



Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Факультет вычислительной математики и кибернетики

Кафедра математических методов прогнозирования

Тлеубаев Адиль Талгатович

**Разработка, исследование и программная  
реализация нового математического метода  
автоматизации анализа изображений эпителия  
роговицы глаза человека**

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**Научный руководитель:**

к.ф-м.н., доцент

И.Б. Гуревич

Москва, 2016

# Оглавление

Введение .....	3
1. Постановка задачи .....	7
2. Метод идентификации эндотелиальных клеток .....	9
2.1 Обоснование и описание метода идентификации эндотелиальных клеток .....	9
2.2 Основные результаты и их обсуждения .....	13
3. Программная реализация разработанного метода идентификации эндотелиальных клеток.....	15
Заключение .....	18
Использованная литература .....	19
Приложение. Листинг программной реализации. ....	21

## Введение

Работа посвящена:

- 1) постановке и решению задач математического анализа изображений, связанных с разработкой метода, обеспечивающего автоматический анализ микроскопических изображений заднего эпителия роговицы глаза человека и исследование выделенных на них эндотелиальных клеток;
- 2) программной реализации разработанного метода;
- 3) исследованию разработанного метода и его программной реализации в вычислительных экспериментах.

Морфометрическое исследование заднего эпителия роговицы глаза имеет важное значение как в биологии для систематизации знаний о структурной организации на тканевом и органном уровне в нормальных условиях, так и в медицине для цитологической диагностики отечной дистрофии роговицы [7]. Маркерами данного заболевания могут быть размеры клеток эндотелия, фактор формы клеток, количественные отношения клеток разного вида к общему числу клеток, количественные отношения числа клеток к занимаемой ими площади и средние размеры клеток на исследуемых изображениях [11].

Задний эпителий роговицы (эндотелий - epithelium posterior) - монослой специализированных плоских шестиугольных клеток, тесно прилежащих друг к другу, выстилающих заднюю поверхность роговицы и входящих в соприкосновение с содержимым передней камеры глаза. Толщина эндотелия — 0,4-0,5 мкм. Монослой клеток заднего эпителия роговицы выполняет роль насоса двойного действия, обеспечивающего поступление питательных веществ в сторону роговицы и вывод продуктов обмена. Задний эпителий защищает роговицу от избыточного пропитывания внутриглазной жидкостью.

Одно из первых исследований клеток проводилось с помощью окуляр-микрометра: определялся большой и малый диаметр клетки и ядра и по формуле высчитывалась площадь. В 1980-е гг. появились полуавтоматические системы, требующие обводки либо вручную, либо световым лучом через оптический проектор фотографий клеточных структур. Набор встроенных программ позволял вычислять достаточно широкий круг параметров клетки. Несколько позже появились медицинские приборы для решения конкретных задач, например, для исследования эндотелиальных клеток роговицы – это зеркальный микроскоп, кератоанализатор и конфокальный микроскоп с минимальным

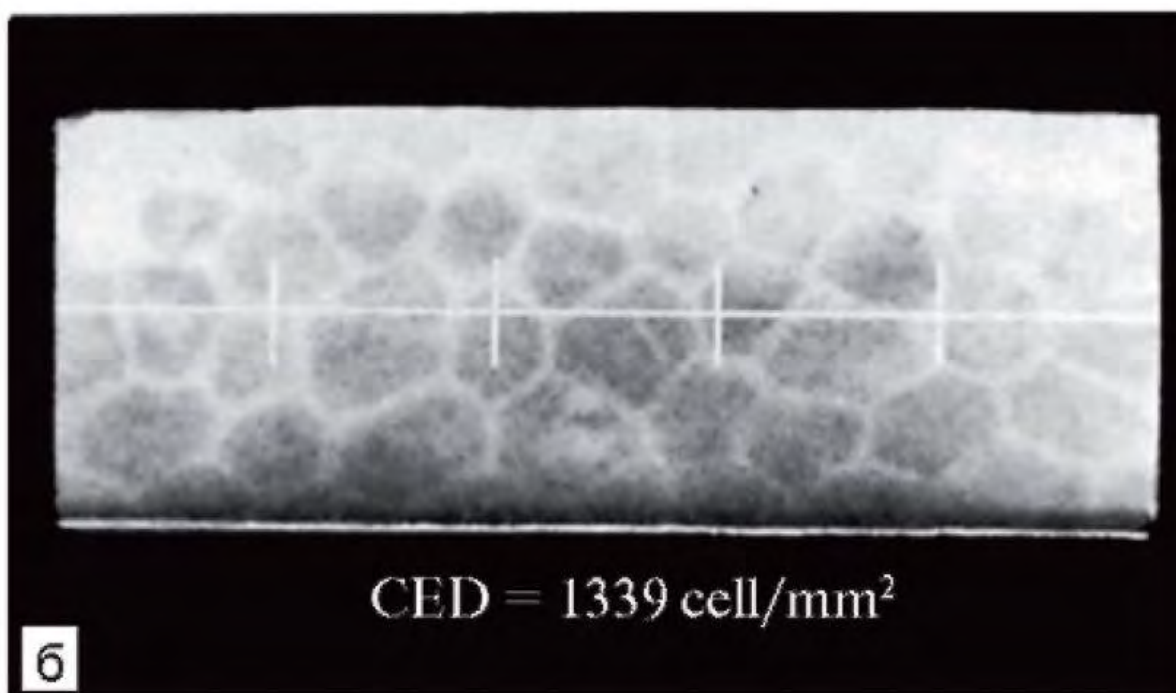
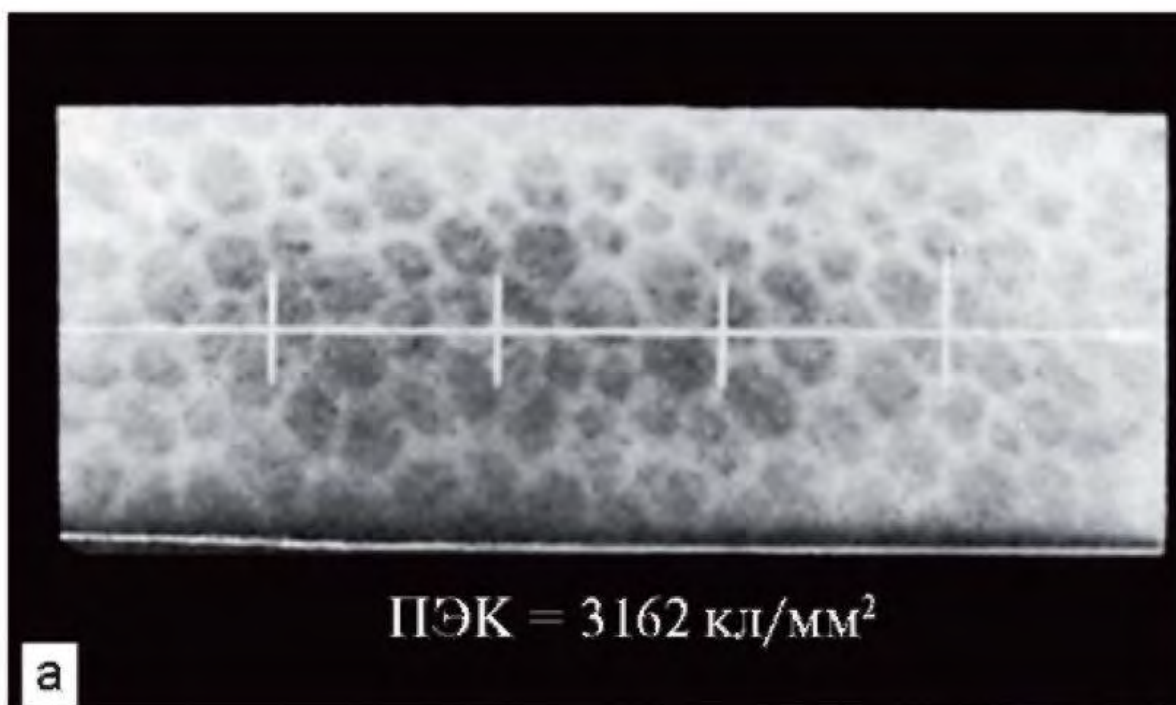
набором встроенных функций - вычисление плотности клеток на единицу площади, средней площади клетки и т.д. Методом зеркальной микроскопии проводится прижизненное исследование заднего эпителия роговицы: определяется форма и расположение эпителиальных клеток, а также число клеток на единицу площади.

Установлено, что эндотелий роговицы человека восстанавливается за счет расширения и миграции клеток. Количество эндотелиальных клеток в  $1 \text{ мм}^2$  с возрастом уменьшается: с 3700 (в возрасте 16 лет) до 2330 (в возрасте 80 лет) (Рис. 1), поскольку у человека в обычных условиях эти клетки не способны к полноценной регенерации. Замещение дефектов происходит путем смыкания соседних клеток, при этом они растягиваются, увеличиваются в размерах, нарастает их полиморфизм. Такой процесс замещения не может быть бесконечным. Существенное уменьшение количества клеток заднего эпителия роговицы происходит в результате воспалительного процесса, травмы глазного яблока, нарушения метаболизма.

Когда их количество уменьшается до 500-700 на  $1 \text{ мм}^2$ , развивается отечная дистрофия роговицы. В последние годы появились сообщения о том, что у человека в особых условиях (внутриглазные опухоли) можно обнаружить истинное деление единичных клеток заднего эпителия роговицы на периферии.

Анализ эндотелиальных клеток мог бы продвигаться гораздо быстрее и был бы экономически эффективнее при снижении временных и материальных затрат за счет автоматизации и оптимизации с помощью использования методов обработки и анализа изображений, которыми располагает современная математическая теория анализа изображений. Для автоматизации обработки и анализа результатов научных исследований в биологии и медицине в последнее время начали широко использоваться математические и информационные подходы [1]. Современное состояние математической теории анализа и распознавания изображений позволяет решить задачу создания специальных алгоритмическо-программных комплексов (АПК) и автоматизированных рабочих мест исследователя, обеспечивающих автоматическое извлечение и анализ информации из биомедицинских изображений и создающих объективную основу для оптимизации принятия диагностических решений врачами-практиками и врачами-исследователями в интерактивном и автоматическом режимах [12].

Эндотелиальная микроскопия роговицы незаменима при диагностике заболеваний роговицы, а также при оценке эндотелия до и после оперативных вмешательств на глазах [6].



**Рис. 1.** Эндотелиальные клетки (а - высокая плотность, б - низкая плотность)

В последующих разделах приведены описания разработанного нового математического (эвристического) метода обработки и анализа микроскопических изображений заднего эпителия роговицы глаза человека, его программной реализации, а также результаты эффективности работы разработанных метода и программных средств.

Работа состоит из Введения, 3-х параграфов, Заключения, Списка использованной литературы (16 названий) и Приложения.

Во «Введении» описывается медицинская задача, требующая больших затрат человеческих ресурсов, но которую можно упростить путем применения к данной задаче современного математического подхода, позволяющего автоматизировать ее решение.

В параграфе 1 «Постановка задача» рассматриваются математические аспекты задачи исследования и формулируются основные требования к разрабатываемому методу.

В параграфе 2 «Метод идентификации эндотелиальных клеток» описывается разработанный метод и приводятся результаты его экспериментального использования.

В параграфе 3 «Программная реализация разработанного метода идентификации эндотелиальных клеток» описываются основные программно-технические характеристики и интерфейс реализованного метода.

В Заключении приведены основные результаты, полученные в данной работе, и направления дальнейших исследований.

В Приложение приведен листингом программной реализации разработанного метода.

# 1. Постановка задачи

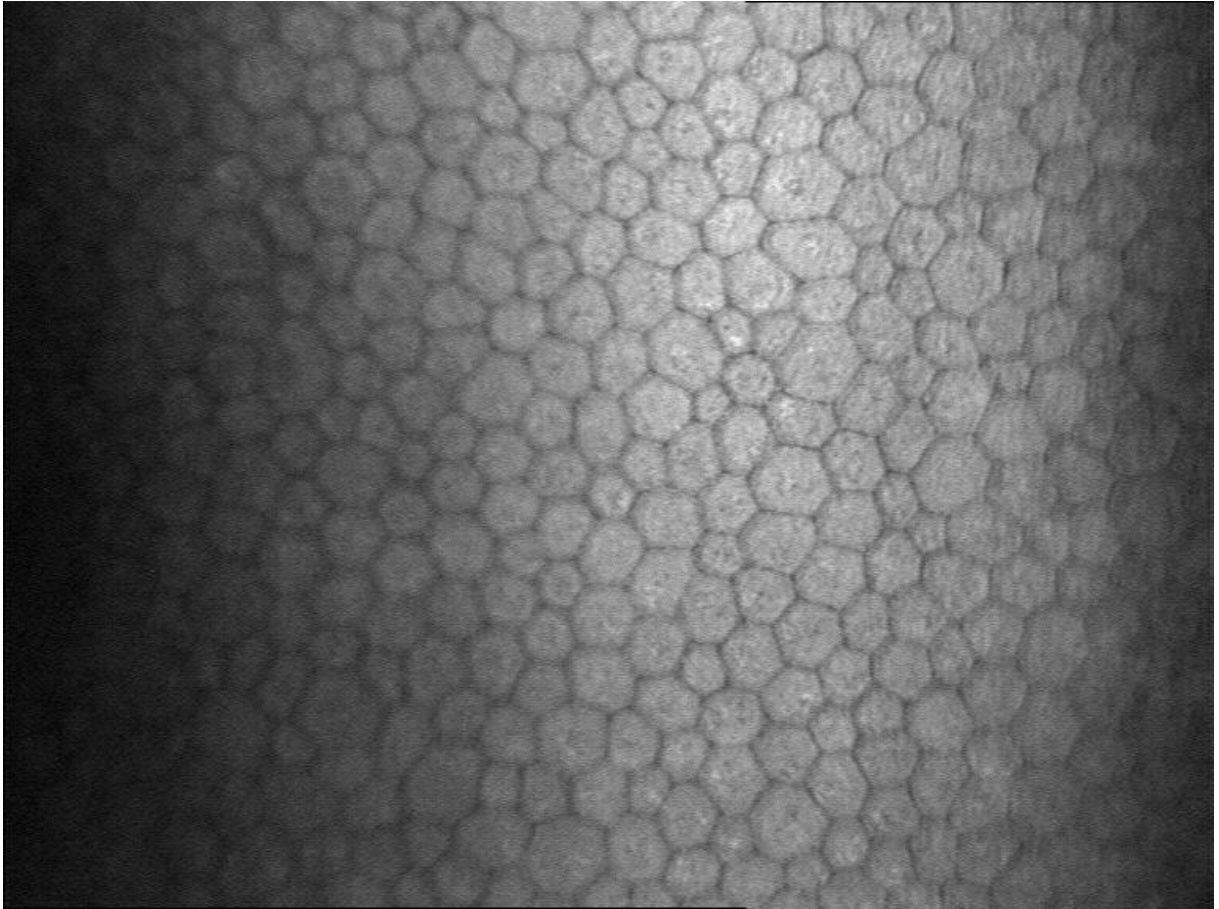
Основная задача данной работы заключается в автоматизации анализа микроскопических изображений эндотелиальных клеток посредством выделения контуров и подсчете морфофункциональных характеристик этих клеток [2,3].

В качестве исходных данных использованы изображения эндотелиальных клеток, полученные с помощью конфокального микроскопа модели ConfoScan4 (CS4) Nidek (SN CS 4061) 2005 г. выпуска (Рис. 2), позволяющего посмотреть и получить изображения слоев роговицы неинвазивным способом. Характеристики микроскопа: глубины сканирования 800 мкм, размер получаемых изображений режим - 40x 768x567 пикселей, 20x 384x576 пикселей, латеральное разрешение - режим 40x = 0,6 мкм/пиксел, 20x = 1,2 мкм/пиксел.

Изображения предоставлены Лабораторией фундаментальных исследований в офтальмологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней» (руководитель - к.м.н. А.А. Федоров).

Каждое изображение представляет собой черно-белый снимок эндотелиального слоя роговицы с ярко освещенной частью в центре и затемнениями по краям. В область интереса входит только ярко освещенная часть, т.к. клетки в более темной части сфотографированы под углом и отображаются некорректно [4].

Эндотелиальные клетки представляют собой светлые шестиугольные фигуры с темной границей. В силу того, что данные клетки неспособны ни к регенерации, ни к делению, в результате потери (смерти) эндотелиальных клеток, оставшимся клеткам приходится брать на себя повышенную нагрузку, расплываясь, занимать всю свободную площадь. Компенсаторные механизмы, однако, имеют свои пределы и поэтому с прогрессированием патологического процесса отмечается помутнение роговицы, её отек и значительное снижение остроты зрения. При расплывании клетки начинают терять свою изначальную шестиугольную форму, что приводит к появлению на изображениях клеток другой многоугольной формы.



**Рис. 2.** Снимок с конфокального микроскопа

Разрабатываемый метод должен выполнять следующие функции:

- подсчет количества клеток в области интереса;
- подсчет плотности клеток на площади;
- подсчет средней площади клеток;
- подсчет среднего периметра клеток;
- выделение клеток гексагональной, пентагональной и иной форм (7 и 4-х угольной);
- подсчет процентного отношения выделенных клеток к общему количеству.



## 2. Метод идентификации эндотелиальных клеток

### 2.1 Обоснование и описание метода идентификации эндотелиальных клеток

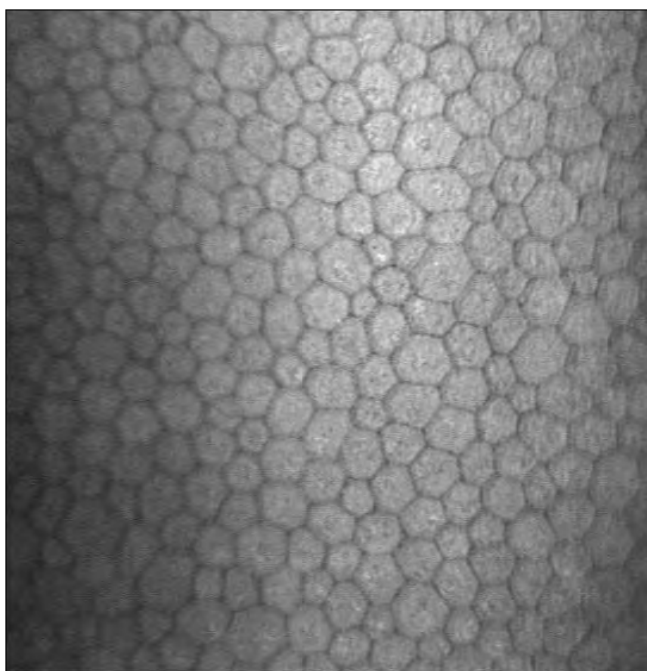
Разработанный метод предназначается для выделения эндотелиальных клеток на снимках, получаемых на конфокальном микроскопе, и определения их морфометрических характеристик. Результатом является изображение с выделенными клетками гексагональной, пентагональной и иной формы (7 и 4-х угольной) и список характеристик, связанный с размерами найденных клеток. Метод основывается на совместном использовании методов математической морфологии и методов сегментации [13].

Метод содержит 3 основных этапа:

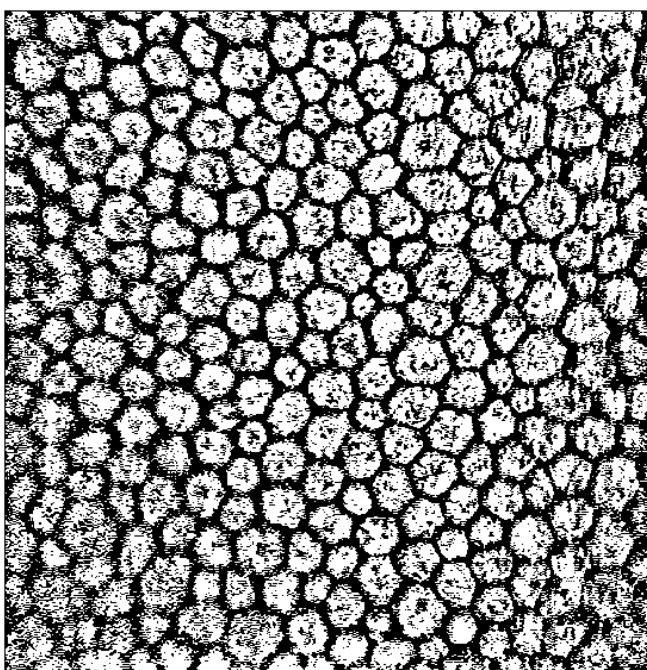
- 1) Предварительная обработка снимка;
- 2) Выделение границ клеток;
- 3) Определение формы клеток.

Ниже приводится описание каждого этапа.

1. Предварительная обработка снимка [5]:
  - 1.1. выделение области интереса на изображении и перевод исходного цветного изображения в тоновое (Рис. 3),
  - 1.2. нормализация изображения при помощи алгоритма адаптивного выравнивания гистограммы;
  - 1.3. адаптивная бинаризация (Рис. 4);
  - 1.4. применение морфологических операций для удаления шума и мелких объектов: удаление шума, удаление мелких объектов, бинарное закрытие (Рис. 5) [14];
  - 1.5. применение морфологической эрозии с квадратным ядром с радиусом 5 (Рис. 6) [15].
2. Выделение границ клеток [9,10]:
  - 2.1. инвентирование изображения с тем, чтобы на изображении белыми стали границы между клетками, а сами клетки стали черными;



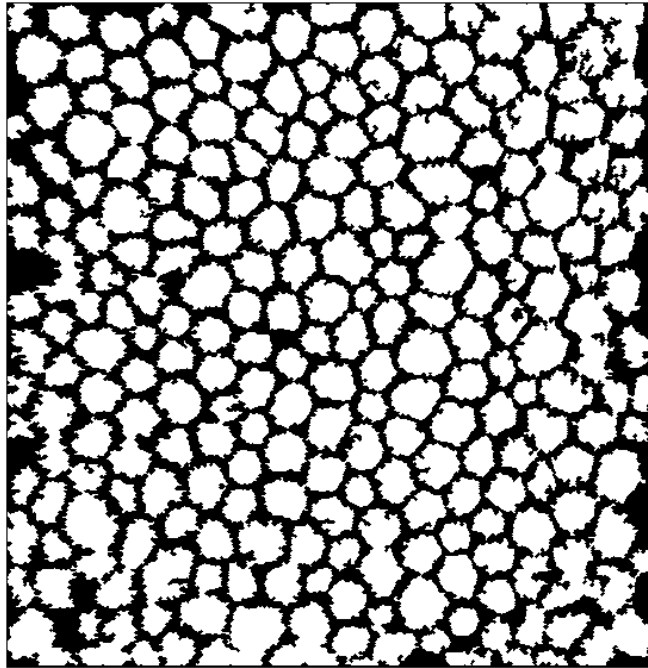
**Рис. 3** Область интереса.



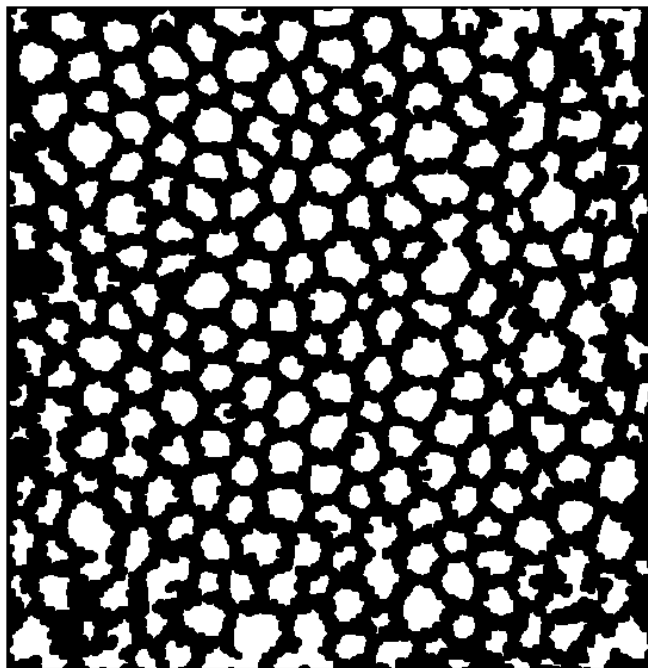
**Рис. 4** Результат применения операции «бинаризация».

- 2.2. применение операции поиска остова бинарной фигуры;
- 2.3. наложение найденного остова на обрабатываемое изображение (Рис. 7).
3. Определение формы клеток [8]:
  - 3.1. поиск всех компонент связности;
  - 3.2. отсев компонент связности по периметру, площади и удлинённости;

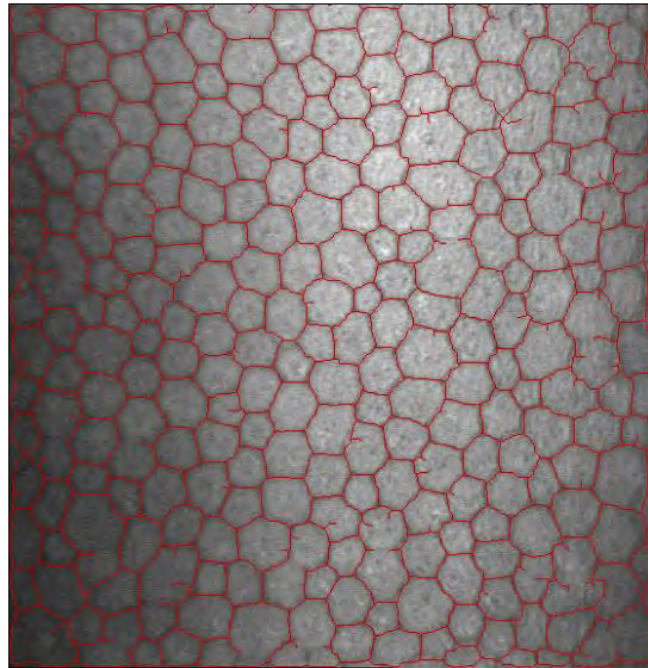
- 3.3. принятие оставшихся компонент в качестве клеток;
- 3.4. подсчет количества соседей для каждой клетки;
- 3.5. выделение клеток по классам: а) с 5-ю соседями (желтые); б) с 6-ю соседями (зеленые); в) остальные (голубые) (Рис. 8); по количеству соседей определяется количество углов клетки, т.к. 2 любые соседние клетки имеют одну, единственную общую грань.



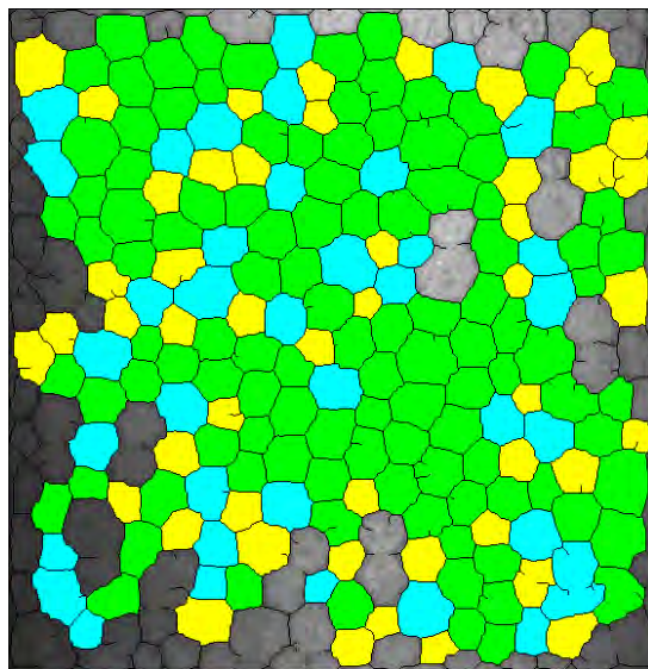
**Рис. 5** Результат применения морфологических операций.



**Рис. 6** Результат применения операции «Эрозия».



**Рис. 7** Результат применения операции «Выделения остова».



**Рис. 8** Выделение групп клеток по количеству углов

При разработке способа определения формы клетки рассматривались поиск по количеству углов и поиск по количеству сторон клетки. При поиске углов у клетки бралась граница соответствующей клетки и проводился поиск всех точек перегиба, но т.к. границы клеток определяются негладкими, то и количество точек перегиба значительно

превосходит количество углов клетки. Поэтому было решено проводить поиск формы клеток при помощи определения количества сторон. Поскольку все клетки являются выпуклыми многоугольниками и 2 любые соседние клетки имеют 1 смежную сторону, то достаточно проводить поиск количества соседей для каждой точки, что позволит определить форму клетки [16].

На Рис. 9 представлена алгоритмическая схема, обеспечивающая процедурную реализацию разработанного математического метода анализа изображений эпителия роговицы глаза человека. На схеме представлена последовательность выполнения всех операций, предусмотренных в предложенном методе, позволяющая определить морфометрические характеристики клеток.

## 2.2 Основные результаты и их обсуждения

Проведенные вычислительные эксперименты показали, что разработанный метод идентификации эндотелиальных клеток даёт результаты, позволяющие выявить и оценить ход лечения диагностируемых заболеваний. Реализованный метод с точностью в 93% определяет формы клеток. Ошибки возникают по следующим причинам:

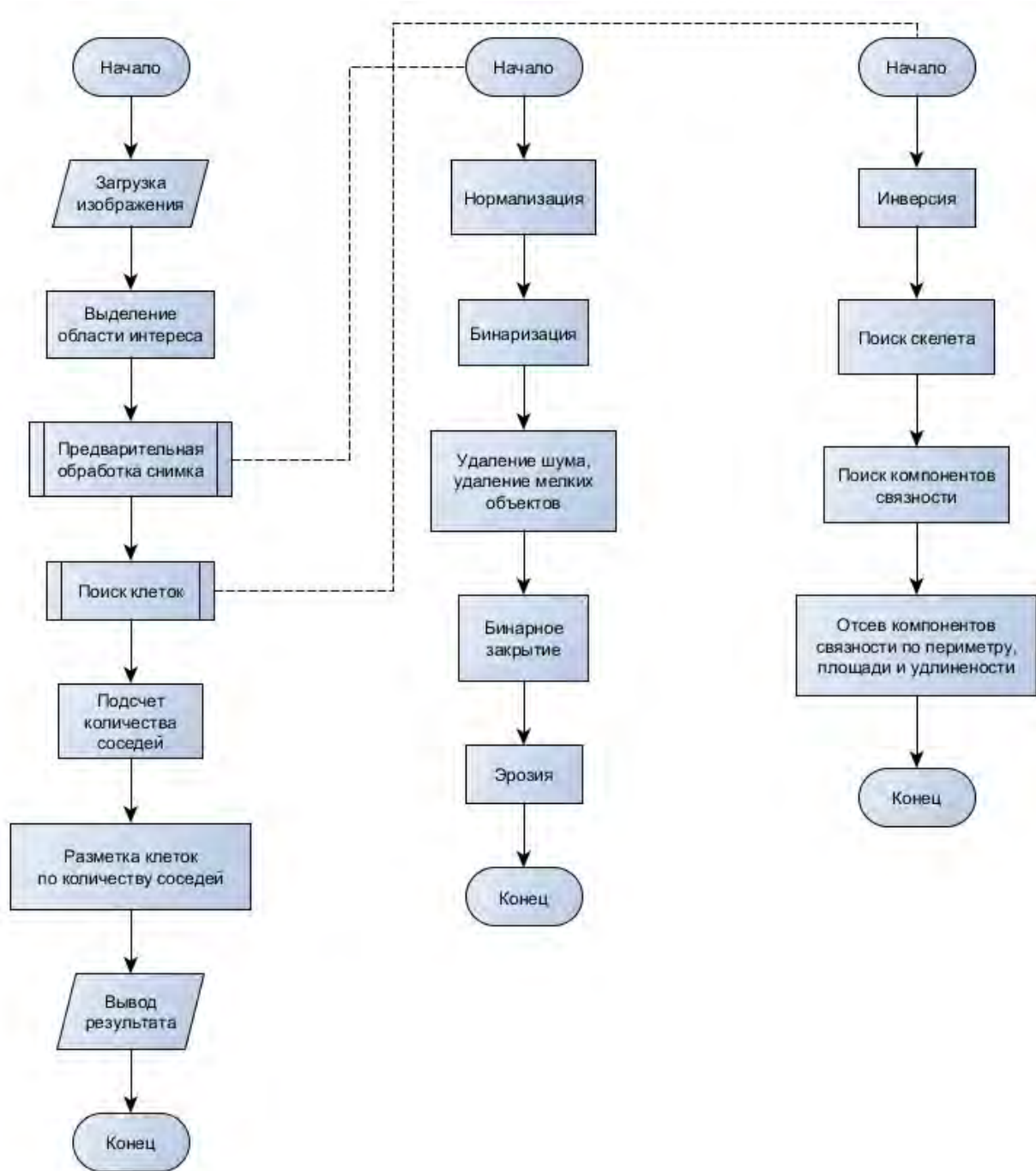
а) наличие слипшихся клеток - отсутствие границы или части границы между клетками, в результате чего данные клетки будут рассматриваться как 1 клетка и будет неправильно определяться количество соседей у клеток, соприкасающихся с данной клеткой;

б) нахождении клеток в граничной части области интереса, в результате чего не определяется точное количество соседей клетки.

Обсуждение и интерпретация результатов проводились совместно с экспертами-офтальмологами. Установлено, что точность метода, по меньшей мере, не уступает по точности результатам визуальной обработки экспертами-офтальмологами. В то же время нужно принять во внимание следующее:

а) обработка одного изображения в автоматическом режиме занимает от 0,372 до 0,916 секунд, в зависимости от размеров обрабатываемого изображения, а обработка экспертом-офтальмологом занимает не менее одного часа;

б) возможность автоматической обработки позволит уменьшить число образцов, необходимых для принятия диагностического решения и выбора тактики лечения.



**Рис. 9** Алгоритмическая схема анализа изображений эпителия роговицы глаза человека.

### **3. Программная реализация разработанного метода идентификации эндотелиальных клеток**

Разработанный метод идентификации эндотелиальных клеток программно реализован.

Использован язык программирования Python и его специализированные библиотеки:

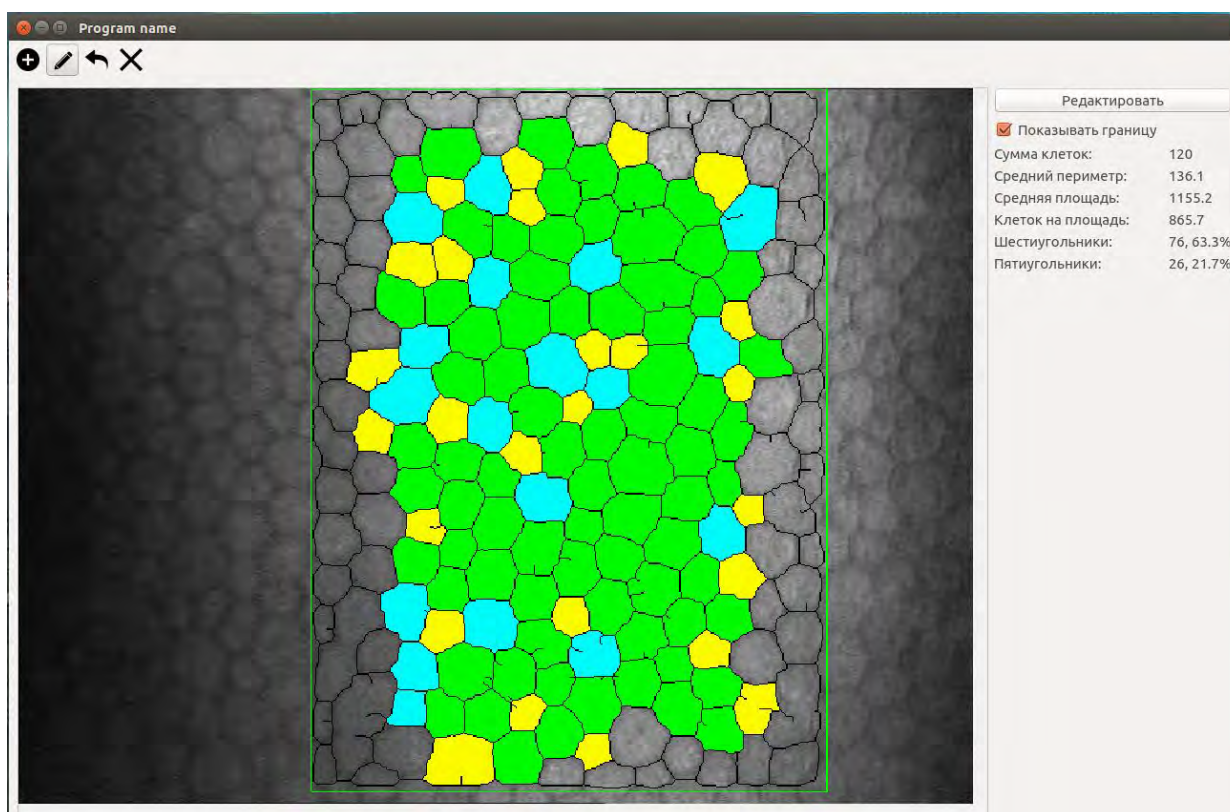
- `skimage` – библиотека, содержащая набор методов и функций, необходимых для обработки изображений;
- `scipy` – библиотека, содержащая набор методов и функций, необходимых для выполнения научных и инженерных расчетов;
- `numpy` – библиотека, добавляющая поддержку больших многомерных массивов и матриц, вместе с большой библиотекой высокоуровневых математических функций для операций с этими массивами.

Для применения разработанного метода идентификации эндотелиальных клеток создан пользовательский интерфейс (Рис. 10). Последний реализован при помощи кроссплатформенного инструмента разработки программного обеспечения PyQt для языка программирования Python.

Рекомендуемые системные требования: Windows 7 или выше, 32-разрядная ЭВМ с центральным процессором, совместимым с x86-64, тактовая частота – не менее 1000МГц, оперативной памяти – не менее 1Гб.

Сценарий работы с интерфейсом включает следующие шаги:

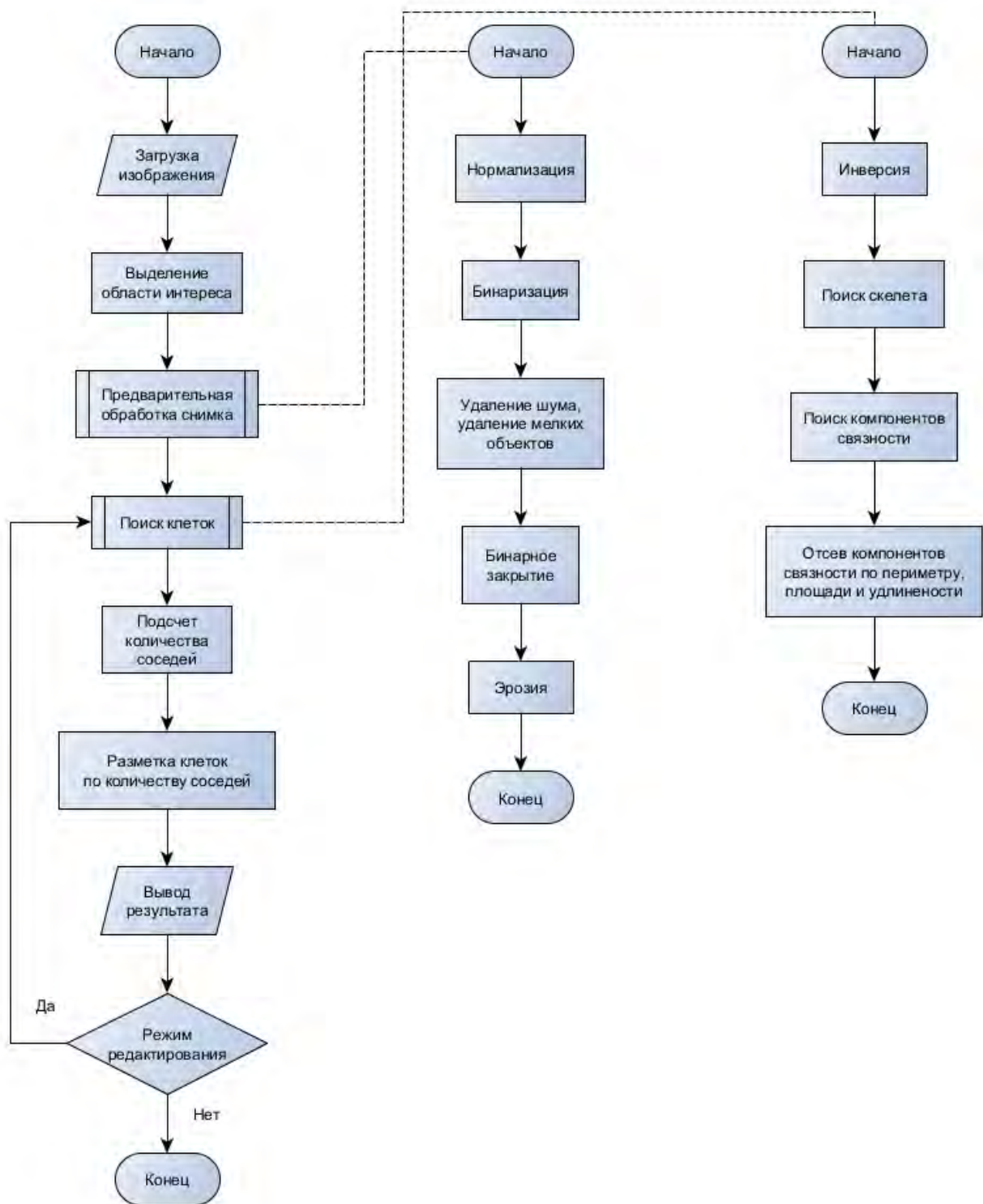
- 1) открытие файла с исходным изображением (в качестве исходного изображения могут использоваться все основные форматы изображений);
- 2) выделение при помощи мыши области интереса;
- 3) выделение границы клеток, окраска клеток соответствующими цветами;
- 4) вывод в боковом меню всей информации, касающейся выделенной области;
- 5) включение режима “редактирования”, в котором можно рисовать прямые линии и тем самым вносить изменения в границы клеток, что помогает «разрешать» случаи слипания клеток.



**Рис. 10** Реализованный интерфейс

В соответствии с реализованными функциональными возможностями интерфейса внесены изменения в алгоритмическую схему (Рис. 11), полностью отражающую процесс обработки изображений эндотелиальных клеток.





**Рис. 11** Алгоритмическая схема анализа изображений эпителия роговицы глаза человека в реализованном интерфейсе

## **Заключение**

В данной работе приведено описание разработанного нового математического (эвристического) метода обработки и анализа микроскопических изображений заднего эпителия роговицы глаза человека, программная реализация разработанного метода и результаты оценки эффективности работы разработанных метода и программных средств.

Вычислительные эксперименты показали, что метод работоспособен и позволяет получить результаты не худшие, чем достигается врачом-офтальмологом при визуальной обработке, в то же время автоматизация позволяет сократить время обработки изображения на 3 порядка.

### **Основные результаты работы.**

1. Новый математический (эвристический) метод обработки и анализа микроскопических изображений заднего эпителия роговицы глаза человека.
2. Программная реализация разработанного метода.
3. Результаты вычислительных экспериментов, подтверждающие работоспособность и эффективность разработанного метода и программных средств.

В дальнейшем планируется усовершенствовать разработанный метод с целью расширения его функциональных возможностей, в т.ч. для решения следующих задач:

- 1) решение специального случая «слипшиеся клетки»;
- 2) обработка клеток, находящихся в граничной части области интереса;
- 3) автоматизация выделения информативной зоны изображения.

## Использованная литература

- [1] И.Б.Гуревич, Ю.И.Журавлев, А.А.Мягков, А.Колачева, Ю.О.Трусова, В.В. Яшина, Т.С.Пронина, М.В.Угрюмов. Автоматизация анализа и оценивания изображений в исследованиях мозга: постановки задач, математические основы, информационные технологии / Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма (под ред. М.В. Угрюмова): в 2-х томах. - М. : Научный мир, 2014. - том 2, С. 570-618.
- [2] S. Di Bona, I. B. Gurevich, I. V. Koryabkina, A. V. Nefyodov, and O. Salvetti. Two Approaches to Medical Image Analysis: Comparison and Synthesis // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - МАИК "Nauka/Interperiodica", 2005. - Vol. 15, No.2. - P. 539-542.
- [3] S. Colantonio, O. Salvetti, and I.B. Gurevich,. A Two-Step Approach for Automatic Microscopic Image Segmentation Using Fuzzy Clustering and Neural Discrimination // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - Pleiades Publishing, Ltd., 2007. – Vol.17, No.3. - P.428-437.
- [4] G. Dougherty. Digital Image Processing for medical applications. - New York: Cambridge University Press, 2009.
- [5] R.C. Gonzalez, R.E. Woods. Digital Image Processing. - Prentice-Hall, Inc., 2002.
- [6] I.B. Gurevich, et al. A New Method for Automated Detection and Identification of Neurons in Microscopic Images of Brain Slices // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. – Pleiades Publishing, Ltd., 2012, Vol. 22, No. 4, pp. 559–570.
- [7] I.B. Gurevich, D.V. Harazishvili, O. Salvetti, A.A. Trykova, I.A. Vorob'ev. Elements of the Information Technology of Cytological Specimens Analysis: Taxonomy and Factor Analysis // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - МАИК "Nauka/Interperiodica", 2006. - Vol.16, No.1. - P.114-116.
- [8] I.B. Gurevich, E.A. Kozina, A.A. Myagkov, M.V. Ugryumov, and V.V. Yashina. Automating Extraction and Analysis of Dopaminergic Axon Terminals in Images of Frontal Slices of the Striatum // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - Pleiades Publishing, Ltd., 2010. - Vol.20, No.3. – P.349-359.
- [9] I. Gurevich, A. Myagkov, A. Nedzved' and V. Yashina. Extraction of neurons from images of mouse brain slices based on automated selection of connected morphological filters // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. – Pleiades Publishing, Ltd., 2011. - Vol. 21, No. 3. - P.473–476.

- [10] I. Gurevich, A. Myagkov, V. Yashina, A New Image-Mining Technique for Automation of Parkinson's Disease Research // Applications of Discrete Geometry and Mathematical Morphology (U. Köthe, A. Montanvert, & P. Soille (Eds. )). – Springer, 2012, Vol. 7346, pp. 154-167.
- [11] I.B. Gurevich, V.V. Yashina, I.V. Koryabkina, H. Niemann, and O. Salvetti. Descriptive Approach to Medical Image Mining. An Algorithmic Scheme for Analysis of Cytological Specimens // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - MAIK "Nauka/Interperiodica"/Pleiades Publishing, Inc., 2008. - Vol.18, No.4. - P. 542-562.
- [12] I.B. Gurevich, Yu. I. Zhuravlev, A. A. Myagkov, Yu. O. Trusova, and V. V. Yashina. On Basic Problems of Image Recognition in Neurosciences and Heuristic Methods for Their Solution // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. Pleiades Publishing, Ltd., 2015. - Vol. 25, No. 1. – P.132–160.
- [13] A.A. Myagkov, V.V. Yashina. Systematization and Feature Selection for Formalization of Descriptions of the Methodological Structure of Cytological and Histological Preparations and Analytical Review // Pattern Recognition and Image Analysis: Advances in Mathematical Theory and Applications. - Pleiades Publishing, Ltd., 2009. - Vol.19, No.4. – P.673-678.
- [14] M. Petrou. Image Processing: the fundamentals / Maria Petrou, Costas Petrou. - 2nd ed., John Wiley&Sons Ltd.2010, p.794.
- [15] J. Serra. Image Analysis and Mathematical Morphology, London, Academic Press, 1982.
- [16] P. Soille. Morphological Image Analysis. Principles and Applications (Second Edition). - Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 2003 и 2004.

## Приложение. Листинг программной реализации.

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from skimage import morphology, color, feature, measure, transform, exposure,
segmentation, filters, util, draw

import scipy as sp
import scipy.ndimage as ndi

class Detection():
    img = []
    skelet = []
    original_skelet = []
    result = []

    avePer = 0
    aveArea = 0
    aveCell = 0
    sumAllCell = 0
    sumSixCell = 0
    sumFiveCell = 0
    sumOtherCell = 0

    flagBorder = True

    def setImage(self, image):
        self.img = image.astype('uint16')
        norm = exposure.equalize_adapthist(self.img)
        grey = color.rgb2grey(norm)
        block = 71
        binary = filters.threshold_adaptive(grey, block_size=block,
method='gaussian', mode='reflect')
        binary = ndi.binary_fill_holes(binary)
        binary = morphology.remove_small_objects(binary, min_size=200)
        binary = morphology.binary_closing(binary, morphology.disk(1))
        plt.figure(figsize=(10,10))
        binary = ndi.binary_fill_holes(binary)
        binary = morphology.binary_erosion(binary, morphology.square(5))
        plt.imsave('b.png', binary, cmap='gray')
        binary = morphology.remove_small_objects(binary, min_size=50)
```

```

self.skelet = morphology.skeletonize(~binary)
self.original_skelet = self.skelet.copy()
def updateSkelet(self, dots, flag=True):
    rr, cc = draw.line(int(dots[1]), int(dots[0]), int(dots[3]),
int(dots[2]))
    self.skelet[rr, cc] = flag
    self.skelet = self.skelet|self.original_skelet
    plt.imsave('e.png', self.skelet, cmap='gray')

def Angle(self):
    plt.imsave('a.png', self.skelet, cmap='gray')
    skel_2 = ~morphology.remove_small_objects(~self.skelet, min_size=50)
    self.skelet = morphology.skeletonize(skel_2)
    plt.imsave('c.png', self.skelet, cmap='gray')

    lbls, max_lbl = ndi.label(~self.skelet)
    plt.imsave('d.png', lbls)
    self.result = self.img.copy()
    arr_P = np.array([])
    arr_S = np.array([])

    arr_P5 = np.array([])
    arr_S5 = np.array([])

    arr_P6 = np.array([])
    arr_S6 = np.array([])
    true_regions = []
    false_regions = []
    for regions in measure.regionprops(lbls):
        if (regions.perimeter < 1400 and regions.area < 3000 and
regions.area > 200 and regions.eccentricity < 0.83):
            minr, minc, maxr, maxc = regions.bbox
            if (minr-5 < 0 or maxr+5 > lbls.shape[0] or minc-5 < 0 or
maxc+5 > lbls.shape[1]):
                false_regions = np.append(false_regions, regions)
                continue
            box = lbls[max(minr-4,0):min(maxr+4, lbls.shape[0]),
max(minc-4,0):min(maxc+4, lbls.shape[1])]
            st = set(box.reshape(-1,))
            regions.neib = len(st)

```

```

        true_regions = np.append(true_regions, regions)
    else:
        false_regions = np.append(false_regions, regions)

for regions in false_regions:
    lbls[lbls == regions.label] = 0

for regions in true_regions:
    minr, minc, maxr, maxc = regions.bbox
    box = lbls[max(minr-4,0):min(maxr+4, lbls.shape[0]), max(minc-
4,0):min(maxc+4, lbls.shape[1])]
    st = set(box.reshape(-1,))
    if (regions.neib - len(st) > 1):
        continue
    arr_S = np.append(arr_S, regions.area)
    arr_P = np.append(arr_P, regions.perimeter)
    if (regions.neib-2 == 5):
        self.result[lbls == regions.label] = [250,250,0]
        arr_S5 = np.append(arr_S5, regions.area)
        arr_P5 = np.append(arr_P5, regions.perimeter)
    elif (regions.neib-2 == 6):
        self.result[lbls == regions.label] = [0,250,0]
        arr_S6 = np.append(arr_S6, regions.area)
        arr_P6 = np.append(arr_P6, regions.perimeter)
    else:
        self.result[lbls == regions.label] = [0, 250, 250]

if (self.flagBorder):
    self.result[self.skelet != 0] = [0, 0, 0]
self.sumAllCell = arr_S.shape[0]
self.sumFiveCell = arr_S5.shape[0]
self.sumSixCell = arr_S6.shape[0]
self.aveArea = round(np.sum(arr_S)/arr_S.shape[0],1)
self.aveCell = round(10**6*arr_S.shape[0]/np.sum(arr_S),1)
self.avePer = round(np.sum(arr_P)/arr_P.shape[0],1)

```