

Deconvolução Cega Aplicada à Correção de Artefatos de Movimento em Imagens de Vídeo de Microscopia Intravital para Detecção Automática de Leucócitos

Carlos H. Villa Pinto ¹
Bruno C. Gregório da Silva ¹
Paulo G. de Lima Freire ¹
Danielle Bernardes ²
Juliana Carvalho-Tavares ²
Ricardo J. Ferrari ¹

Data submissão: 10.11.2014

Data aceitação: 07.03.2015

Resumo: A microscopia intravital (MI) é uma poderosa ferramenta utilizada na área biomédica para a observação e imageamento *in vivo* de sistemas biológicos, tendo importante aplicação no estudo das interações leucócito-endotélio que ocorrem na microcirculação de diversos tecidos animais sob condições normais e patológicas. Dado que o controle das condições de aquisição das imagens na análise *in vivo* é bastante limitado, a presença de borramento e de artefatos de movimento nas sequências de quadros de vídeo adquiridas, resultantes da respiração e dos batimentos cardíacos inevitáveis do animal, constitui um dos principais obstáculos da MI. Isso compromete significativamente a detecção e o rastreamento dos leucócitos ao longo dos quadros, tanto em análises visuais como nas realizadas por métodos automáticos (computacionais). Assim, este trabalho realizou o estudo e aplicação de duas técnicas de deconvolução cega (algoritmo *deconvblind* e método de Shan *et al.*) para a correção de artefatos de movimento em imagens de vídeo de MI, fazendo uma avaliação quantitativa de como tal restauração afeta o desempenho de dois métodos de detecção automática de leucócitos (casamento de padrões e simetria de fase local). Análises de precisão *versus* revocação foram conduzidas a fim de se avaliar a eficácia da detecção automática em imagens de boa qualidade visual, imagens degradadas por movimento e imagens restauradas com cada uma das técnicas. A partir desse estudo, concluiu-se que o método de Shan *et al.* possui o maior potencial de restauração dos leucócitos e que as técnicas de deconvolução cega de fato têm utilidade como etapa de pré-processamento dos vídeos de MI para análises *in vivo*, especialmente quando o método de detecção automática de leucócitos é mais sensível a erros.

¹Departamento de Computação, UFSCar, Caixa Postal 676
{carlos.pinto, paulo.freire, bruno.silva, rferrari@dc.ufscar.br}

²Departamento de Fisiologia e Biofísica, UFMG, Caixa Postal 486
{julianat, danielle@icb.ufmg.br}

Abstract: The intravital microscopy (IM) is a powerful tool used in the biomedical field for the *in vivo* observation and imaging of biological systems, having important application in the study of the leukocyte-endothelial interactions which occur in the microcirculation of various animal tissues under normal and pathological conditions. As the control of the image acquisition conditions in the *in vivo* analysis is very limited, the presence of blurring and motion artifacts in the acquired video frames sequences, resulting from the animal's unavoidable breathing and heartbeats, is one of the main obstacles of the IM. This significantly undermines the detection and tracking of leukocytes over the frames, both in visual and automatic (computational) analyzes. Therefore, this paper carried out the study and application of two blind deconvolution techniques (*deconvblind* algorithm and Shan *et al.*'s method) for the correction of motion artifacts in IM video images, performing a quantitative analysis of how such restoration affects the performance of two methods of automatic leukocytes detection (template matching and local phase symmetry). Precision versus recall analyzes were conducted in order to evaluate the effectiveness of the automatic detection in images with good quality, images degraded by motion and images restored by each technique. From this study, it was concluded that Shan *et al.*'s method has the greatest potential to restore the leukocytes and that blind deconvolution techniques are in fact useful as a preprocessing step of IM videos for *in vivo* analyzes, specially when the method of automatic leukocytes detection is more sensitive to errors.

1 Introdução

No estudo e avaliação das atividades leucocitárias em eventos microcirculatórios, em condições normais e patológicas [23, 22] a medição da velocidade e a contagem dos leucócitos rolantes e aderidos às paredes dos vasos sanguíneos é de vital importância para o desenvolvimento de novos medicamentos e estratégias terapêuticas no tratamento de doenças inflamatórias [19, 18, 17]. Nesse tipo de estudo, a medida de velocidade e a contagem dos leucócitos rolantes e aderidos às paredes dos vasos sanguíneos são realizadas a partir de imagens obtidas da técnica de microscopia intravital (MI) [7, 16]. Tal técnica permite a aquisição de sequências de imagens (vídeo) que registram os processos dinâmicos que ocorrem na microcirculação de animais de teste (geralmente camundongos). As sequências de imagens obtidas possuem alta resolução temporal e pouca profundidade espacial, possibilitando assim visualizar diretamente o que ocorre dentro dos vasos sanguíneos e avaliar as atividades leucocitárias [23, 22].

Tradicionalmente, essa tarefa de análise é realizada de maneira puramente visual por um especialista [3]. Entretanto, trata-se de um trabalho repetitivo, que consome muito tempo, e cuja precisão das medições pode ser afetada pela fadiga visual do observador e também variar significativamente entre diferentes observadores [32]. Assim, o estudo e desenvolvi-

mento de técnicas computacionais automáticas para a detecção, o rastreamento e a análise de leucócitos em vídeos de MI é de grande importância e figura atualmente como uma área de pesquisa bastante ativa [11].

Diferentemente do que ocorre na análise *in vitro*, o controle das condições de aquisição das imagens de MI é bastante limitado, especialmente no que se refere à imobilização do animal em observação. Por essa razão, um dos principais obstáculos nesse tipo de análise é a presença de borramento e de artefatos de movimento nas sequências de quadros de vídeo adquiridas, em decorrência da respiração e dos batimentos cardíacos do animal [13, 30]. Isso compromete significativamente a detecção e o rastreamento dos leucócitos ao longo dos quadros, tanto nas análises visuais como naquelas realizadas por métodos automáticos.

Até certo ponto, o movimento pode ser corrigido com técnicas lineares e não-lineares de co-registro de imagens [13, 27], ou mesmo através de aparatos eletromecânicos especialmente desenvolvidos para esse fim [30]. No entanto, se o movimento do animal em observação for muito intenso, como acontece em experimentos envolvendo o cérebro e a coluna espinhal, os artefatos produzidos podem vir a ser bastante complexos e afetar vários quadros de vídeo em sequência, exigindo, assim, a aplicação de sofisticadas técnicas de restauração de imagens para que o problema possa ser minimizado a fim de possibilitar uma avaliação mais confiável da atividade leucocitária.

Alguns poucos trabalhos foram propostos na literatura para o estudo e resolução de tal problema. Shimizu *et al.* [25] descrevem uma tentativa de obter uma solução analítica fechada da função de espalhamento de ponto (PSF - *point spread function*) para sistemas de imageamento por fluorescência para uso em problemas de inversão. No entanto, nesse trabalho os autores apenas analisaram o efeito de borramento causado pela dispersão da luz pelo tecido entre a fonte fluorescente e a superfície da pele do animal de teste. Nenhuma atenção especial foi dada ao problema de distorção causado na imagem pelo movimento do animal. Outro trabalho relacionado a esse tema de pesquisa foi proposto por Niesner *et al.* [15], no qual os autores analisaram a degradação da PSF causada pela transmissão de luz através de amostras opticamente densas e determinaram que isso previne a resolução de pequenos detalhes localizados profundamente dentro das amostras. Eles também verificaram que a PSF é fortemente dependente do tipo de tecido analisado e que a aplicação de uma PSF dependente da profundidade de imageamento no caso da deconvolução tridimensional, pode restaurar a qualidade máxima das imagens degradadas. De maneira similar ao trabalho de Shimizu *et al.* [25], o efeito de borramento estudado e corrigido via deconvolução de imagens não investiga a degradação causada por movimento do animal de teste, mas sim, a degradação causada por características ópticas, intrínsecas do sistema de imageamento.

Com base no problema exposto, o presente trabalho realizou o estudo e aplicação de técnicas de deconvolução cega para a correção de artefatos de movimento em vídeos de MI, avaliando quantitativamente como tal correção afeta o desempenho de duas técnicas de

detecção automática de leucócitos.

Este artigo está organizado da seguinte maneira: na Seção 2, é feita uma breve revisão dos fundamentos e técnicas utilizadas para detecção de leucócitos e deconvolução de imagens. Na Seção 3, são descritos os passos tomados na obtenção do banco de imagens, no pré-processamento, na condução dos experimentos e na avaliação dos resultados. Na Seção 4, os resultados obtidos são apresentados e discutidos. Por fim, a Seção 5 faz as considerações finais.

2 Fundamentação teórica

Nesta seção são apresentados os fundamentos teóricos referentes as técnicas utilizadas neste trabalho.

2.1 Detecção automática de leucócitos

Com o objetivo de avaliar quantitativamente o efeito da restauração das imagens de microscopia intravital degradadas por artefatos de movimento para fins de processamento automático de detecção de leucócitos, duas técnicas de detecção de leucócitos foram avaliadas usando um mesmo conjunto de imagens, com e sem a aplicação do processo de restauração. As técnicas de detecção de leucócitos são descritas com mais detalhes nas subseções que se seguem.

2.1.1 Técnica de casamento de padrões (*Template Matching*) O algoritmo de casamento de padrões (*template matching* [8]), baseado na medida de correlação cruzada normalizada (CCN), é um algoritmo de reconhecimento de padrões que realiza a detecção de objetos similares em uma imagem $I(x, y)$ tendo como entrada a própria imagem e o objeto $w(x, y)$ (padrão ou *template*) a ser detectado. O algoritmo utiliza como medida de similaridade o coeficiente de CCN, calculado para uma dada posição espacial (x_o, y_o) da imagem como:

$$\rho(x_o, y_o) = \frac{\sum_x \sum_y [I(x, y) - \bar{I}(x, y)] \times [w(x - x_o, y - y_o) - \bar{w}]}{\sqrt{\sum_x \sum_y [I(x, y) - \bar{I}(x, y)]^2 \cdot [w(x - x_o, y - y_o) - \bar{w}]^2}}, \quad (1)$$

onde \bar{w} é o valor médio dos pixels em $w(x, y)$ (calculado uma única vez), $\bar{I}(x, y)$ é o valor médio de I na região coincidente com a posição corrente de w (região centralizada em (x_o, y_o)), e as somas são realizadas apenas sobre as coordenadas comuns a $I(x, y)$ e $w(x, y)$. O coeficiente de correlação ρ indica o grau de similaridade entre o padrão w e a região de pesquisa na imagem I e tem sua escala no intervalo de -1 a 1, sendo que $\rho = 1$ indica total

correspondência entre w e uma região de I , $\rho = 0$ que não houve correspondência e $\rho = -1$ que houve correlação inversa.

No caso específico da detecção de leucócitos, um conjunto de padrões w , correspondendo a diferentes imagens de leucócitos (com diferentes níveis de contrastes), são selecionados nas imagens de vídeo de microscopia. A média dos resultados das correlações da imagem I com o conjunto de padrões será utilizada para definir a posição dos leucócitos na imagem.

2.1.2 Técnica de simetria de fase local Visto que os leucócitos presentes nas imagens de microscopia intravital são células com formato predominantemente circular e, portanto, apresentam um alto grau de simetria em relação ao seu centroide, uma medida local (κ) que analisa a simetria de fase das estruturas de uma imagem foi utilizada para a detecção automática dessas células. Essa medida é calculada a partir de mapas locais de amplitude (A) e energia (E) obtidos das partes reais e imaginárias resultantes da convolução da imagem original I com um banco de filtros bidimensionais (2D) complexos do tipo log-Gabor [2, 12].

No domínio da frequência (ω), cada filtro do banco é formado pela multiplicação de dois componentes, um radial $G_{radial}(\omega_s)$ e outro angular $G_{angular}(\theta_o)$, como:

$$G(\omega_s, \theta_o)_{|\sigma_r, \sigma_\theta} = \underbrace{\exp\left(\frac{[\log(\omega/\omega_s)]^2}{2\sigma_r^2}\right)}_{G_{radial}(\omega)_{|\omega_s, \sigma_r}} \cdot \underbrace{\exp\left(-\frac{(\theta - \theta_o)^2}{2\sigma_\theta^2}\right)}_{G_{angular}(\theta)_{|\theta_o, \sigma_\theta}}, \quad (2)$$

onde ω_s é a frequência radial central do filtro na escala s e $\sigma_r = \log \beta$, sendo β uma medida relacionada à largura de banda em frequência do filtro [6]. θ_o é o ângulo de orientação (para a o -ésima orientação) e σ_θ é o desvio padrão que determina a largura de banda angular do filtro. O componente radial, $G_{radial}(\omega_s)$, corresponde a uma função Gaussiana com o eixo da frequência na escala logarítmica e é concentricamente simétrico à origem no domínio bidimensional da frequência. O outro componente do filtro 2D log-Gabor, $G_{angular}(\theta_o)$, é a parte angular que controla a seletividade de orientação do filtro.

Com o intuito de reduzir a complexidade computacional das operações de convolução³ entre a imagem original e os filtros log-Gabor, cujos coeficientes são representados por matrizes de dimensão 30×30 , os mapas de amplitude, $A_{s,o}(x, y)$, e energia, $E_{s,o}(x, y)$, são calculados no domínio da frequência como a multiplicação dos componentes complexos da transformada

³Na convolução de uma imagem I ($N \times N$ pixels) com um filtro G ($K \times K$ coeficientes), o número total de multiplicações realizadas é dado por $N^2 K^2$. Quando realizado no domínio da frequência, o mesmo processo requer $2 \times (2N^2 \log_2 N)$ multiplicações referentes às transformadas de Fourier direta e inversa, e $2 \times N^2$ multiplicações para o janelamento (*windowing function*) e filtragem da imagem, totalizando $N^2 (4 \log_2 N + 2)$ multiplicações.

de Fourier da imagem, $\mathcal{F}[I]$, com os coeficientes reais de cada filtro do banco, $G(\omega_s, \theta_o)$, e assim:

$$A_{s,o}(x, y) = \sqrt{Re_{s,o}(x, y)^2 + Im_{s,o}(x, y)^2}, \quad (3)$$

e

$$E_{s,o}(x, y) = |Re_{s,o}(x, y)| - |Im_{s,o}(x, y)|, \quad (4)$$

onde $Re_{s,o}(x, y)$ e $Im_{s,o}(x, y)$ correspondem, respectivamente, aos componentes real e imaginário do produto $\mathcal{F}[I] \cdot G(\omega_s, \theta_o)$.

Finalmente, a medida de simetria de fase local é calculada como:

$$\kappa(x, y) = \frac{\sum_{s=1}^S \text{mediana}_{o=1,2,\dots,N} \{E_{s,o}(x, y)\}}{\sum_{s=1}^S \text{mediana}_{o=1,2,\dots,N} \{A_{s,o}(x, y)\}}. \quad (5)$$

A medida κ apresenta valores próximos de 1 em regiões da imagem contendo estruturas claras e com alto grau de simetria, e é, portanto, utilizada para a detecção dos leucócitos nas imagens de microscopia intravital.

2.2 Deconvolução

Deconvolução é o processo de remoção do borramento introduzido durante a formação e aquisição da imagem, utilizando algum conhecimento a priori que se tem sobre tal fenômeno de degradação [1, 26]. O borramento normalmente ocorre devido a fatores como o movimento relativo entre o sensor de captura e o objeto imageado, o desajuste focal e a presença de deformidades nas lentes. Além disso, sabe-se que os processos de armazenamento e transmissão da imagem também podem levar à introdução de ruído. Mas enquanto o borramento normalmente possui um modelo matemático suficientemente preciso para sua descrição, o ruído pode apenas ser estimado estatisticamente [1].

O modelo de formação e degradação de uma imagem é matematicamente expresso pela equação

$$g = h \otimes f + \eta, \quad (6)$$

na qual a função f representa a imagem latente (sem qualquer degradação) do objeto imageado, η é o componente de ruído aditivo, h é a função de espalhamento de ponto (PSF - *point spread function*) do sistema óptico de imageamento e g representa a imagem degradada que se obtém como resultado final. O símbolo \otimes corresponde ao operador de convolução, ou seja, o borramento é o resultado de uma convolução entre a PSF e a imagem latente. A

deconvolução visa reverter tal processo, o que não é uma tarefa trivial pois se trata de um problema mal posto [1, 8, 26].

Na prática, o objetivo das técnicas de deconvolução é, a partir da imagem degradada g , tentar encontrar uma boa aproximação para a correspondente f , assumindo por hipótese que a PSF h é um operador linear e invariante à posição [8]. Em qualquer algoritmo desse tipo, a qualidade e precisão da PSF são essenciais para que se possa conseguir uma boa restauração da imagem degradada. Estimativas incorretas ou fora de escala podem levar ao surgimento de artefatos indesejados na imagem de saída do algoritmo, conduzindo a resultados pouco satisfatórios [26].

Muitas vezes, entretanto, o usuário não tem conhecimento da PSF do sistema óptico e nem pode obter tal informação após a aquisição das imagens. Nesses casos, podem ser empregadas técnicas de deconvolução cega, nas quais tanto a imagem latente como a própria PSF são estimadas e refinadas iterativamente a partir de uma dada inicialização. Os algoritmos de deconvolução cega costumam ter características análogas às dos algoritmos não-cegos iterativos e estatísticos, além de normalmente produzirem resultados melhores do que aqueles que seriam conseguidos usando um modelo puramente teórico de PSF - o qual se aplicaria a um sistema ideal, com lentes e calibração perfeitas, que dificilmente ocorre na prática [26].

Neste trabalho foram testadas duas técnicas de deconvolução cega, as quais são descritas a seguir. É importante observar que, como o escopo do trabalho está na análise quantitativa do efeito da restauração dos quadros de vídeo de MI na detecção automática de leucócitos, não se teve como prioridade abordar técnicas que compõem o estado da arte em termos de restauração de imagens; em vez disso, preferiu-se dar enfoque a técnicas que se encontram facilmente disponíveis para uso pelo usuário final (que provavelmente não seria um especialista em restauração de imagens).

2.3 Algoritmo *deconvblind*

O algoritmo *deconvblind* é uma técnica de deconvolução cega implementada no software MATLAB. Ela se baseia no algoritmo não-cego de Richardson-Lucy [20, 14] - também chamado de método EM (*Expectation-Maximization*) - que utiliza uma abordagem Bayesiana para a estimação iterativa da imagem latente f pelo critério de máxima verossimilhança. Isto é, a partir da regra de Bayes:

$$\Pr(f | g) = \frac{\Pr(g | f) \Pr(f)}{\Pr(g)}, \quad (7)$$

a solução desejada é encontrada com a seguinte maximização:

$$ML(f) = \arg \max_f \Pr(g | f), \quad (8)$$

na qual o termo $\Pr(g | f)$ representa a verossimilhança de g em relação a f . Assumindo-se a hipótese de que o componente de ruído da imagem é estatisticamente regido por uma distribuição Poisson, temos

$$\Pr(g | f) = \prod_i \frac{(h \otimes f)_i^{g_i} \exp(-(h \otimes f)_i)}{g_i!}, \quad (9)$$

em que o índice i representa uma coordenada no domínio espacial da imagem; isto é, $i = (x, y)$ para algum x e algum y .

Assumindo que a PSF é normalizada para ter soma 1 e utilizando o processo iterativo de Picard [10], a iteração computada pelo algoritmo Richardson-Lucy fica expressa pela equação

$$f^{(n+1)} = f^{(n)} \left(\frac{g}{h \otimes f^{(n)}} \otimes h^* \right), \quad (10)$$

sendo $f^{(n)}$ a estimação para f computada na n -ésima iteração, e h^* tal que $h^*(x, y) = h(-x, -y)$ [28].

O algoritmo *deconvblind* se utiliza de fundamentação análoga para estimar iterativamente a PSF h juntamente à imagem latente f . Em particular, a implementação presente no MATLAB também permite a especificação de uma matriz de ponderações W que tem por objetivo restringir o efeito da restauração em determinadas regiões da imagem - o que pode ser muito útil para se reduzir o surgimento de artefatos próximos a bordas, por exemplo. E assim como acontece no algoritmo de Richardson-Lucy original, definir o número adequado de iterações é de crítica importância, pois um número excessivo de iterações pode levar ao surgimento de artefatos na imagem resultante, enquanto um número pequeno pode não ser suficiente para produzir estimativas satisfatórias.

Mais detalhes sobre essa técnica podem ser encontrados na documentação oficial do MATLAB, em: <http://www.mathworks.com/help/images/ref/deconvblind.html>.

2.4 Método de Shan *et al.*

Um dos principais problemas em restauração de imagens é o controle do surgimento de artefatos nas imagens restauradas produzidas como saída pelos algoritmos de deconvolução [26, 1, 28] - em especial o chamado artefato de *ringing*, que consiste na presença de um padrão de “ondas” ao redor de bordas e outras regiões de alto contraste na imagem. No trabalho de Shan *et al.* [24], os autores examinam esse fenômeno e concluem que o *ringing* é causado puramente por erros na modelagem do ruído e na estimação da PSF, e não pelo

fenômeno de Gibbs [9], por exemplo. Mais do que isso, o referido trabalho menciona que as abordagens tradicionalmente utilizadas para a modelagem estatística do ruído, como, por exemplo, assumir uma distribuição Normal de média zero, são ineficazes em refletir sua propriedade de aleatoriedade espacial. Em outras palavras, o erro $\eta = g - h \otimes f$ produz um resultado não-aleatório e influenciado pelo conteúdo da imagem. Essa discrepância entre o modelo teórico e o que ocorre na prática seria a causa do aparecimento do artefato de *ringing*.

Dada a referida constatação, os autores propuseram uma técnica de deconvolução cega baseada na obtenção da máxima a posteriori (MAP)

$$\max_{f,h} \Pr(f, h | g) \propto \Pr(g | f, h) \Pr(f) \Pr(h), \quad (11)$$

em que $\Pr(g | f, h)$ representa a verossimilhança de g em relação a f e h , e $\Pr(f)$ e $\Pr(h)$ denotam as probabilidades a priori da imagem latente e da PSF, respectivamente.

Uma vez que os pixels η_i do componente de ruído são tidos como espacialmente independentes e identicamente distribuídos, o termo de verossimilhança é definido como

$$\begin{aligned} \Pr(g | f, h) &= \prod_{\partial^* \in \Theta} \prod_i N(\partial^* \eta_i | 0, \sigma_{\kappa(\partial^*)}) \\ &= \prod_{\partial^* \in \Theta} \prod_i N(\partial^* g_i | \partial^* g_i^c, \sigma_{\kappa(\partial^*)}), \end{aligned} \quad (12)$$

onde g_i^c é o pixel com coordenada $i = (x, y)$ em $g = h \otimes f$, ∂^* denota o operador de derivada parcial de determinada ordem, $\kappa(\partial^*)$ é uma função que expressa a ordem de ∂^* , N é a distribuição Normal e $\sigma_{\kappa(\partial^*)}$ representa um valor de desvio padrão que varia de acordo com a ordem de ∂^* . O conjunto Θ contém todos os operadores de derivadas parciais utilizados e é definido em [24] como $\Theta = \{\partial^0, \partial_x, \partial_y, \partial_{xx}, \partial_{xy}, \partial_{yy}\}$, sendo $\partial^0 n_i = n_i$.

Para a priori da PSF, parte-se do princípio de que os coeficientes de uma PSF tendem a ser esparsos (com a maior parte dos valores próximos a zero) e, assim, assume-se que seus valores são exponencialmente distribuídos. Portanto:

$$\Pr(h) = \prod_i e^{-\tau h_i}, \quad h_j \geq 0, \quad (13)$$

sendo τ um parâmetro de ponderação.

A priori da imagem latente é constituída por dois componentes: uma priori global $\Pr_g(f)$ e uma priori local $\Pr_l(f)$, que juntas devem agir como um mecanismo regularizador e ao mesmo tempo também contribuir para a supressão do *ringing* na imagem restaurada. Com base nos trabalhos de Weiss *et al.* e Roth *et al.* [31, 21], nos quais é mostrado que

os gradientes de imagens naturais seguem uma distribuição com cauda pesada que pode ser aprendida a partir de um conjunto de amostras, a priori global é modelada como

$$\Pr_g(f) \propto \prod_i e^{\phi(\partial f_i)}, \quad (14)$$

sendo ϕ uma função de aproximação para a referida distribuição dos gradientes de imagens naturais. Essa função ϕ é definida pelos autores como

$$\phi(x) = \begin{cases} -k|x|, & x \leq l_i \\ -(ax^2 + b), & x > l_i \end{cases}. \quad (15)$$

Por sua vez, a modelagem da priori local é motivada pela ideia de se preservar as regiões com pouca variação local de intensidade - uma estratégia para evitar o *ringing*. Sendo Ω o conjunto de todos os pixels que constituem centros de regiões como essas, e tomando como restrição o fato de que o gradiente da imagem borrada deve ser tão próximo quanto possível do gradiente da imagem restaurada nessas regiões, temos

$$\Pr_l(f) = \prod_{i \in \Omega} N(\partial_x f_i - \partial_x g_i | 0, \sigma_1) N(\partial_y f_i - \partial_y g_i | 0, \sigma_1), \quad (16)$$

a qual é uma representação do erro estimado nessa aproximação. Por fim, a priori da imagem latente $\Pr(f)$ é dada pelo produto das prioris global e local:

$$\Pr(f) = \Pr_g(f) \Pr_l(f). \quad (17)$$

Para chegar a uma solução prática, os autores da técnica convertem o modelo probabilístico da Equação 11 para o problema de minimização do seguinte funcional de energia:

$$\begin{aligned} E(f, h) &= -\log(\Pr(f, h | g)) \\ &= -(\log(\Pr(g | f, h)) + \log(\Pr(f)) + \log(\Pr(h))) \end{aligned} \quad (18)$$

cuja solução é encontrada através de um algoritmo de otimização que itera, alternativamente, entre a estimação da PSF h e a aproximação da imagem latente f . Todos os detalhes por trás desse processo de otimização podem ser encontrados no referido trabalho [24].

A maior desvantagem dessa técnica está no seu alto tempo de processamento em comparação aos algoritmos mais tradicionais de deconvolução (especialmente os não-cegos).

3 Metodologia

As subseções a seguir descrevem os passos tomados para a aquisição das imagens, pré-processamento, condução dos experimentos e avaliação dos resultados.

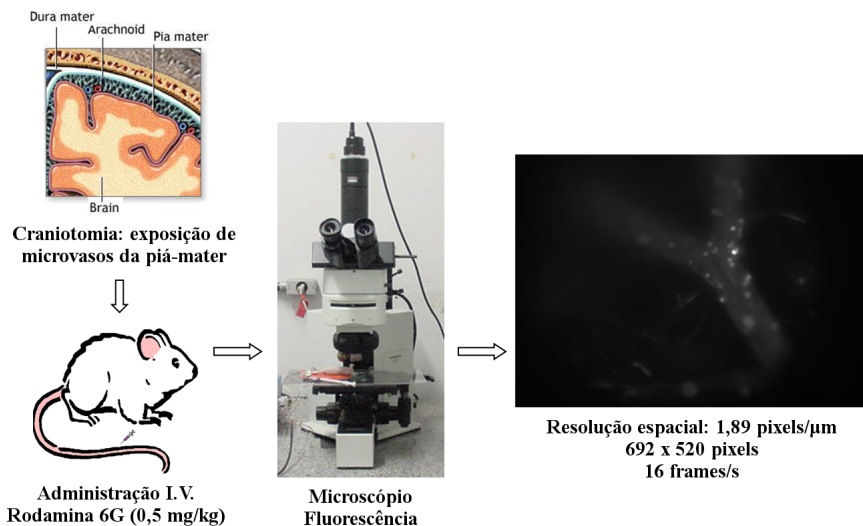


Figura 1. Resumo dos procedimentos laboratoriais para aquisição das imagens.

3.1 Banco de imagens

As imagens de vídeo usadas neste trabalho exibem o recrutamento de leucócitos marcados com rodamina 6G nas vênulas pós-capilares da microcirculação cerebral de um camundongo. Para a aquisição, foi utilizado um microscópio Zeiss Imager M.2 (Thornwood, NY, com filtro de emissão/590 nm e excitação/510-560 nm), objetiva 20XLD. As imagens possuem 8 bits de profundidade, taxa de amostragem de 16 quadros por segundo e resolução espacial de 1,89 pixels/ μm . A matriz imagem possui 692x520 pixels. O vídeo obtido possui, no total, 329 quadros. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Núcleo de Neurociências (NNC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob coordenação da Profa. Dra. Juliana Carvalho Tavares. Esses procedimentos são resumidamente ilustrados na Figura 1.

3.2 Pré-processamento

As imagens de microscopia foram submetidas a uma etapa de pré-processamento previamente à aplicação das técnicas de detecção dos leucócitos. Primeiramente, o filtro bilateral proposto em [29] foi usado para redução de ruído e melhoria de contraste nas imagens. A seguir, a perda de alinhamento espacial da sequência de quadros de vídeo foi minimizada utilizando uma técnica de correção de imagens [27]. É importante observar que o método

de co-registro aplicado às imagens não é capaz de corrigir degradações severas geradas por movimentos intensos e complexos (combinação de movimentos verticais e horizontais) do animal em observação.

3.3 Descrição dos experimentos

Os experimentos de restauração das imagens de microscopia realizados neste trabalho foram analisados de maneira quantitativa usando as técnicas de detecção de leucócitos descritas na Seção 2.1 para três situações, usando: (i) imagens de boa qualidade, (ii) imagens degradadas por artefatos de movimento e (iii) imagens restauradas pelas técnicas de deconvolução cega descritas na Seção 2.2. A precisão da detecção automática foi avaliada por comparação com a detecção dos leucócitos realizada visualmente nas mesmas imagens por um especialista.

Os experimentos foram realizados seguindo os seguintes passos: (a) primeiro, 15 quadros de vídeo de boa qualidade visual (pouca ou nenhuma degradação de movimento) foram previamente selecionados. Seja esse conjunto de imagens denominado Ω . (b) Os centroides dos leucócitos nas imagens em Ω foram manualmente marcados, originando um novo conjunto, Ω_0 , que constitui o padrão ouro do experimento. (c) Cada imagem de Ω foi degradada artificialmente a partir da convolução com uma PSF de borramento linear uniforme de comprimento 11 (simulando um movimento fraco), produzindo o conjunto de imagens degradadas Ω'_1 . Analogamente, produziu-se o conjunto de imagens degradadas Ω'_2 usando uma PSF de comprimento 21 (movimento forte). (d) Os dois algoritmos de detecção automática de leucócitos apresentados na Seção 2.1, aqui referidos pelas siglas CP (casamento de padrões) e SFL (simetria de fase local), foram aplicados às imagens de Ω'_1 e Ω'_2 , resultando nos conjuntos $CP(\Omega'_i)$ e $SFL(\Omega'_i)$, para $i = 1, 2$. (e) Os quadros de Ω'_1 e Ω'_2 foram então restaurados usando, separadamente, as duas técnicas de deconvolução cega descritas na Seção 2.2, aqui referidas pelas siglas DB (*deconvblind*) e SH (Shan *et al.*). Esse passo resultou nos conjuntos $DB(\Omega'_i)$ e $SH(\Omega'_i)$, para $i = 1, 2$. (f) Os dois algoritmos de detecção de leucócitos foram aplicados novamente, desta vez às imagens restauradas, produzindo os conjuntos de imagens $CP(DB(\Omega'_i))$, $CP(SH(\Omega'_i))$, $SFL(DB(\Omega'_i))$ e $SFL(SH(\Omega'_i))$, para $i = 1, 2$. (g) Por fim, foram avaliadas as correspondências entre os centroides manualmente marcados no padrão ouro Ω_0 e aqueles marcados automaticamente nas imagens resultantes dos passos (d) e (f), contando a quantidade de verdadeiros positivos (VP), falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN) em cada conjunto. Com a análise comparativa dos diferentes resultados obtidos, foi possível estimar o quão mais eficazes as técnicas de detecção se tornam quando são aplicadas em imagens restauradas (em comparação ao que se consegue com imagens degradadas). O diagrama da Figura 2 ilustra toda essa sequência de passos.

Os algoritmos de deconvolução cega e de detecção foram utilizados com os argumentos de entrada mostrados nas Tabelas 1 e 2. A escolha de 10 iterações para o algoritmo

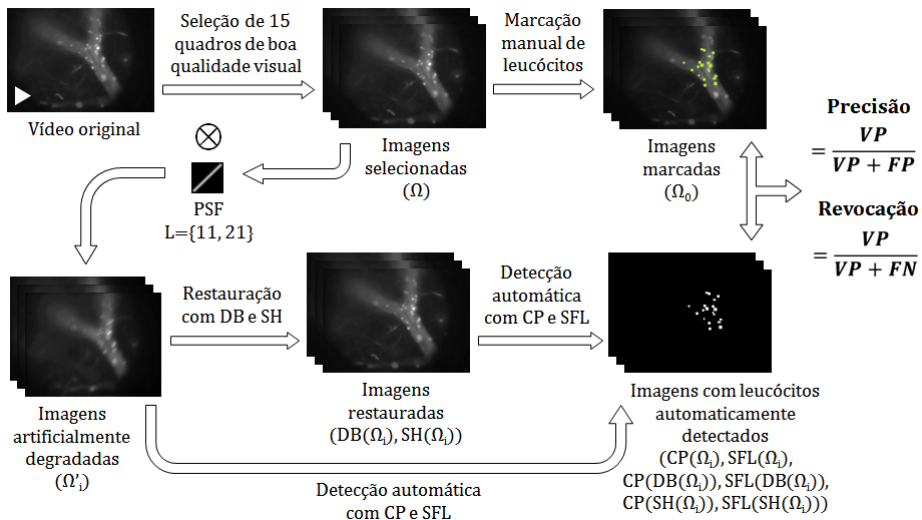


Figura 2. Sequência de passos realizados nos experimentos para validação das técnicas de deconvolução e de detecção de leucócitos.

deconvblind deve-se ao fato de que tal valor trouxe os melhores resultados visuais em termos de equilíbrio entre restauração e ausência de artefatos nas imagens de MI. No método de Shan *et al.*, para o qual utilizou-se uma implementação fornecida pelos seus próprios autores (disponível em <http://www.cse.cuhk.edu.hk/leojia/programs/deblurring/deblurring.htm>), foram usados os valores que o programa estabelece por padrão, devido à ausência de uma discussão sobre como ajustá-los em relação à imagem de entrada. O mesmo vale para a técnica de simetria de fase local. Para a técnica de casamento de padrões, assumiu-se um valor de limiarização de 0,8 (em termos de coeficiente de correlação) para que fossem selecionados apenas os pontos da imagem nos quais as chances de correta identificação de um leucócito fossem consideravelmente altas.

3.4 Método de avaliação

A avaliação dos resultados foi feita por meio da análise de precisão *versus* revocação do sistema de detecção. Essa análise envolve plotar, num espaço bidimensional, as seguintes grandezas:

$$precisão = VP / (VP + FP) \quad (19)$$

$$revocação = VP / (VP + FN) \quad (20)$$

Tabela 1. Argumentos de entrada usados nos algoritmos de deconvolução cega.

Deconvblind		Shan <i>et al.</i>	
Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
<i>iterações</i>	10	<i>noiseStrength</i>	0,01
		<i>deblurStrength</i>	0,02
		<i>gamma</i>	1
		<i>weights</i>	1

Tabela 2. Argumentos de entrada usados nos algoritmos de detecção de leucócitos.

Casamento de padrões		Simetria de fase local	
Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
<i>threshold</i>	0,8	<i>noiseSigma</i>	2
<i>leukocyteSNR</i>	10		

em que VP (número de verdadeiros positivos) representa o número de leucócitos corretamente detectados pela técnica, FP (número de falsos positivos) representa o número de leucócitos detectados pela técnica mas que não correspondem a leucócitos reais, e FN (número de falsos negativos) representa o número de leucócitos reais que a técnica não conseguiu detectar. Em outras palavras, a precisão do sistema expressa a taxa de acertos efetivos dentre aquilo que foi detectado, enquanto a revocação é a taxa do que foi corretamente detectado dentre as reais instâncias positivas. Quanto mais próximas ambas as grandezas estiverem do valor máximo 1, melhor é a eficácia do sistema de detecção [4].

Cada técnica de detecção teve seu desempenho medido em cada um dos conjuntos de imagens mencionados na Seção 3.3, isto é, em imagens degradadas artificialmente por movimento fraco e forte e nas imagens restauradas por cada técnica de deconvolução em cada um desses casos. O procedimento foi realizado em todos os 15 quadros de vídeo de cada conjunto de imagens e, ao final, foram calculados os valores médios de precisão e revocação para cada conjunto. As comparações com o padrão ouro foram realizadas pela verificação da correspondência entre as posições dos centroides nas imagens, tolerando-se uma diferença de até 9 pixels nas direções horizontal e vertical. A razão para o limite superior de 9 pixels é que essa é a medida em pixels do diâmetro do maior leucócito encontrado no vídeo testado. Uma vez que as imagens de vídeo já passaram por um processo de correção, não é necessário tolerar diferenças maiores do que essa.

4 Resultados e discussão

As Tabelas 3 e 4 apresentam os valores médios de precisão e revocação obtidos para as técnicas de detecção por casamento de padrões e por simetria de fase local, respectivamente, em cada um dos conjuntos de imagens previamente mencionados. As tabelas também apresentam a distância D de cada ponto (*precisão*, *revocação*) em relação ao ponto (1,1) que indica a máxima eficácia do sistema de detecção. Nesse caso, quanto menor a distância D medida, melhor é a eficácia do sistema. As Figuras 3 e 4 exibem os gráficos de precisão *versus* revocação das referidas técnicas. O valor de D é dado pela distância euclidiana

$$D = \sqrt{(1 - \textit{precisão})^2 + (1 - \textit{revocação})^2}. \quad (21)$$

Tabela 3. Medidas de precisão e revocação para a técnica de casamento de padrões, bem como a distância de cada ponto (*precisão*, *revocação*) ao ponto de máxima eficácia (1,1).

Conjunto de imagens	Precisão	Revocação	D
Ω (sem movimento)	0,853	0,685	0,348
Ω'_1 (movimento fraco)	0,832	0,476	0,551
Ω'_2 (movimento forte)	0,461	0,056	1,087
Deconvblind (Ω'_1)	0,935	0,524	0,481
Deconvblind (Ω'_2)	0,823	0,130	0,887
Shan <i>et al.</i> (Ω'_1)	0,835	0,631	0,404
Shan <i>et al.</i> (Ω'_2)	0,885	0,493	0,520

Tabela 4. Medidas de precisão e revocação para a técnica de simetria de fase local, bem como a distância de cada ponto (*precisão*, *revocação*) ao ponto de máxima eficácia (1,1).

Conjunto de imagens	Precisão	Revocação	D
Ω (sem movimento)	0,828	0,780	0,279
Ω'_1 (movimento fraco)	0,782	0,768	0,318
Ω'_2 (movimento forte)	0,698	0,637	0,472
Deconvblind (Ω'_1)	0,823	0,755	0,302
Deconvblind (Ω'_2)	0,905	0,676	0,338
Shan <i>et al.</i> (Ω'_1)	0,775	0,822	0,287
Shan <i>et al.</i> (Ω'_2)	0,817	0,743	0,315

Observando os valores de D mostrados nas Tabelas 3 e 4 e no gráfico comparativo da Figura 5, é possível verificar o quanto o borramento de movimento prejudica o desempenho de ambas as técnicas de detecção, dado que deforma os leucócitos e consequentemente reduz

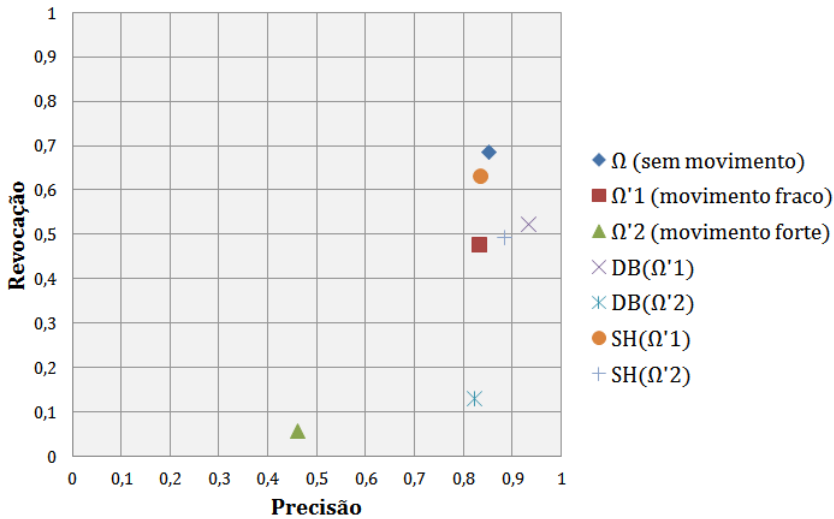


Figura 3. Gráfico de precisão *versus* revocação para a técnica de casamento de padrões em cada conjunto de imagens.

o número de verdadeiros positivos. Entretanto, verifica-se também que a restauração dos quadros de vídeo consegue amenizar o problema em todos os casos. Esses resultados são muito mais expressivos na técnica de casamento de padrões, mas também podem ser observados na técnica de simetria de fase local.

Analisando a redução que cada técnica de restauração proporciona ao valor de D , em relação aos valores nas imagens degradadas por movimento fraco e forte, pode-se constatar que o método de Shan *et al.* apresenta, em geral, melhores resultados quando comparados com o algoritmo *deconvblind*, considerando que a redução em D é maior em todos os casos para tal técnica. Em outras palavras, o método de Shan *et al.* consegue estimar melhor a PSF que degrada a imagem e controlar o surgimento de artefatos, consequentemente realizando uma melhor restauração, devolvendo o formato original dos leucócitos de maneira mais precisa e, assim, possibilitando que a técnica de detecção seja mais eficaz.

Comparando-se os desempenhos médios das duas técnicas de detecção, é possível observar que o método baseado em simetria de fase local é mais robusto e portanto apresenta, em geral, melhores resultados do que a técnica de casamento de padrões. Esta última tem seu desempenho mais negativamente afetado em todas as situações, especialmente quando há movimento forte, devido à sua maior sensibilidade a erros e também ao fato de que as imagens de vídeo de MI utilizadas possuem, em geral, pouco contraste. Também convém notar que

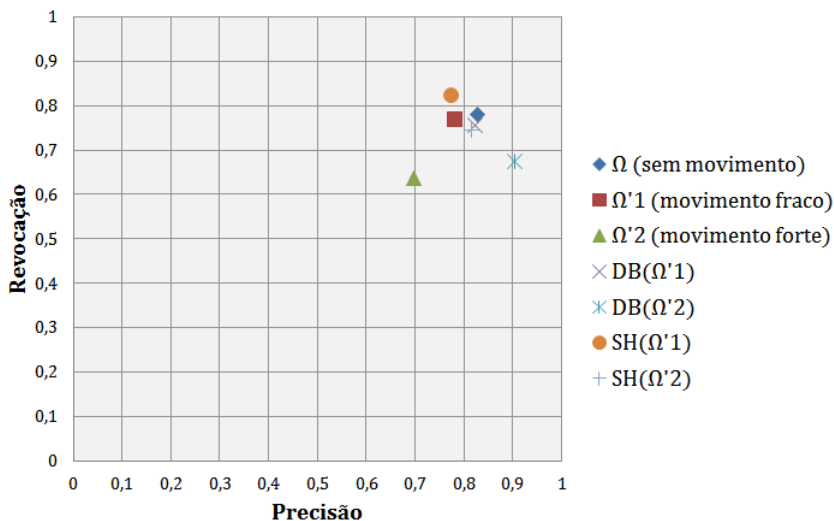


Figura 4. Gráfico de precisão *versus* revocação para a técnica de simetria de fase local em cada conjunto de imagens.

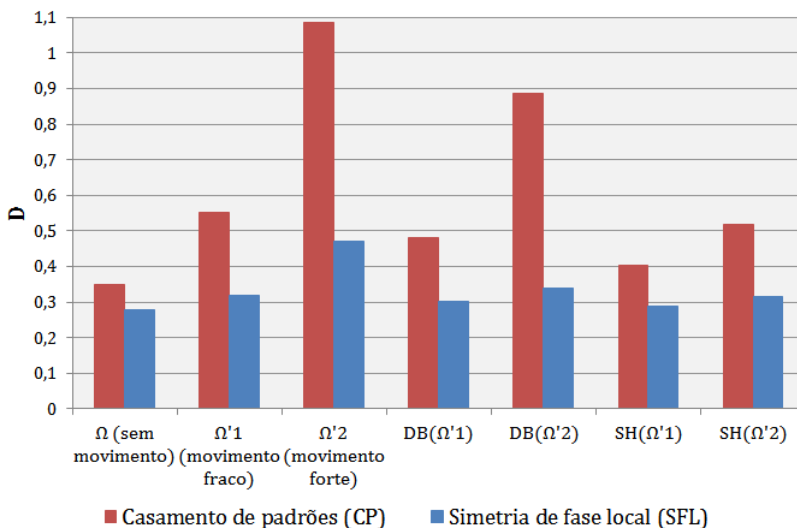


Figura 5. Distâncias D dos pontos (*precisão, revocação*) ao ponto de máxima eficácia (1,1) para cada técnica de detecção e em cada conjunto de imagens.

nenhum método de restauração foi efetivo o suficiente para que alguma técnica de detecção pudesse igualar, nas imagens restauradas, o mesmo desempenho médio que havia tido nas imagens sem degradação. Tal fato acontece apenas em alguns poucos quadros isolados, e mais devido à eliminação de falsos positivos presentes no caso sem degradação do que pela inclusão de acertos efetivos.

Observa-se ainda que, pelo fato de a detecção por simetria de fase local ser mais robusta, não existe uma grande diferença entre os desempenhos obtidos com as imagens restauradas pelo algoritmo *deconvblind* e aquelas restauradas pelo método de Shan *et al.* quando se faz a detecção dos leucócitos usando essa técnica. Isso significa que o uso de métodos de detecção automática mais robustos (preferencialmente não sensíveis a variações nos níveis de iluminação e contraste da imagem) reduzem a necessidade de uma técnica de restauração muito sofisticada e custosa computacionalmente, como é o caso do método de Shan *et al.*.

Como os movimentos respiratórios e cardíacos do animal em observação são inevitáveis no contexto da MI, e como nem sempre é viável descartar os quadros de vídeo degradados, podemos então concluir que o uso de técnicas de deconvolução cega (mesmo sendo estas técnicas clássicas e bastante conhecidas) para restauração dos quadros degradados tem efetiva utilidade como forma de pré-processamento dos vídeos de MI antes da aplicação de uma técnica de detecção automática de leucócitos, especialmente quando se utiliza uma técnica de detecção mais sensível a erros, como é o caso do casamento de padrões.

A Figura 6 exhibe alguns resultados produzidos pelas duas técnicas de deconvolução cega, obtidos a partir da restauração de um mesmo quadro de vídeo degradado.

5 Conclusões

Este trabalho apresentou um estudo do efeito da restauração de imagens de vídeo de MI degradadas por artefatos de movimento, com aplicação na detecção automática de leucócitos. Para isso, foram utilizados dois métodos de deconvolução cega para corrigir o borramento e artefatos de movimento nas imagens de vídeo. Os métodos foram avaliados quantitativamente tomando-se como base o desempenho de duas técnicas de detecção automática de leucócitos que foram aplicadas às imagens originais e a imagens degradadas artificialmente e restauradas. De acordo com os resultados obtidos, a restauração dos quadros de vídeo tem, de fato, um grande potencial para melhorar a eficácia da detecção, independentemente da técnica automática de detecção de leucócitos utilizada. Também foi possível concluir que a restauração das imagens nem sempre possibilita obter o mesmo desempenho registrado para as imagens sem degradação alguma. O método de restauração deve ser escolhido e utilizado cautelosamente para que este não introduza artefatos nas imagens e, dessa forma, acabe prejudicando ainda mais a detecção dos leucócitos. Nesse sentido, o método de restauração

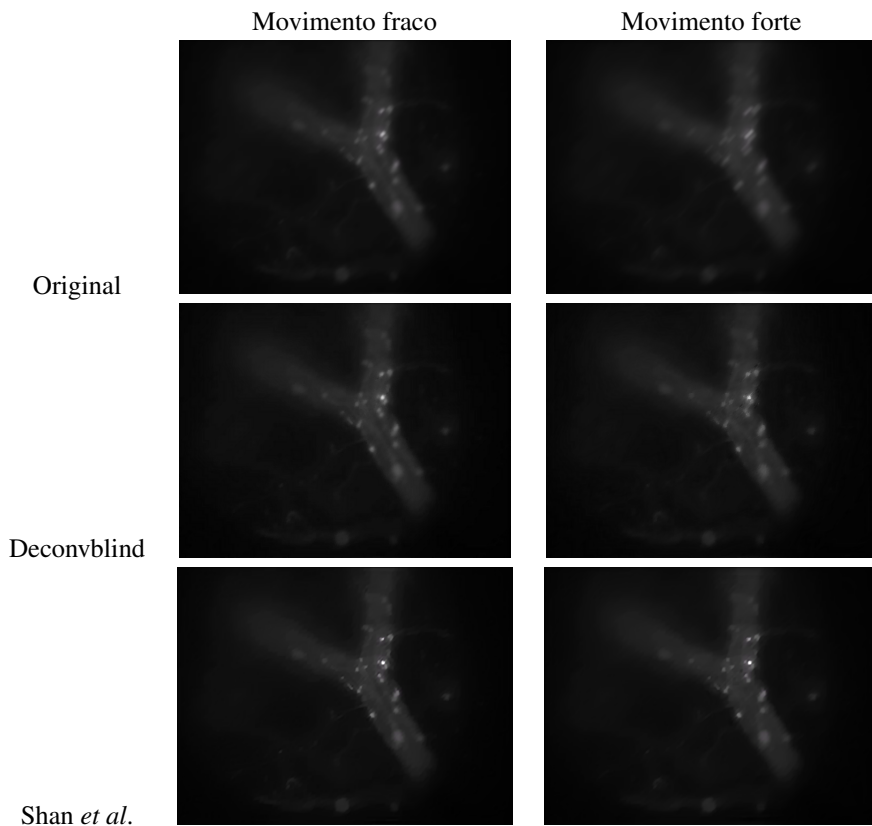


Figura 6. Resultados produzidos pelas duas técnicas de deconvolução cega a partir de um mesmo quadro de vídeo degradado por movimento fraco e forte.

de Shan *et al.*, com sua maior capacidade de supressão de artefatos, produziu os melhores resultados nos experimentos realizados.

Assim, no contexto da MI, o uso de métodos de deconvolução cega para restauração dos quadros de vídeo mostra-se útil como etapa de pré-processamento antes do processamento das imagens de MI para a detecção automática de leucócitos, visto que os movimentos respiratórios e cardíacos do animal em observação são inevitáveis e que nem sempre é viável descartar os quadros de vídeo degradados. Isso é válido especialmente quando o método de detecção automática de leucócitos a ser utilizado é mais sensível a erros. No entanto, tal pré-processamento depende primeiramente de uma seleção automática dos quadros que precisam ser restaurados. Um método para a seleção automática dos quadros degradados por artefatos de movimento foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa [5] e será usado como uma etapa da *pipeline* de pré-processamento das imagens.

6 Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - processos números 2012/17772-3 e 2013/26171-6 - e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - processo número 481923/2010-1 - pelo apoio financeiro conferido durante o desenvolvimento deste trabalho e de outros que o precederam.

Referências

- [1] M. Bertero and P. Boccacci, *Introduction to Inverse Problems in Imaging*. Institute of Physics Publishing, 1998.
- [2] D. Boukerroui, J. A. Noble, and M. Brady, “On the choice of band-pass quadrature filters,” *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, vol. 21, pp. 53–80, 2004.
- [3] A. S. Chowdhury, R. Chatterjee, M. Ghosh, and N. Ray, “Cell tracking in video microscopy using bipartite graph matching,” in *International Conference on Pattern Recognition (ICPR)*, 2010.
- [4] T. Fawcett, “An introduction to ROC analysis,” *Pattern Recognition Letters*, vol. 27, no. 8, pp. 861–874, 2006.
- [5] R. J. Ferrari, C. H. V. Pinto, B. C. G. da Silva, D. Bernardes, and J. C. Tavares, “Automatic detection of motion blur in intravital video microscopy image sequences via directional statistics of log-gabor energy maps,” *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol. 53, pp. 151–163, 2015.

- [6] D. J. Field, “Relations between the statistics of natural images and the response properties of cortical cells,” *Journal of the Optical Society of America A*, vol. 4, pp. 2379–2394, 1987.
- [7] F. N. E. Gavins and B. E. Chatterjee, “Intravital microscopy for the study of mouse microcirculation in anti-inflammatory drug research: Focus on the mesentery and cremaster preparations,” *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, vol. 49, pp. 1–14, 2004.
- [8] R. C. Gonzalez and R. E. Woods, *Digital Image Processing*. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice-Hall, Inc., 2006.
- [9] D. Gottlieb and C.-W. Shu, “On the gibbs phenomenon and its resolution,” *SIAM Rev*, vol. 39, no. 4, pp. 644–668, 1997.
- [10] E. Isaacson and H. B. Keller, *Analysis of Numerical Methods*. John Wiley and Sons Ltd., 1966.
- [11] W. W. Kilarski, E. Güç, J. C. M. Teo, S. R. Oliver, A. W. Lund, and M. A. Swartz, “Intravital immunofluorescence for visualizing the microcirculatory and immune microenvironments in the mouse ear dermis,” *PLoS ONE*, vol. 8, no. 2, p. e57135, 2013.
- [12] M. Kuse, Y.-F. Wang, V. Kalasannavar, M. Khan, and N. Rajpoot, “Local isotropic phase symmetry measure for detection of beta cells and lymphocytes,” *Journal of Pathology Informatics*, vol. 2, p. S2, 2012.
- [13] K. S. Lorenz, P. Salama, K. W. Dunn, and E. J. Delp, “Digital correction of motion artefacts in microscopy image sequences collected from living animals using rigid and nonrigid registration,” *Journal of Microscopy*, vol. 245, no. 2, pp. 148–160, 2012.
- [14] L. B. Lucy, “An iterative technique for rectification of observed distributions,” *Astronomical Journal*, vol. 79, pp. 745–754, 1974.
- [15] R. Niesner, V. Andresen, J. Neumann, H. Spiecker, and M. Gunzer, “The power of single and multibeam two-photon microscopy for high-resolution and high-speed deep tissue and intravital imaging,” *Biophysical Journal*, vol. 93, no. 7, pp. 2519–2529, 2007.
- [16] K. Norman, “Techniques: Intravital microscopy - a method for investigating disseminated intravascular coagulation?” *TRENDS in Pharmacological Sciences*, vol. 26, no. 6, pp. 327–332, 2005.
- [17] N. Ray, “A concave cost formulation for parametric curve fitting: Detection of leukocytes from intravital microscopy images,” in *The International Conference on Image Processing (ICIP)*, 2010, pp. 53–56.

- [18] N. Ray and S. T. Acton, "Motion gradient vector flow: An external force for tracking rolling leukocytes with shape and size constrained active contours," *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 23, no. 12, pp. 1466–1478, 2004.
- [19] N. Ray, S. T. Acton, and K. Ley, "Tracking leukocytes *in vivo* with shape and size constrained active contours," *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 21, no. 10, pp. 1222–1235, 2002.
- [20] W. H. Richardson, "Bayesian-based iterative method of image restoration," *Journal of the Optical Society of America*, vol. 62, pp. 55–59, 1972.
- [21] S. Roth and M. J. Black, "Fields of experts: A framework for learning image priors," in *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, 2005.
- [22] A. A. C. dos Santos, E. Roffe, R. M. E. Arantes, L. Juliano, J. L. Pesquero, J. B. Pesquero, M. Bader, M. M. Teixeira, and J. Carvalho-Tavares, "Kinin B2 receptor regulates chemokines CCL2 and CCL5 expression and modulates leukocyte recruitment and pathology in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice," *Journal of Neuroinflammation*, vol. 5, pp. 49–58, 2008.
- [23] A. C. dos Santos, M. M. Barsante, R. M. E. Arantes, C. Bernard, M. M. Teixeira, and J. Carvalho-Tavares, "CCL2 and CCL5 mediate leukocyte adhesion in experimental autoimmune encephalomyelitis an intravital microscopy study," *Journal of Neuroimmunology*, vol. 162, no. 1-2, pp. 122–129, 2005.
- [24] Q. Shan, J. Jia, and A. Agarwala, "High-quality motion deblurring from a single image," *ACM Transactions on Graphics*, vol. 27, no. 3, p. 10, August 2008.
- [25] K. Shimizu, K. Tochio, and Y. Kato, "Improvement of transcutaneous fluorescent images with a depth-dependent point-spread function," *Applied Optics*, vol. 44, no. 11, pp. 2154–2161, 2005.
- [26] J. B. Sibarita, "Deconvolution microscopy," *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, vol. 95, pp. 201–243, 2005.
- [27] B. C. G. da Silva, P. G. L. Freire, D. Bernardes, J. C. Tavares, R. F. Mello, and R. J. Ferrari, "Estabilização de imagens de vídeo de microscopia intravital aplicado à detecção e rastreamento automático de leucócitos," in *XII Workshop de Informática Médica*, Curitiba, PR, 2012. [Online]. Available: <http://www.lbd.dcc.ufmg.br/dbdcomp/servlet/Trabalho?id=11760>
- [28] J. L. Starck and E. Pantin, "Deconvolution in astronomy: A review," *Publications of the Astronomical Society of the Pacific*, vol. 114, pp. 1051–1069, 2002.

- [29] C. Tomasi and R. Manduchi, “Bilateral filtering for gray and color images,” in *IEEE International Conference on Computer Vision*, Bombay, India, 1998, pp. 839–846.
- [30] C. Vinegoni, S. Lee, R. Gorbatov, and R. Weissleder, “Motion compensation using a suctioning stabilizer for intravital microscopy,” *IntraVital*, vol. 1, no. 2, pp. 115–121, 2012.
- [31] Y. Weiss and W. T. Freeman, “What makes a good model of natural images?” in *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2007.
- [32] C. Zimmer, B. Zhang, A. Dufour, A. Thébaud, S. Berlemont, V. Meas-Yedid, and J.-C. O. Marin, “On the digital trail of mobile cells,” *IEEE Signal Processing Magazine*, vol. 23, no. 3, pp. 54–62, 2006.