sia in quello della frequenza (trasformata spaziale di Fourier). Il rumore si trova di solito a frequenze elevate, e consiste spesso in una sorta di puntinatura dell'immagine. Un filtro spaziale passa-basso opera mediando i livelli di grigio di aree più o meno estese attorno a ciascun punto a cui viene applicato. Il filtro mediano a 9 punti per esempio, sostituisce il livello di grigio di ciascun pixel con la media dei 9 pixel posti su un quadratino 3×3 centrato su di esso. All'aumentare del numero dei pixel del quadratino, l'effetto filtrante è maggiore. Nella figura seguente viene illustrata la correzione dal rumore di un'immagine microscopica relativa ai globuli rossi: da sinistra verso destra, l'immagine originale non rumorosa, quella corrotta da rumore e quella corretta con un filtro mediano.

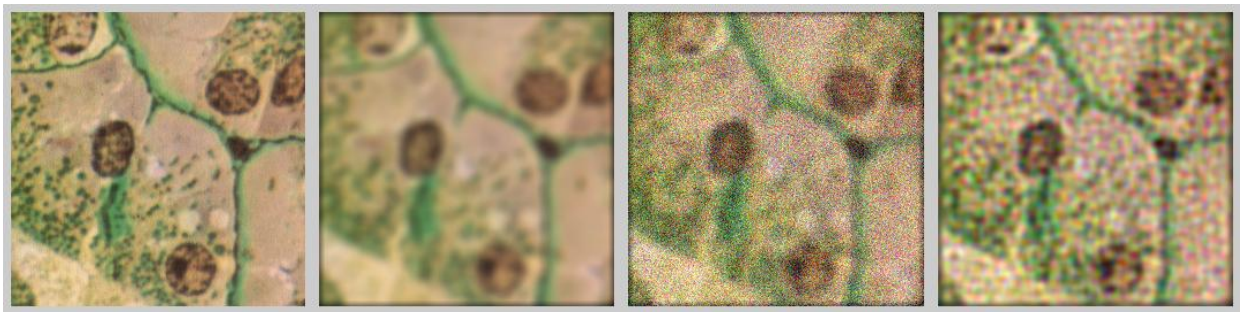


Le tecniche per la compensazione della non uniformità d'illuminazione si basano sulla separazione degli oggetti d'interesse dallo sfondo, separazione che si ottiene attraverso procedure di segmentazione (vedi nel seguito) e la sottrazione dello sfondo dall'immagine originale artefatta. Nelle immagini seguenti, da destra verso sinistra, sono mostrati: chicchi di riso acquisiti con illuminazione non uniforme, l'estrazione dello sfondo, la sottrazione dello sfondo dall'immagine originale e l'immagine finale migliorata in contrasto e luminosità.



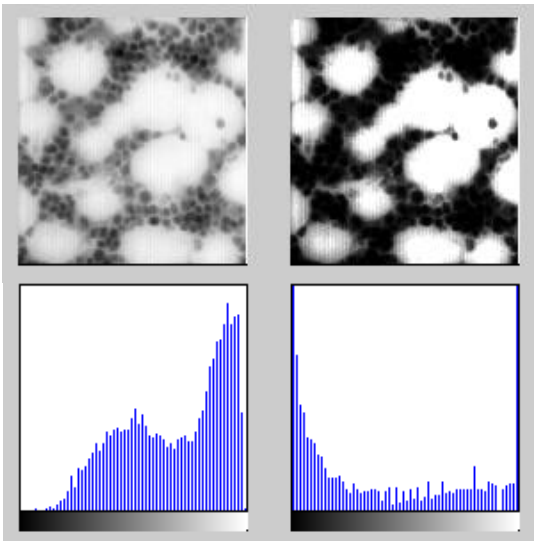
Nelle quattro foto seguenti, relative a un tessuto biologico al microscopio, possiamo osservare un

esempio di correzione (ultima foto a destra) di forti disturbi di sfocatura (II foto da sinistra) e rumore (III foto) simulati sull'immagine originale senza disturbi (riprodotta a sinistra).



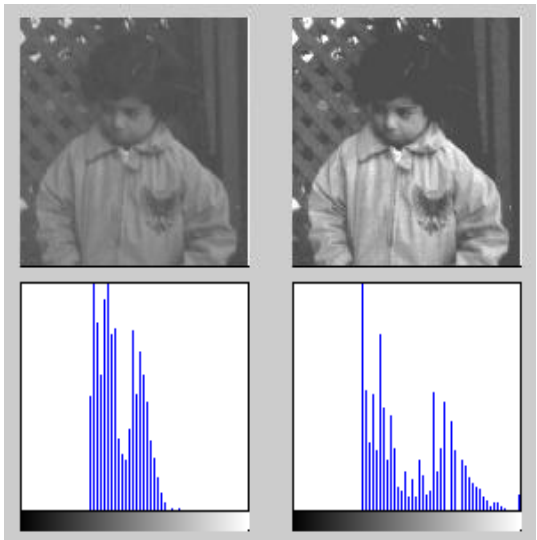
Aumento del contrasto

Per riconoscere aspetti o componenti interessanti di un'immagine si usano algoritmi di *enhancement* che permettono di aumentare il contrasto d'immagine, accrescendo la visibilità di porzioni od oggetti dell'immagine rispetto al fondo o ad altre porzioni, la cui visibilità viene di solito diminuita. Tali procedure stanno spesso alla base dei processi di segmentazione e misura di parametri di cui si dirà in seguito.



Anche in questo caso si usano tecniche sia nel dominio dello spazio, sia nel dominio della frequenza: entrambe realizzano filtraggi di tipo passa-alto o di tipo passa-banda. Nella figura accanto viene mostrata una di tali tecniche sulla sezione di un grumo di midollo osseo visto al microscopio.

Si intende misurare la percentuale di componente adiposa (chiara) che rappresenta un importante indice diagnostico. Per separare tale componente da quella ematica (più scura), nella quale si distinguono corpuscoli (globuli rossi, granulociti, ecc) e plasma, si opera attraverso l'equalizzazione dell'istogramma dei grigi, riportato in basso. In pratica, si allargano i livelli di grigio nelle zone che si vogliono distinguere (grigi tenui da grigi più intensi) e si raggruppano i grigi delle zone che si vogliono assimilare ad un'unica indistinta sostanza ematica. Vediamo come il risultato sia quello di ottenere un'efficace separazione delle componenti.



Un secondo esempio di equalizzazione qui illustrato è mostrato nella vecchia foto di un bambino in bianco e nero, ingrigita dal tempo. Allargando i livelli di grigio dell'istogramma si ottiene un aumento del contrasto con evidente beneficio nella visualizzazione dei particolari.

Segmentazione e trasformazione binaria

La segmentazione è il più diffuso metodo utilizzato per ricavare informazioni quantitative dalle immagini: consiste nel dividere l'immagine in regioni che si cerca di far corrispondere a unità strutturali significative o nel distinguere oggetti d'interesse.

La segmentazione è spesso descritta in analogia col processo visivo di separazione dello sfondo dalla scena in vista. Un importante prerequisito della maggioranza dei metodi di misura e di

interpretazione delle immagini è la possibilità di scegliere un singolo tipo di caratteristiche all'interno di essa, scartando tutto il resto. Questa divisione è riassumibile in tre passi:

1) definizione sull'immagine originale di un intervallo di valori di luminosità;
2) scelta dei pixel all'interno di questo intervallo come appartenenti alle strutture di interesse;
3) associazione di tutti gli altri pixel allo sfondo.

Un'immagine di questo tipo viene solitamente visualizzata in modo binario, usando il bianco e il nero come colori con cui si rappresentano le due regioni in modo distinto; va segnalato come non esista una convenzione standard sull'assegnazione del bianco e del nero alle caratteristiche di interesse o allo sfondo.

L'operazione di conversione dell'immagine in forma binaria avviene attraverso l'individuazione di soglie di grigi ed è chiamata *thresholding*. Le soglie possono essere scelte dall'operatore anche in modo interattivo, agendo con un cursore attivato dal mouse e guardando sullo schermo di un computer i livelli di grigio via via scelti, di solito evidenziati da un colore luminoso (p.es. giallo o verde brillanti) sovrapposto ad essi.

Per la corretta scelta della soglia binaria si può ricorrere anche all'istogramma dei livelli di grigio dei pixel che tipicamente assume una distribuzione bimodale sulla quale è possibile individuare livelli di separazione dove le frequenze presentano minimi (vedi figure precedenti).

Benché la segmentazione possa essere fatta anche direttamente sull'immagine originale acquisita, si effettua con migliori risultati facendola precedere da appropriate procedure di riduzione del rumore e di filtraggio.

L'immagine in bianco e nero diviene quindi una sorta di maschera binaria per la suddivisione dell'immagine originaria in regioni che corrispondono a unità strutturali significative. Essa può infatti essere sovrapposta all'immagine in grigio (o a colori) permettendo la misura di parametri descrittivi (p.es. aree, perimetri, livelli di grigi, ecc.) nelle sole aree bianche (o nere). Tali parametri sono utili al riconoscimento di condizioni fisiopatologiche.

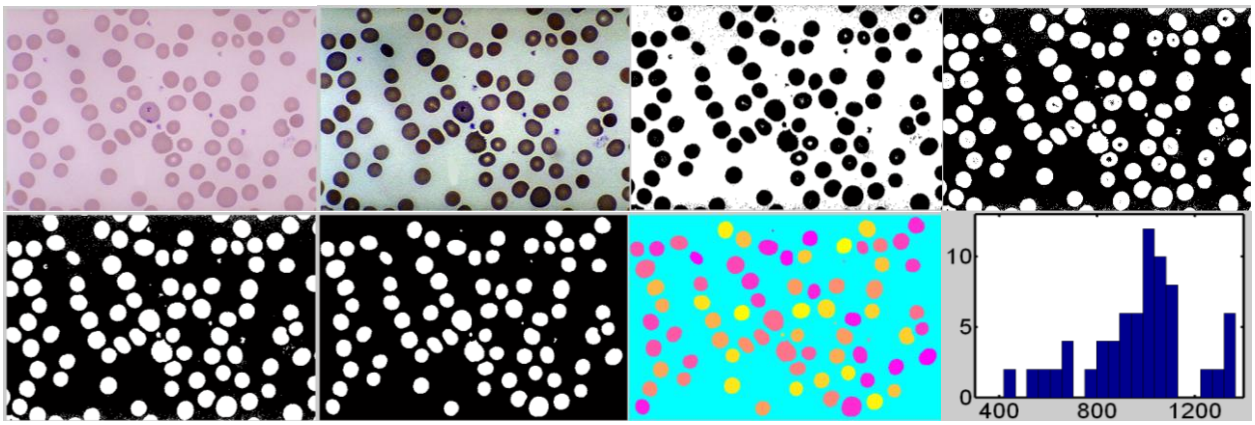
Nella seguente sequenza d'immagini relative a una cellula, possiamo osservare il processo di segmentazione nelle sue varie fasi. Da sinistra verso destra e dall'alto in basso: all'immagine originale, eventualmente corretta dai disturbi e filtrata per aumentare il contrasto, viene applicato un particolare filtro per il riconoscimento dei contorni (*edge detection*), riportati in bianco su sfondo nero. I contorni sono poi dilatati allo scopo di chiudere le strutture interne della cellula. Successivamente si riempiono i buchi interni, si erodono i contorni esterni precedentemente allargati artificialmente e si eliminano gli oggetti tagliati ai bordi, cioè la cellula incompleta in alto. Infine, la maschera binaria è sovrapposta all'immagine originaria.

Analisi d'immagine

L'analisi d'immagine si prefigge lo scopo di trovare e misurare quei parametri descrittivi che rappresentano sinteticamente le informazioni importanti presenti nell'immagine.

Le misure che si possono effettuare sulle caratteristiche dell'immagine individuate attraverso la segmentazione, possono essere raggruppate in quattro classi: luminosità (e/o colore), posizione,

dimensione e forma. Per ognuna di queste classi, esiste un'ampia varietà di differenti specifiche misure e una serie di modi diversi per fare queste operazioni. La maggior parte dei sistemi per l'analisi d'immagine offre almeno qualche misura per ogni classe.
L'operatore biomedico può decidere di volta in volta quali parametri misurare, secondo i suoi scopi o interessi. Molte di queste tecniche producono uscite numeriche adatte all'analisi statistica o alla realizzazione di grafici con l'uso del computer. Spesso l'analisi e l'interpretazione dei dati è lasciata a programmi a parte, quali fogli elettronici, pacchetti statistici e di *pattern recognition*. Questi ultimi comprendono procedure basate sull'identificazione di gruppi omogenei (*cluster analysis*) associabili a caratteristiche di aiuto alla diagnosi biomedica. In qualche caso, sofisticate metodologie di processazione computerizzata della bioimmagine, affiancate a tecniche di classificazione (classificatori *bayesiani*, metodi *nearest-neighbour*, *reti neurali*, ecc.), basate sui parametri misurati e sulla definizione di classi di patologie, consentono una vera e propria diagnosi automatica. Esempi di questo tipo sono: le diagnosi di varie patologie basate sul riconoscimento di cellule cancerose da immagini istologiche e l'identificazione di melanomi cutanei attraverso l'analisi in demoscopia digitale dei nei.
Nell'esempio di figura seguente sono mostrati i vari passaggi d'elaborazione ed analisi d'immagine di globuli rossi visti al microscopio. L'obiettivo è semplicemente quello di trovare il numero dei globuli rossi, valutarne l'area in pixel e procedere a un riassunto statistico che includa la media, la deviazione standard e i valori minimo e massimo.
Da sinistra verso destra e dall'alto al basso: immagine originale acquisita; aumento del contrasto; segmentazione (binarizzazione: fondo bianco e globuli in nero); inversione dell'immagine binaria, riempimento dei 'buchi' all'interno dei globuli; apertura, erosione ed eliminazione dei globuli tagliati ai contorni; immagine a falsi colori dello sfondo, dei globuli rossi e di piccole strutture dovute a difetti non corretti sull'immagine originaria; istogramma delle aree degli oggetti con area superiore a 400 pixel (solo globuli rossi). L'immagine a falsi colori rappresenta un necessario processo logico per distinguere e misurare ciascun oggetto separatamente.



N. globuli rossi = 75; Area (pixel): media = 960, dev.stand. = 221, min = 418, max = 1367

Compressione

La funzione d'immagazzinamento, registrazione e recupero delle immagini su e da supporti di memoria numerica è particolarmente importante. Infatti, occorre generalmente molta memoria per contenere le bioimmagini sotto forma di matrici di byte, specialmente quelle di qualità elevata, dotate di elevata risoluzione spaziale e ampio numero di livelli di grigio.
Per risparmiare tempi e risorse di memoria del computer, senza perdere informazione utile, sono stati realizzati diversi metodi di elaborazione numerica per la sintesi dell'immagine digitale, detti tecniche di *compressione d'immagine*. La riduzione della dimensione (in byte) del file contenente l'immagine compressa è espressa nel cosiddetto rapporto di compressione. Un rapporto 10:1 indica che l'immagine compressa occupa 10 volte meno memoria dell'originale.

A seconda della possibilità di riottenere dalle immagini digitali compresse di nuovo immagini di qualità equivalente o paragonabile a quella originaria, tali metodi sono stati classificati in:

Metodi di compressione reversibile (error free encoding) o senza perdita (lossless): migliorano l'efficienza della codifica dei pixel basandosi sulla frequenza statistica dei dati.
Uno di questi algoritmi è chiamato *run-length* (RL): le immagini digitali così ottenute sono denominate TIFF(*Tagged Image File Format*)-compressed. La codifica RL consiste nel riportare il numero di pixel consecutivi con lo stesso livello grigio. Ad ogni sequenza di più pixel con lo stesso grigio, il RL riporta quindi solo due numeri interi: numero di grigi e relativo livello. L'algoritmo ha un rapporto di compressione dipendente dal tipo d'immagine. È poco conveniente per immagini dettagliate con un notevole numero di livelli di grigio poiché è statisticamente poco probabile avere lunghe sequenze di pixel tutti uguali. Viceversa, è molto vantaggioso per immagini in bianco e nero, nei grafici, nei diagrammi, per le immagini sintetiche, per la grafica computerizzata e le immagini animate.

Metodi di compressione irreversibile o con perdita (lossy): riducono la ridondanza nella codifica dei pixel eliminando quegli elementi non percepibili, o poco percepibili dalla nostra vista. Gli algoritmi per la compressione irreversibile, pur introducendo una distorsione nelle immagini decodificate, sono estremamente efficienti e permettono di utilizzare elevati rapporti di compressione. D'altro canto, per determinare la qualità dell'immagine non è sufficiente valutare semplicemente la grandezza della superficie e l'ampiezza dello spettro dei grigi. Un altro parametro assai importante è rappresentato dall'istogramma che costituisce la rappresentazione in forma grafica della frequenza dei livelli di grigio effettivamente riscontrata nei pixel di cui è composta un'immagine digitale.
Il più noto di questi algoritmi è il cosiddetto JPEG (*Joint Photographers Export Group*). Esso è composto dai seguenti tre passi distinti.
Dapprima l'immagine viene trasformata da RGB a uno schema di codifica video in cui vengono separate l'immagine a gradazioni di grigio (luminanza) e le informazioni relative al colore (crominanza). Ognuna di queste due immagini è compattata separatamente. Infatti, la fisiologia della vista umana consente di perdere maggiormente sulle informazioni di colore rispetto quelle a gradazioni di grigio. Ciò è dovuto al fatto che l'occhio umano usa i grigi per identificare i bordi.
Successivamente, sono elaborate in frequenza sottoregioni quadrate dell'immagine usando una specie di trasformata discreta di Fourier (*discrete cosine transform*, DCT). Delle armoniche identificate si prendono solo le più importanti. Più se ne scartano, più la compressione sarà elevata.
Infine, si ottiene una compressione aggiuntiva troncando la precisione dei termini della DCT e usando una codifica efficiente che memorizza una sola volta le caratteristiche ripetitive, alla stregua dell'algoritmo RL.
L'algoritmo JPEG, applicato a bioimmagini per la diagnostica, quali TAC e RMN di elevata qualità, può raggiungere rapporti di compressione anche 100:1, senza apprezzabili perdite di informazione. Rapporti di 10:1 sono comunque tali da permettere una qualità pressoché inalterata per la maggioranza delle immagini a media risoluzione.
Nella prima finestra a sinistra delle quattro immagini seguenti è riportata una foto a colori in formato *bitmap*, in cui cioè ogni pixel è codificato con tre byte. È stata acquisita con risoluzione spaziale di 100 ppi ed è memorizzata in un file di 325 Kbyte.
La seconda foto è ottenuta con l'algoritmo di compressione senza perdita RL (formato TIFF). Si noti come la compressione sia all'incirca di 3:2, con un risparmio di memoria assai limitato: il file TIFF è di 202 Kbyte.
La terza foto è compressa con una tecnica *lossless* più efficiente (LZW) il cui formato è chiamato GIF (*Graphic Interchange Format*). Il file occupa meno memoria: 63 Kbyte.

La quarta foto è ottenuta con l'algoritmo JPEG, con fattore di compressione 10:1. La qualità dell'immagine è praticamente la stessa delle tre precedenti, ma il file è assai più leggero: 33 Kbyte.

bitmap (100 ppi) - 325 Kb TIFF - 202 Kb GIF - 63 Kb JPEG 10:1 - 33 Kb

Nella sequenza successiva viene mostrata la perdita di qualità all'aumentare del rapporto di compressione dell'algoritmo JPEG. Si può notare come l'immagine cominci a 'sporcarsi' con un rapporto di compressione 50:1, ma sia comunque di qualità ancora accettabile e la riduzione di memoria sia notevole: il file è di 7 Kbyte appena. A compressione 75:1, siamo scesi sotto il minimo consigliato dal JPEG per immagini come questa di media qualità: la qualità dell'immagine compressa è scarsa, ma non ancora del tutto inaccettabile. Immagini di bassa qualità in partenza, raggiungono questo punto critico anche con rapporti di compressione molto inferiori a questo.

JPEG 20:1 - 16 Kb JPEG 30:1 - 11 Kb JPEG 50:1- 7 Kb JPEG 75:1 - 5 Kb

Ai giorni d'oggi, le tecniche di elaborazione d'immagini e foto si vanno sempre più affermando, anche a scopo ludico. L'ultima immagine rappresenta la distorsione a puzzle di una foto del sottoscritto, con la quale approfitto per mandare a tutti un grosso

IN BOCCA AL LUPO!

Gabriele Cevenini