

МОДЕЛЬ И МЕТОД РЕШЕНИЯ ЗАДАЧИ ОПТИМИЗАЦИИ ЛАЗЕРНОГО ДЕЛЕНИЯ ЭМБРИОНА

А.В. Левкин

(Харьковский национальный технический университет
сельского хозяйства им. П. Василенко)

Предложены модель и метод решения задачи автоматизации и оптимизации лазерного деления эмбриона, допускающие эффективную вычислительную реализацию в смысле несущественных затрат памяти и трудоемкости. Это обеспечивает решение соответствующих практических задач в реальном масштабе времени, т.е. непосредственно при получении изображения эмбриона, что существенно важно для процесса лазерной резки, поскольку за время построения оптимальной траектории эмбрион не успевает значимо изменить свое положение.

лазерное деление эмбриона, изображение эмбриона, бластомер

Постановка проблемы. Повышение эффективности животноводства в значительной мере связано с использованием при искусственном осеменении элитных эмбрионов. Однако, ввиду их высокой стоимости в настоящее время все большее распространение получает использование фрагментов эмбрионов, полученных на основе их лазерного деления [1 – 5]. Вместе с тем, эффективность этого процесса во многом определяется уровнем автоматизации процесса деления и оптимизации траектории лазерного луча, обеспечивающей минимизацию числа поврежденных бластомеров при росте числа и жизнеспособности фрагментов.

Анализ публикаций. Для решения задачи лазерного деления эмбрионов (ЛДЭ), содержащих несколько бластомеров, в работе [6] предложено использовать оптико-электронную систему с целью визуальной установки эмбриона в положение, обеспечивающее более качественное планирование траекторий. В работе [7] для случая эмбрионов, составленных из нескольких бластомеров, предложен метод решения задачи ЛДЭ, основанных на применении R-функций. Однако, применение этих подходов не обеспечивает решение задачи ЛДЭ с требуемым уровнем автоматизации, качества и оперативности.

Постановка задачи. Для решения задачи ЛДЭ с учетом указанных выше требований в данной работе предлагается обобщенная модель эмбриона и основанный на ее использовании метод решения этой задачи, которые позволяют не только автоматизировать процесс деления

эмбрионов, но и повышать качество получаемого при этом результата за счет оптимизации числа и состава фрагментов.

При лазерном делении эмбриона на фрагменты, составленные из бластомеров, использование его двумерного изображения (рис. 1, а) можно считать адекватным, поскольку в условиях, когда лазерный луч направлен перпендикулярно к плоскости изображения, повреждение или не повреждение составляющих его бластомеров не зависит от их удаленности по нормали. В этих условиях задачу ЛДЭ можно рассматривать как задачу разбиения двумерных образов бластомеров, причем с достаточной степенью точности можно считать, что все они представлены на плоскости кругами равного радиуса R (рис. 1, б). При этом общее число бластомеров N , как правило, не превышает 64.

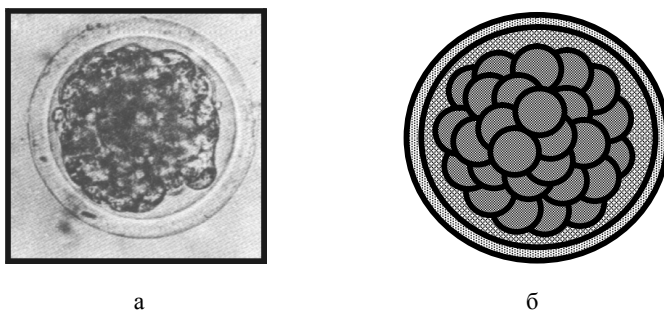


Рис. 1. Изображение эмбриона на стадии развития – ранняя бластоциста (а) и его представление после сегментации (б)

Получение исходных данных – геометрической модели эмбриона в виде совокупности бластомеров $V = \{b_i\}_{i=1,n}$, и определение их центров $\{c_i\}_i$ и радиусов может быть осуществлено на основе применения существующих моделей и методов сегментации [8] с последующим заданием центров как центров тяжести сегментированных границ (окружностей или соответствующих им дуг) и соответствующим усреднением их диаметров. Заметим, что при этом для задачи ЛДЭ несущественно, какой бластомер из пары b_i, b_j лежит "выше" или "ниже" – важно лишь пересекаются ли их границы, с достаточной точностью определяемые окружностями, или нет.

В процессе ЛДЭ луч лазера движется по бластомерам непрерывно. Те из них, по которым он проходит, теряют жизнеспособность, а остальные – сохраняют; первые отнесем к классу D , а вторые – к классу E . В результате эмбрион разделяется на два или более фрагментов, в каждом из которых должно содержаться не менее одного бластомера класса E .

Бластомеры класса E , попавшие в один фрагмент (компоненту связности) с номером ξ ($\xi = 1, 2, \dots, \Xi$), назовем кластером B_ξ , а их число обозначим $n_\xi = |B_\xi|$.

Пусть траектории лазерного луча определяются ломаными $\{L_\zeta\}_{\zeta=1,Z}$. Бластомеры класса D , через которые они проходят, обозначим $\{d_v\}_{v=1,M}$.

В этих условиях для повышения надежности осеменения задача ЛДЭ ставится следующим образом.

Задача ЛДЭ. Найти ломаные $\{L_\zeta\}_{\zeta=1,Z}$, которые разбивают эмбрион на кластеры $\{B_\xi\}_\xi$ и обеспечивают выполнение следующих условий в лексикографическом порядке:

$$\Xi \rightarrow \max; \quad (1)$$

$$\min_{\xi \in \Xi} n_\xi \rightarrow \max; \quad (2)$$

$$M \rightarrow \min. \quad (3)$$

Актуальные варианты этой задачи определяются тем, что критерий (3) может быть опущен, поскольку неявно он отражен в (1), а критерий (1) может быть заменен ограничением

$$\Xi = \Xi^*, \quad (1')$$

где Ξ^* – число фрагментов, которое требуется получить.

При этом критерий (2) может быть заменен требованием о том, что число бластомеров n_ξ класса E должно быть примерно одинаковым во всех кластерах; в этом случае в качестве критерия однородности объема кластеров рассмотрим выборочную дисперсию

$$S \rightarrow \min, \quad (2')$$

$$\text{где } S^2 = \frac{1}{\Xi} \sum_{\xi} (n_\xi - \bar{n})^2, \quad \bar{n} = \frac{1}{\Xi} \sum_{\xi} n_\xi.$$

Заметим, что сама технология разделения эмбриона лазерным лучом позволяет рассматривать последовательность не обязательно связанных ломаных $\{L_\zeta\}_{\zeta=1,Z}$ как последовательность траекторий лазерного реза, что в определенном смысле определяет итерационную декомпозицию задачи ЛДЭ, причем для различных комбинаций введенных критериев и ограничений.

Геометрическая модель траекторий. Соотнесем рассматриваемому эмбриону граф $G = (V, \rho)$, вершине $v_i \in V$ которого соответствует центр c_i бластомера b_i , а всякой паре вершин v_i, v_j соответствует ребро ρ_{ij} тогда и только тогда, когда соответствующие бластомеры $b_i,$

b_j пересекаются, т.е. расстояние между их центрами c_i, c_j меньше $2R$.

Если отрезок $c_i c_j$ не пересекается ни с одним другим blastомером, зададим ребру ρ_{ij} вес $w_{ij} = 1$; в этом случае разрез по blastомерам b_i, b_j производится по отрезку $c_i c_j$ (рис. 2, а).

Если отрезок $c_i c_j$ пересекается третьим blastомером, но ломаная вида $c_i C c_j$ (рис. 2, б) лежит в объединении blastомеров b_i, b_j и не пересекается иным blastомером, зададим ребру ρ_{ij} вес $w_{ij} = 1$; в этом случае разрез по blastомерам b_i, b_j производится по ломаной $c_i C c_j$.

Если blastомеры b_i, b_j не отделимы, т.е. область их пересечения $b_i \cap b_j$ покрывается третьим blastомером (рис. 2, в), разрез по blastомерам b_i, b_j производится по отрезку $c_i c_j$, но ребру ρ_{ij} задается вес $w_{ij} = 2$ (соответственно $w_{ij} = k + 1$, где k – число blastомеров такого типа). В этом случае разрез по blastомерам b_i, b_j приводит к переходу в класс D как их самих, так и всех этих k blastомеров.

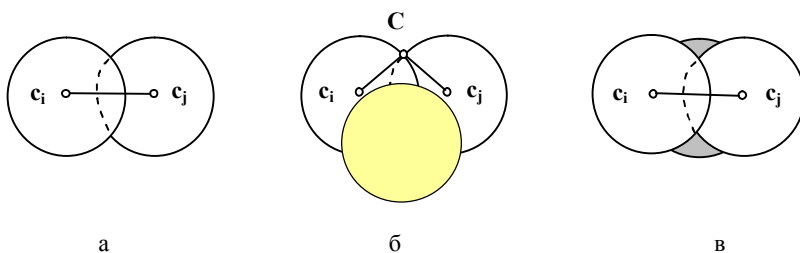


Рис. 2. Виды разрезов по blastомерам

Назовем blastомер b_i *внешним*, обозначив его z_i , если на некоторой дуге a_i своей границы он совпадает с огибающей (т.е. границей) эмбриона. Пусть A_i – произвольная точка на дуге a_i , причем отрезок $A_i c_i$ не имеет пересечений ни с каким blastомером; в этом случае присваиваем вершине z_i вес $u_i = 1$; иначе полагаем $u_i = k + 1$, где k – число blastомеров, покрывающих центр c_i blastомера b_i .

Полученные в итоге отрезки вида $c_i c_j, A_i c_i$ и ломаные $c_i C c_j$ назовем фрагментами траектории лазерного луча (ТЛЛ). Из непосредственных геометрических соображений следует, что по построению этих

фрагментов каждый из них имеет минимальное число пересечений с бластомерами, накладывающимися на данный бластомер, за исключением ряда маловероятных ситуаций, связанных с рассмотрением многократных наложений и касаний бластомеров, специальный анализ которых имеет малую практическую значимость ввиду того, что разрезание бластомера вблизи границы не гарантирует сохранности смежного бластомера. Поэтому для всякой последовательности связанных бластомеров, которые подвергаются разрезанию, соответствующая ей однозначно определенная последовательность фрагментов минимизирует критерий (3), т.е. число бластомеров, подвергаемых разрезанию.

Поскольку в данных условиях топологический тип [9] всякой непрерывной траектории определяется последовательностью разрезаемых бластомеров, которая начинается и заканчивается внешними бластомерами, задача ЛДЭ для $\Xi = 2$ сводится к поиску кратчайшего пути

$$p = (i_1, i_2, \dots, i_k), \quad (4)$$

заданного последовательностью неповторяющихся вершин (бластомеров) на графе G в смысле суммы весов

$$f(i_1, i_2, \dots, i_k) = u_{i_1} + \delta_{i_1, i_2} + \delta_{i_2, i_3} + \dots + \delta_{i_{k-1}, i_k} + \delta_{i_k}, \quad (5)$$

соответствующей значению критерия (3), где $\delta_{i_q, i_{q+1}}$ – число бластомеров, впервые разрезаемых ("помечаемых") при прохождении от бластомера i_q к бластомеру i_{q+1} ; необходимость введения этой поправки связана с тем, что один и тот же бластомер может входить в путь p и быть смежным нескольким вершинам из p . Эта величина задается следующим образом:

$$\delta_{i_q, i_{q+1}} = w_{i_q, i_{q+1}} - L_{i_q, i_{q+1}}; \quad (6)$$

$$\delta_{i_k} = u_{i_k} - 1 - L_{i_k}, \quad (6')$$

где $L_{i_q, i_{q+1}}$ (L_{i_k}) – число бластомеров, уже помеченных при движении по пути p из i_1 в i_k , из числа тех, что учтены в $w_{i_q, i_{q+1}}$ (в u_{i_k} , соответственно).

Графо-топологическая модель траекторий. Пусть G_p – граф G , из которого удалены вершины пути p , а также вершины p' , соответствующие помеченным бластомерам в (5) и инцидентные им ребра. Непустые компоненты связности этого графа образуют h кластеров $B_1^p, B_2^p, \dots, B_h^p$, содержащих по $n_\xi^p = |B_\xi^p|$, ($\xi = 1, 2, \dots, h$; $n_\xi^p > 0$) бластомеров каждый. Ввиду особенностей структуры эмбриона, таких кластеров,

как правило, два, но может быть ни одного (например, если исходное число бластомеров мало), один (если все кластеры, кроме одного, содержат лишь помеченные бластомеры), или более двух (например, при наличии блоков в графе G , смежных пути p).

Тогда показатели эффективности (1) – (3) для пути p равны:

$$\Xi_p = h ; \quad (7)$$

$$n_p = \min \{n_{\xi}^p\}_{\xi=1,h} ; \quad (8)$$

$$M_p = f(i_1, i_2, \dots, i_k), \text{ или } M_p = |V| - \sum_{\xi} n_{\xi}^p. \quad (9)$$

Поскольку оптимальное разделение эмбриона при первом разрезе определяется одним из кратчайших путей на графе G , начало и конец которого совпадают с не смежными внешними вершинами z_i, z_j , для получения оптимального решения при одном разрезе достаточно проанализировать все такие пути; оценим их количество.

Число внешних бластомеров N_z пропорционально периметру эмбриона, а их общее число – его площади, пропорциональной общему числу бластомеров $N = |V|$; отсюда получаем оценку $N_z \sim \sqrt{N}$. Количество N_p всех пар несмежных внешних вершин равно

$$(N_z - 3) + (N_z - 4) + \dots + 1 = \frac{(N_z - 3) + 1}{2} (N_z - 3). \text{ При } N = 64 \text{ получаем } N_p = 15.$$

Следовательно, в самом трудоемком случае анализу подлежит порядка

$$N_p = 15 \quad (10)$$

кратчайших путей на графе G , для получения которых достаточно N_p раз воспользоваться алгоритмом Дейкстры [10], что в итоге требует порядка

$$\kappa_1 \sim N_p \cdot N^2 \text{ (оп)}. \quad (11)$$

В случае анализа всех кратчайших путей в каждом из кластеров $V_1^p, V_2^p, \dots, V_h^p$, в наихудшем случае ($h = 2$) требуется проанализировать уже лишь порядка

$$N'_p \sim 3 - 4 \quad (12)$$

путей, что на порядок снижает трудоемкость κ_1 до величины

$$\kappa_2 \approx 2 \cdot N'_p \cdot (N/3)^2 \sim N^2 \text{ (оп)}. \quad (13)$$

Таким образом, показатели (7) – (9) и оценки трудоемкости (10) – (13) подтверждают эффективность предложенного подхода к итеративному решению задачи ЛДЭ.

Метод решения задачи ЛДЭ при различных критериях и ограничениях. Если задача ЛДЭ дана в постановке (1) – (3), на первом шаге последовательно перебираем все N_p кратчайшие пути на графе G , запоминая для них кластеры $\{V_1^p, V_2^p, \dots, V_h^p\}_p$ и соответствующие им значения критериев (1) – (3). По порядку величины общее число кластеров на этом шаге не превышает $N_{C,1} \sim 2 \cdot N_p \leq 30$.

На втором шаге применяем ту же процедуру кластеризации к каждому из кластеров, полученных на первом шаге. Теоретически, полученное в итоге число кластеров можно оценить величиной $N_{C,2} \sim 2 \cdot N_{C,1} \leq 60$, которая, однако, практически недостижима из-за весьма плотного заполнения эмбриона blastomeres. По этой причине, как правило, более двух разрезов не производится, хотя метод не имеет к этому ограничений.

Таким образом, полный перебор вариантов деления эмбриона на фрагменты, которые исключают заведомо неоптимальные варианты, составляет весьма незначительную величину по затратам памяти и времени обработки по сравнению с возможностями современных ЭВМ.

В случае, если вместо лексикографической оптимизации по критериям (1) – (3) требуется повышать жизнеспособность полученных фрагментов, используем ограничение (1') и/или критерий среднего – (2'). В первом случае при применении описанного метода кластеры, для которых нарушается условие (1'), исключаются из дальнейшего рассмотрения. Во втором случае критерий (2') применяется вместо (2) на заключительной фазе – при оценке качества всех совокупностей кластеров после шага 2.

Заключение. Предложенная модель и метод решения задачи автоматизации и оптимизации лазерного деления эмбриона допускают эффективную вычислительную реализацию, не требуя сколько-нибудь значительных затрат памяти и трудоемкости, что позволяет использовать их для решения соответствующих практических задач в реальном масштабе времени, то есть непосредственно при получении изображения эмбриона. Это существенно важно для процесса лазерной резки, поскольку за время построения оптимальной траектории эмбрион не успевает значительно изменить свое положение.

Вместе с тем, вопрос о выборе обобщенного критерия оптимальности для задачи деления эмбриона не следует считать закрытым. Однако, использование полного перебора в предложенном методе деления эмбриона позволяет оперативно изменять критерии и ограничения, что обеспечивает возможность простой настройки соответствующего программного обеспечения на особенности рассматриваемых объектов.

Кроме того, определенное ограничение на число фрагментов, на которые делится эмбрион, накладывает точность сегментации границ слабokonтрастных изображений эмбрионов и возможность малых смещений эмбриона после получения его фотографии и в процессе резки, что приводит к необходимости сохранения избыточного числа бластомеров во фрагментах. Поэтому с развитием методов сегментации будет повышаться и эффективность применения предложенного метода решения задачи ЛДЭ за счет обеспечения возможности выделения более мелких фрагментов эмбриона без снижения их жизнеспособности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пат. 20967 А Україна, МПК 6 А 01 К 67/02, А 61 D 19/04. Спосіб одержання химер сільськогосподарських тварин / М.В. Зубець, В.П. Буркат, Ю.Е. Мегель, В.П. Путятин, А.В. Левкін (Україна). – № 93007654; Заявл. 26.07.93; Опубл. 07.10.97, Бюл. № 1. – 6 с.
2. Пат. 99042015 Україна, МПК 6 А 01 D 1/00. Спосіб одержання монозиготних тварин / М.В. Зубець, Ю.Е. Мегель, В.П. Путятин, А.В. Левкін (Україна). Заявл. 09.04.99; Позит. ріш. від 14.12.99. – 6 с.
3. Пат. 191957 Венгрия, МКИ А 61 D 1/00. Способ получения однойцовых близнецов / Csillag Laszlo, Kroo Norbert, Kovaco Andras, Soos Pol (Венгрия). Заявл. 12.10.84; Опубл. 29.08.88. – 7 с.
4. Зубець М.В., Мегель Ю.Е. Получение монозиготных животных методом лазерного деления эмбрионов // Вісник аграрної науки. – 1992. – № 11. – С. 33 – 36.
5. Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – М.: Госагропром СССР, 1987. – 91 с.
6. Зубець М.В., Мегель Ю.Е., Путятин В.П. Автоматизированная система оценки подвижности микробиологических объектов // Вісник аграрної науки. – 1993. – № 6. – С. 69 – 76.
7. Мегель Ю.Е., Васильцова Н.В. Автоматизация процесса лазерного деления эмбрионов // Вестник Харьковского НТУ (ХПИ). – Х.: ХНТУ. – 2001. – Вып. 4. – С. 185 – 188.
8. Смеляков К.С. Адаптивная маска для сегментации границ изображения // Радиоэлектроника и информатика. – 2004. – № 1. – С. 126 – 134.
9. Хилтон П., Уайли С. Теория гомологий. – М.: Мир, 1966. – 452 с.
10. Кристофидес Н. Теория графов. Алгоритмический подход. – М.: Мир, 1978. – 432 с.

Поступила 16.05.2005

Рецензент: доктор технических наук, профессор И.А. Фурман,
Харьковский национальный технический университет
сельского хозяйства им. П. Василенко.