

der Fakultät für Informatik und Automatisierung der Technischen Universität Ilmenau
vorgelegt von:

Automatische Formbestimmung einzelner strömungskräftefreier Erythrozyten durch Auswertung von Intensitätsbildern defokussierter mikroskopischer Aufnahmen

DISSERTATION
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor-Ingenieur

der Fakultät für Informatik und Automatisierung der Technischen Universität Ilmenau
vorgelegt von:

Dipl.-Ing. Gert Schneider
geb. am 12.04.1966 in Dresden

Berichterstatter: Prof. Dr.-Ing. habil. Günter Henning
Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Artmann
Dr.-Ing. Michael Zimmermann

Tag der Einreichung: 12.12.1995
Tag der öffentlichen wissenschaftlichen Aussprache: 18.06.1996

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Symbole	VIII
1. Einleitung	1
2. Die Form des Erythrozyten und seine Bedeutung	3
2.1. Aufbau und Ruheformspektrum	3
2.2. Ruheform und Lipidbilayer	5
2.3. Bisherige Untersuchungen zur Erythrozytenform	6
3. Verfahren zur Formbestimmung von Erythrozyten	7
3.1. Form und Formbeschreibung	7
3.2. Kriterien zur Einordnung schon bestehender Verfahren	7
3.3. Elektronenmikroskopische Verfahren	8
3.4. Durchflußzytometrische Verfahren	8
3.5. Lichtmikroskopische Verfahren	9
3.5.1. Tangent Counting	9
3.5.2. Monolayerphotometrie	11
3.5.3. Leitz- Interferenz- Kontrast	12
3.5.4. Interphakoverfahren	14
3.5.5. Reflektions- Interferenz- Kontrast- Mikroskopie	15
3.5.6. Phasenkontrastmikroskopie	17
3.6. Bildverarbeitungsmethoden zur Erythrozytendifferenzierung	17
3.7. Dreidimensionale Rekonstruktion biologischer Objekte	19
3.8. Zusammenfassung und Beurteilung des internationalen Entwicklungsstandes	21
3.8.1. Physikalische Methoden	21
3.8.2. Auswerteverfahren in der Bildverarbeitung	22
4. Ableitung der Aufgabenstellung und Lösungskonzeption	24
4.1. Ableitung der Aufgabenstellung aus dem Entwicklungsstand	24
4.2. Vorüberlegungen zur Aufgabenstellung (Bildgewinnung) - Auswertung defokussierter Ebenen	25
4.2.1. Detaillierte Beschreibung der Formänderung	25
4.2.2. Lage der Blutkörperchen in der Bildebene des Mikroskops	26
4.2.3. Lichtintensitätsverteilung in defokussierten Ebenen	26
5. Modellbildung zur Beschreibung der Lichtintensitätsverteilung defokussierter Ebenen	31
5.1. Modelle zur Formbeschreibung	31
5.1.1. Auswahl eines Modells zur mathematischen Beschreibung der Erythrozytengeometrie	31
5.1.2. Generierung von Modellkörpern zur mathematischen Formbeschreibung von Diskozyten und Stomatozyten	34

5.2. Das Blutkörperchen als Linse- geometrisch optische Betrachtung	37
5.3. Wellenoptisches Modell zur Lichtausbreitung unter Berücksichtigung	
defokussierter Ebenen	39
5.3.1. Kohärenz, Teilkohärenz, Inkohärenz	39
5.3.2. Das Mikroskop als lineares Übertragungssystem	41
5.3.3. Defokussierung als Kontrastverfahren	45
6. Formklassifizierung von Erythrozyten aus defokussierten Aufnahmen	47
6.1. Gesamtlauf der Formdetektierung	47
6.2. Verfahren zur Fokussierung von Phasenobjekten basierend auf theoretischen	
Modellen	48
6.3. Extraktion der Erythrozyten vom Hintergrund	49
6.4. Bestimmung von formbeschreibenden Merkmalen aus theoretischen	
Berechnungen	55
6.4.1. Ermittlung von Durchmesser und Fläche	55
6.4.2. Angenäherten Dickenrekonstruktion auf Basis einer geometrisch- optischen	
Betrachtungsweise	60
6.5. Formbeschreibende Merkmale zur Detektierung von Diskozyten und	
Stomatozyten	68
6.5.1. Stomatozytische Verformung im Intensitätsbild	68
6.5.2. Auswahl der Parameter	73
6.5.3. Mittlerer Durchmesser	74
6.5.5. Mittlere Eindelltiefe - Flächenintensitätsstreuung	75
6.5.6. Örtliche Eindellung - Lokale Intensitätsstreuung	76
6.6. Charakteristische geometrische und Intensitätsparameter von Echinozyten	79
6.6.1. Echinozytische Verformung im Intensitätsbild	79
6.6.2. Randwelligkeit - Kriterium zur Unterscheidung Stomatozyt - Echinozyt	83
6.6.3. Weitere Parameter	89
6.7. Ermittlung des Formindexes aus der Parameterschar	92
6.7.1. Problemstellung und Einordnung des Verfahrens	92
6.7.2. Beschreibung des Klassifikatormodells	93
6.7.3. Berechnung des im Merkmalsraum liegenden Hyperbandes	93
6.7.4. Abstandsfunktion und Bestimmung des Formindexes	95
6.8. Evaluierung der Methode	96
6.8.1. Vergleich manuelle und automatische Fokusbestimmung	96
6.8.2. Vergleich manuelle Bestimmung der Form und automatische Formdetektierung	97
6.8.3. Nachweis der Monotonie der Formklassifikation bei gleichsinnigen	
Formänderungen	99
6.8.4. Reproduzierbarkeit der Messungen - Einfluß und Eliminierung von Störgrößen	101
7. Anwendungen	105
7.1. Forminduzierung durch Chlorpromazin und Natriumsalizylat	105
7.2. Ruheform- und induzierte Formänderungen beim Diabetes Mellitus	108
7.3. Erythrozyten- Subpopulationen bei Malaria- Erkrankung	110
7.3.1. Bedeutung	110
7.3.2. Ableitung der Formmerkmale	110
8. Zusammenfassung und Ausblick	112
8.1. Zusammenfassung der Ergebnisse	112
8.2. Ausblick	114

Anhang	116
Anhang A: Herleitung der kohärenten Übertragungsfunktion für defokussierte Ebenen	116
Anhang B: Präparation der Erythrozyten	119
Anhang C: Technische Ausrüstung und Daten	120
Literaturverzeichnis	123
Abbildungsverzeichnis	131