

STEREOLOGIE A VÝBĚR

Viktor BENEŠ
FS ČVUT, KTM

Abstract. In this paper we are interested in stereological estimation of geometrical parameters of three-dimensional structures. After the review of recent results in systematic geometrical sampling estimators based on the information from vertical sections are studied.

Резюме: В этой статье мы занимаемся стереологическими оценками геометрических параметров трехмерных структур. После изучения систематического геометрического выбора будут исследованы оценки основанные на выборе по вертикальным сечениям.

1. ÚVOD

Příspěvek je úvodem k problematice stereologie, která se používá v řadě vědních oborů jako je biomedicína, geologie, materiálový výzkum, ke kvantitativnímu hodnocení trojrozměrných struktur. V první části jsou uvedeny základní stereologické vzorce pro globální geometrické parametry, založené na informaci z izotropních rovin řezu. Ukazuje se, že stereologické odhady dobrých vlastností lze získat ze systematického náhodného výběru sond. Základní výsledky z teorie systematického výběru jsou referovány v druhé části. Závěrečná kapitola je věnována vertikálním rovinám řezu, které představují z hlediska praktické přípravy vzorků jednodušší výběrový plán. Jsou diskutovány příslušné stereologické vzorce a metody odhadu.

2. GLOBÁLNÍ STEREOLOGICKÉ VZORCE

Stereologie se zabývá odhadem geometrických charakteristik trojrozměrných struktur na základě pozorování sond nižší dimenze (rovin řezu, projekcí). Ve stereologii se rozlišuje klasický a modelový přístup. V prvním z nich je struktura považována za deterministickou a pouze sondy jsou náhodné, v druhém přístupu se již struktura modeluje náhodným procesem. Tento příspěvek je psán v duchu klasického přístupu.

Základní geometrické parametry jsou vymezeny Minkovského funkcionaly W_k^d (v R^d): je-li $C(\mathcal{K})$ systém všech konvexních kompaktních podmnožin R^d a $K \in C(\mathcal{K})$, je

$$W_k^d(K) = W_k(K) = (\omega_d/\omega_{d-k}) \int_{L_k} \nu_{d-k}(p_{s^\perp} K) U_k(dS), \quad k = 0, 1, \dots, d,$$

kde ω_l je objem jednotkové koule v R^l , ν_l l -rozměrná Lebesgueova míra, L_l množina l -rozměrných podprostorů, U_l je rovnoměrné rozdělení pravděpodobnosti na L_l . Symbol $p_{s^\perp} K$ značí ortogonální projekci K na $(d-l)$ -

podprostor kolmý k $S \in L_l$. Speciálně v R^2 je $W_0(K) = A(K)$, $W_1(K) = \frac{1}{2}U(K)$, $W_2(K) = \pi$, kde $A(K)$, $U(K)$ je plocha resp. obvod K . V R^3 je $W_0(K) = V(K)$, $W_1(K) = \frac{1}{3}S(K)$, $W_2(K) = \frac{2}{3}\pi\bar{b}(K) = \frac{1}{3}M(K)$, $W_3(K) = \frac{4}{3}\pi$, kde $V(K)$, $S(K)$, $\bar{b}(K)$, $M(K)$ značí po řadě objem, povrch, střední šířku resp. integrál střední křivosti K .

Hadwigerův charakterizační teorém říká, že každý nezáporný, monotonní, aditivní (ve smyslu $h(K_1 \cap K_2) + h(K_1 \cup K_2) = h(K_1) + h(K_2)$) funkcionál h na $C(K)$ invariantní vůči izometriím na R^d je nutně lineární kombinací Minkovského funkcionálů. Uvedená definice se dále zobecňuje na širší množinové systémy jako je konvexní okruh (konečná sjednocení množin z $C(K)$), viz Schneider(1993).

Croftonova věta z integrální geometrie dává do souvislosti Minkovského funkcionály tělesa a jeho řezů:

$$(1) \quad \int_{L_k} \int_{S^\perp} W_j^k(K \cap S_s) \nu_{d-k}(ds) U_k(dS) = \frac{\omega_k \omega_{d-j}}{\omega_d \omega_{k-j}} W_j^d(K)$$

pro $0 \leq j \leq k \leq d-1$ a $K \in C(K)$, kde S_s je posunutí S o s a W_j^k je j -tý Minkovského funkcionál na S_s .

V Croftonově větě je základ odvození globálních stereologických vzorců používaných v aplikacích v biomedicinském či materiálovém inženýrství. Nechť trojrozměrný vzorek materiálu obsahuje podmnožinu sledované fáze. Platí

$$V_V = A_A = L_L = P_P,$$

kde V_V je objemový podíl fáze v objemu vzorku, A_A je střední plošný podíl fáze v rovině řezu, L_L je střední délkový podíl fáze na lineární sondě resp. P_P je střední podíl počtu bodů uvnitř fáze ku celkovému počtu bodů bodové sondy uvnitř vzorku. Dále je

$$S_V = \frac{4}{\pi} L_A = 2P_L,$$

kde S_V je podíl plošného obsahu povrchu fáze na jednotku objemu vzorku, L_A je střední podíl délky obvodu řezů fáze na jednotku plochy roviny řezu vzorku, P_L je střední podíl počtu průsečíků lineární sondy v povrchu fáze na jednotku délky sondy. Další globální stereologické vzorce lze najít např. ve Weibel(1980).

Pojem střední hodnoty v uvedených vztazích se rozumí ve smyslu Croftonovy věty (1), tedy vzhledem ke všem možným posunutím a orientacím sondy uvnitř vzorku. Při použití stereologických vzorců v praxi je nutné provést výběr z této množiny orientací a posunutí. Zde není nejlepší použít náhodný výběr, ale systematický náhodný výběr. Systematický náhodný výběr tvoří systém sond z nichž první je vybrána náhodně a další jsou jednoznačně určeny polohou první sondy tak, že rovnoměrně pokrývají celý vzorek. Princip

výpočtu rozptylu stereologických odhadů založených na systematickém náhodném výběru bude vysvětlen na jednoduchém příkladu odhadu objemu z rovnoběžných rovin řezu, kde jde o výběr z množiny posunutí. Tyto metody byly vytvořeny v geostatistice (Matheron, 1971), dále sledujeme nové výsledky z práce Kiêu(1997).

3. SYSTEMATICKÝ NÁHODNÝ VÝBĚR

Nechť $f : R \rightarrow R$ je integrovatelná funkce s omezeným nosičem. Chceme odhadnout veličinu

$$(2) \quad Q = \int_R f(x) dx,$$

na základě pozorování $\{(x, f(x)); x \in \mathcal{S}\}$, kde

$$\mathcal{S} = \{UT + kT, k \in Z\},$$

U je náhodná veličina s rovnoměrným rozdělením na $(0, 1)$, $T > 0$ je vzorkovací perioda. Zřejmě

$$(3) \quad \hat{Q}_T = T \sum_{x \in \mathcal{S}} f(x)$$

je nestranný odhad Q . V numerické matematice se používá Euler-McLaurinův sumační vzorec (Ralston, 1978) k odhadu chyby sumace typu (3) za předpokladu, že f je hladká. Kiêu(1997) uvažuje obecnější třídu funkcí:

Nejprve označme $s_f(x) = \lim_{y \rightarrow x^+} f(y) - \lim_{y \rightarrow x^-} f(y)$, $x \in R$. Nosič funkce s_f se značí D_f a představuje body, kde f je nespojitá se skoky. Předpokládejme, že D_f je lokálně konečná množina a s_f je omezená. Třída měřitelných funkcí f s kompaktním nosičem splňující tyto dvě podmínky se označí $\mathcal{C}_K$. Funkce f se nazývá (m, p) -po částech hladká, $m, p \in N$, jestliže:

- a) pro každé $l \in N$, $l \leq m + p$ je l -tá derivace $f^{(l)} \in \mathcal{C}_K$,
- b) pro každé $l \in N$, $l < m$ je $D_{f^{(l)}} = \emptyset$.

Dále se uvažuje největší m s těmito vlastnostmi, tedy m je řád nejnižší nespojitě derivace f . Uvažme příklad struktury konvexních kompaktních částic daného tvaru v trojrozměrném vzorku $\mathcal{V}$, nechť $f(t)$ je plocha řezů částic v rovině $x = t$. Potom Q v (2) představuje celkový objem částic, $V_V = Q/V(\mathcal{V})$ objemový podíl. $\hat{Q}_T$ se ve stereologii nazývá odhad Cavalieriho metodou. Jsou-li částice elipsoidy, je $f(x)$ funkce $(1, \infty)$ -po částech hladká (spojitá funkce, 1. derivace skokovitá). Jsou-li částice čtyřstěny a žádná hrana není kolmá k ose x , je $f(x)$ funkce $(2, \infty)$ -po částech hladká (spojitá 1. derivace, 2. derivace skokovitá). Jsou-li částice čtyřstěny s aspoň jednou stěnou kolmou k ose x , je $f(x)$ $(0, \infty)$ -po částech hladká (nespojité) funkce.

Zjemněný Euler-McLaurinův vzorec pro $(m, 1)$ -po částech hladkou funkci f , kde $m \geq 1$, má tvar (Kieu, 1997):

$$(4) \quad T \sum_{k \in Z} f(kT) - \int_R f(x) dx \\ = (-1)^m T^{m+1} \sum_{a \in D_{f(m)}} s_{f(m)}(a) P_{m+1,T}(a) + o(T^{m+1}).$$

Výsledek platí i pro $(0, 1)$ —po částech hladkou funkci za dodatečného předpokladu, že $D_f \cap ZT = \emptyset$. Zde $P_l(x)$ jsou Bernoulliho polynomy a $P_{l,T}(x) = P_l(\frac{x}{T} - [\frac{x}{T}])$, $l \geq 1$.

Odsud lze již přímo spočítat rozptyl odhadu Q_T pro systematický náhodný výběr: Je-li f funkce $(m, 1)$ —po částech hladká, $M \geq 0$, potom

$$(5) \quad \text{var} \hat{Q}_T = \sum_{c \in D_{f(m)} - D_{f(m)}} V_c(T) + o(T^{2m+2}),$$

kde

$$V_c(T) = (-1)^m T^{2m+2} P_{2m+2,T}(c) \sum_{\substack{a, b \in D_{f(m)} \\ c=b-a}} s_{f(m)}(a) s_{f(m)}(b).$$

Je-li N rozsah výběru a $CE = \frac{\sqrt{\text{var} \hat{Q}}}{Q}$ koeficient chyby, je řád CE roven T^{m+1} neboli N^{-m-1} . V příkladu odhadu celkového objemu částic je pro čtyřstěny se stěnou kolmou k ose x řád poklesu CE roven N^{-1} , pro elipsoidy N^{-2} a pro čtyřstěny bez hran kolmých na osu x je to N^{-3} . Připomeňme, že odhady založené na prostém náhodném výběru dávají řád poklesu CE pouze $N^{-\frac{1}{2}}$.

Dále nazveme skoky funkce f a jejich derivací přechody, řád přechodu je řád derivace, o jejíž přechod se jedná, primární přechody jsou skoky nejnížší nespojitě derivace. Parametr m je potom řád primárního přechodu. V rozkladu (5) je významný člen $V_0(T)$, který se nazývá prodloužený člen („extension term“ v Matheron, 1971) a závisí pouze na amplitudách přechodů, nikoliv na jejich polohách. Pro dvojice $a \neq b$ přechodů m -tého řádu je V_{b-a} funkce oscilující kolem nuly s frekvencí nepřímo úměrnou vzdálenosti mezi a a b . Součet těchto členů $Z(T) = \sum_{\substack{c \in D_{f(m)} - D_{f(m)} \\ c \neq 0}} V_c(T)$ se nazývá „Zitter-

bewegung“. Při stanovení odhadu rozptylu $\text{var} \hat{Q}_T$ se lze v prvním přiblížení omezit na výpočet prodlouženého členu.

Definujme kovariogram g dané funkce f předpisem

$$g(y) = \int_R f(x+y) f(x) dx.$$

Platí

$$\text{var} \hat{Q}_T = T \sum_{k \in Z} g(kT) - \int_R g(x) dx.$$

Je-li g funkce $(q, 1)$ —po částech hladká pro nějaké $q \geq 0$, je

$$\text{var} \hat{Q}_T = (-1)^q T^{q+1} \sum_{a \in D_{g^{(q)}}} s_{g^{(q)}}(a) P_{q+1,T}(a) + o(T^{q+1}),$$

což je alternativní vyjádření rozptylu odhadu. Musí tedy existovat jednoznačné vztahy mezi řády přechodu funkce f a jejího kovariogramu g , které jsou formulovány v Kiêu(1997).

Odhady rozptylu $\text{var} \hat{Q}_T$ jsou založeny na diskrétním kovariogramu

$$g_i = T \sum_{k \in Z} f(UT + kT) f(UT + (k + i)T), \quad i = 0, 1, 2, \dots$$

který lze odhadnout z dat. Zřejmě g_i je nestranný odhad $g(iT)$. Užitím Taylorova rozvoje kovariogramu v nule a metody nejmenších čtverců dostáváme pro praktické účely užitečné jednoduché vzorce pro odhad rozptylu $\hat{Q}_T$ (prodlouženého členu), které ovšem opět závisí na vlastnostech funkce f . Zatímco pro $m = 0, p \geq 2, q = 2$ vychází odhad rozptylu

$$\hat{V}_0(T) = \frac{T}{12} (3g_0 - 4g_1 + g_2),$$

pro elipsoidy (Cruz-Orive, 1993), tj. pro $m = 1, p \geq 1, q = 3$ je

$$\hat{V}_0(T) = \frac{T}{240} (3g_0 - 4g_1 + g_2)$$

a pro $m = 2, p \geq 1, q = 5$

$$\hat{V}_0(T) = \frac{T}{8316} (10g_0 - 15g_1 + 6g_2 - g_3).$$

O odhadech parametru m v případech, kdy není znám, pojednává například Kiêu(1997).

4. ANIZOTROPNÍ VÝBĚROVÉ PLÁNY VE STEREOLOGII

Proměnná S_s ve vzorci (1) se v pravděpodobnostní interpretaci nazývá izotropní rovnoměrně náhodná (IUR) sonda. Dále se zabýváme případem $d = 3, k = 2$, potom mluvíme o IUR rovině. V posledních letech byly vyvinuty stereologické vzorce pro globální veličiny pomocí jiných sond než IUR. Uvádíme přehled výsledků tohoto druhu pro vertikální rovnoměrně náhodné (VUR) sondy. Začneme s pojmem VUR roviny řezu.

Zvolme souřadný systém v R^3 a nazvěme osu z vertikální osou. Potom $\rho_{p\theta} = \{(x, y, z) \in R^3; x \cos \theta + y \sin \theta = p\}$ jsou vertikální roviny popsané parametry $p \in R, \theta \in \langle 0, \pi \rangle$. Tato třída s rovnoměrným rozdělením pravděpodobnosti parametrů představuje VUR roviny v R^3 . V praktické stereologii je zřejmě jednodušší realizovat výběr z množiny vertikálních rovin než z množiny IUR rovin.

Prvním stereologickým vztahem založeným na VUR rovinách byl odhad plochy povrchu v R^3 , Baddeley(1985). Nechť $\Sigma \subset R^3$ je kompaktní hladký povrch, platí

$$(6) \quad S(\Sigma) = \frac{1}{\pi} \int \int Z(\Sigma \cap \rho_{p\theta}) dp d\theta,$$

kde

$$Z(\Gamma) = \int_0^\pi \int_R N(\Gamma \cap L_{p\theta q\eta}) |\cos \eta| dq d\eta.$$

Zde $L_{p\theta q\eta} = \{(x, y, z) \in \rho_{p\theta}, x \sin \theta \sin \eta - y \cos \theta \sin \eta + z \cos \eta = q\}$ je přímka ve vertikální rovině $\rho_{p\theta}$, $N(\cdot)$ je počet bodů množiny. Důkaz tohoto tvrzení plyne bezprostředně z definice integrálně-geometrické míry (Favard, 1933) pro povrch

$$\pi S(\Sigma) = \int N(\Sigma \cap L) dL,$$

kde $dL = dp dq |\cos \eta| d\eta d\theta$ (η, θ jsou vlastně sférické souřadnice), aplikací Fubiniovy věty.

Je-li $X \subset R^3$ konvexní a $\Sigma \subset X$, volbou

$$dP = \frac{A(X \cap \rho_{p\theta})}{\pi V(X)} dp d\theta$$

pro ρ protínající X dostáváme dosazením do (6) střední hodnotu vzhledem k P

$$E \frac{Z(\Sigma \cap \rho)}{A(X \cap \rho)} = \frac{S(\Sigma)}{V(X)}$$

neboli

$$(7) \quad S_V = Z_A.$$

Veličinu $Z(\Gamma)$ se interpretuje jako vážená (cosinem) střední délka totální projekce lineárního útvaru Γ . Lze ji odhadnout pomocí počtu průsečíků Γ s lineárními sondou ve vertikální rovině řezu. Rozdělení orientací sondy však není rovnoměrné kvůli cosinu v definici Z , tomuto rozdělení vyhovují např. sondy cykloidálního tvaru s delší osou kolmou na vertikální osu. Nestranný odhad z výřezu (okna) B v náhodné VUR rovině ρ má tvar

$$\hat{S}_V = 2 \frac{N(C \cap \Sigma)}{l(C)},$$

kde $l(C)$ je celková délka cykloidálních sond v $\rho \cap B$ a $N(C \cap \Sigma)$ celkový počet průsečíků. Pro vydatnější odhad se používá systematický náhodný výběr orientací na $\langle 0, \pi \rangle$ vertikálních rovin.

Další stereologické vzorce založené na VUR sondách budou zmíněny jen stručně. Některé techniky v mikroskopii dávají snímky struktury které nejsou

řezy, ale projekce tenkých vrstev ohraničených dvěma rovnoběžnými rovinami. Podle rozdělení orientací rovin, do kterých se projektuje, lze mluvit o IUR nebo VUR projekcích.

Pro délku lineárních útvarů v R^3 pomocí VUR projekcí vrstvy tloušťky t platí (Gokhale, 1990)

$$L_V = \frac{2}{t} P_L^c,$$

kde P_L^c je střední počet průsečíků projektovaných objektů s cykloidálními sondami na jednotku délky sond. Zde mají cykloidální sondy delší osu rovnoběžnou s vertikální osou.

Střední velikost konvexních částic $\bar{b}$ měřenou střední šířkou $\bar{b}$ lze odhadnout pouze pomocí počtu průsečíků. Nechť počet částic n je známý a předpokládáme, že projekce všech částic jsou pozorovatelné. Uvažme výběrový plán VUR projekcí bloku obsahujícího všechny částice. Platí (Gokhale a Beneš, 1998)

$$\bar{b} = \frac{P^c}{2n\beta},$$

kde β je délka cykloidálních sond na jednotku plochy projekce, P^c je střední (vzhledem k VUR projekcím) počet průsečíků obvodů projekcí částic s cykloidálními sondami orientovanými jako v předchozí úloze.

Uvedené integrální vztahy lze dovést do formy praktických odhadů pomocí systematických náhodných výběrů orientací a posunutí sond. Tyto výběry jsou často vícerozměrné nebo vícestupňové. Dvourozměrný je např. posun cykloidálních sond, kdy je třeba uvažovat posun v horizontálním i vertikálním směru. Dvoustupňový je výběr vertikálních projekcí, uvažujeme systematický výběr VUR projekcí a v každé rovině systematický výběr cykloidálních sond. Výpočet rozptylu takových odhadů je velmi komplikovaný, zahrnuje složité interakce geometrií sledovaných útvarů, sond a pozorovacího okna. Navíc je známo, že některé nestranné stereologické odhady mají teoreticky nekonečný rozptyl. Po vhodné modifikaci, viz Hlaviczková (1998), se však v praxi běžně používají.

LITERATURA

- [1] Baddeley A.J.(1985), *An anisotropic sampling design*. GEOBILD'85, FSU Jena, 92–97.
- [2] Cruz-Orive L.M.(1993), *Systematic sampling in stereology*. Bulletin ISI, Actes 47th Session, **2**, 451–468.
- [3] Favard J. (1933), *Sur la détermination des surfaces convexes*. Bull. Acad. Roy. Belgiq. (Cl. Sci.) **19**, 65–75.
- [4] Gokhale A. (1990), *Unbiased estimation of curve length in 3D using vertical slices*. J. Microscopy **159**, 133–141.

- [5] Gokhale A. a Beneš V. (1998), *Estimation of average particle size from vertical projections*. J. Microscopy, v tisku.
- [6] Hlaviczková (1998), *Distribuce orientací a jejich aplikace*. Diplomová práce, MFF UK, Praha.
- [7] Kiêu K. (1997), *Three Lectures on Systematic Geometric Sampling*. Memoirs No. 13, Dept. of Theoretical Statistics, University of Aarhus.
- [8] Matheron G. (1971), *The Theory of Regionalized Variables and Its Applications*. Cahiers du Centre de Morphologie Mathématique de Fontainebleau, **5**.
- [9] Ralston A. (1978), *Základy Numerické Matematiky*. Academia, Praha. ■
- [10] Schneider R. (1993), *Convex Bodies: The Brunn-Minkowski Theory*. Encyclopedia of Mathematics and Its Applications, Vol. 44. Cambridge University Press. ■
- [11] Weibel R. (1980), *Stereological Methods, vol. 2*. Academic Press, London.