

Акрамов М.В.¹, Маркина С. Э.², Кадушников Р.М.³, Петров М.С.⁴, Кохан М.М.⁵,
Сафонова Г.Д.⁶ ©

¹Магистрант; ²доцент, к.т.н.; ³к.ф.-м.н.; ⁴ст. преподаватель; ⁵профессор, д.м.н.; ⁶к.м.н.,
ст. научный сотрудник.

^{1,2}Уральский федеральный университет, физико-технический институт, кафедра
вычислительной техники, Екатеринбург; ^{3,4}ООО, «СИАМС», Екатеринбург; ^{5,6}ФГБУ
«Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии»
Минздрава России, Екатеринбург

РАЗВИТИЕ МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ АНАЛИЗА ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛИМФОМ КОЖИ

Аннотация

В данной статье описывается компьютерная программа для патоморфологических лабораторий профильных медицинских учреждений и центров, позволяющая оптимизировать процесс дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных процессов в коже по изображению гистологических препаратов, исследованных на светоптоическом уровне. Данный метод анализа позволит сократить ресурсоемкость случая диагностики злокачественной патологии кожи, вследствие снижения кратности повторных патоморфологических анализов и объемов иммуногистохимических исследований.

Summary

This article describes a computer program for pathological laboratories specialized medical institutions and centers that optimizes the process of differential diagnosis of benign and malignant processes in the skin in the image histological specimens tested for light-optical level. This method of analysis will reduce the resource intensity of case diagnosis of a malignant disease of the skin, due to the reduction of multiplicity of repeated pathologic analysis of volumes and immunohistochemical studies.

Ключевые слова: Анализ изображений, морфометрия, фактор формы, лимфоциты, ядра лимфоцитов, лимфома, кожа, рак, опухоль, дерматит.

Keywords: Image analysis, morphometry, form factor, lymphocytes, the kernel lymphocytes, lymphoma, skin cancer, tumor, skin, dermatitis.

Постановка задачи

Последнее десятилетие характеризуется интенсивным развитием компьютерных технологий, а также цифровых методов получения и анализа данных о структуре материалов на всех размерных уровнях: от наноструктур до макроуровня объекта. Это привело к революционным переменам направлений стратегических исследовательских инициатив в решении важнейших задач науки, медицины, энергетики и промышленности.

Традиционное материаловедение шагнуло в направлении развития функциональных, «умных», наноструктурированных материалов. Возникли новые технологии – наноэлектроника, мембранные и каталитические технологии, которые предъявляют новые требования к точности, скорости и квалификации анализа.

В области медицины одним из основных направлений анализа микроскопических изображений является компьютеризированная морфометрия клеток и тканей, позволяющая квантифицировать параметры морфологических объектов, выяснить их групповые свойства и связи с целью установления закономерностей морфогенеза в норме и патологии [1.1072; 2. 49; 3. 39-41].

При анализе патоморфологических данных (гистологическое исследование) на светооптическом уровне наиболее широко применяются компьютерные программы, которые позволяют проводить измерения размеров клеток или их ядер с высокой точностью, однако большинство такого рода программ предусматривают «ручное» выделение анализируемых объектов, что связано с высокими временными затратами и не исключают доли субъективной составляющей в общем результате проведенного исследования.

Одним из примеров модификации и оптимизации медицинской морфометрии является автоматизированное решение, представленное в программе SiamsPhotolab™ " *Анализ ядер лимфоцитов* ".

Актуальность

Цифровой микроскоп позволяет получать результаты исследований в динамике, на экране монитора. Благодаря этому исследуется объект в реальном времени, особенно актуально это при изучении живых микроорганизмов и клеток. Результаты исследований могут выводиться на цифровой носитель в виде фотографий или видеоклипов.

Под цифровым микроскопом подразумевается оптикоэлектронная система, которая состоит из обычного микроскопа, видеокамеры, которая имеет высокую степень разрешения.

Одним из преимуществ является также возможность исследования объектов несколькими наблюдателями, что невозможно при использовании обычного микроскопа.

Цифровые микроскопы используются при проведении биологических исследований, в медицине для проведения различных анализов. Этот прибор неизменно присутствует в исследовательских лабораториях и лабораториях медицинских учреждений, однако программное обеспечение медицинской морфометрии в целях дифференциальной диагностики конкретных нозологий разработано недостаточно.

Представленная медико-диагностическая система анализа патогистологических изображений расширяет возможности морфометрических исследований тканей и при дальнейшем развитии и оснащении её интеллектуальным подсказчиком, может быть внедрена в практическую деятельность широкого круга клинических патоморфологических и исследовательских лабораторий.

Для пациентов описываемый метод исследования будет способствовать сокращению сроков постановки диагноза, так как позволяет получить предварительные результаты без дорогостоящих анализов. Например, для установления диагноза злокачественной лимфомы кожи, необходимо проведение иммуногистохимического исследования, стоимость которого не менее 3000 рублей. Подход с использованием цифровой микроскопии и специального программного обеспечения позволят у части больных получить результат с известным доверительным интервалом гораздо быстрее и в рамках патоморфологических лабораторий, оснащенных данным аппаратным комплексом и функционирующих в составе кожно-венерологических и других лечебно-профилактических учреждений. При установлении у пациента высокой вероятности наличия злокачественной патологии - верификация диагноза будет проведена в специализированных онкологических учреждениях.

Введение

В системе SIAMS Photolab™ эффективно сочетаются возможности для реализации потенциала исследователя и разработчика и рациональный подход к изучению материалов. Система повышает производительность лабораторных исследований, сокращая время

выполнения повторяющихся операций. Кроме того, работа значительно ускоряется за счет применения мощных программных инструментов анализа. Настроенные последовательности операций автоматически сохраняются для дальнейшего применения.

Интерфейс программы построен на основе электронных таблиц, обеспечивает наглядность процесса анализа и пошаговый контроль результатов. Минимальная потребность в обучении, библиотека примеров и готовых решений делают общение с программой доступным и удобным для пользователя.

Анализатор изображений нового поколения для автоматизации производственной и научной деятельности по исследованию объектов, материалов, макро- и микроструктур. Продукт обеспечивает точный и воспроизводимый анализ количественных характеристик изучаемых объектов, статистическую обработку результатов исследования, автоматическое создание отчетов, составление атласов и картотек изображений. Система содержит большой набор готовых решений для автоматического решения типовых задач анализа изображений.

SIAMS Photolab™ создан на базе электронных таблиц для работы с изображениями SIMAGIS™. Новая табличная технология работы с изображениями превращает анализ и редакцию изображений в простой и эффективный процесс.

Система поддерживает полный цикл работы с изображением от ввода данных и измерений до публикации в Интернет:

- получение цифровых изображений из различных источников: видеокамер, цифровых фотоаппаратов, сканеров, файлов;
- обработка различных типов данных: изображений, графиков, чисел и др;
- улучшение качества изображений для печати и просмотра;
- проведение измерений и оценка параметров изображений;
- множество разнообразных форм отчетов;
- вывод на печать, подготовка документов в форматах HTML, PDF, MicrosoftWord иExcel.

Функциональные возможности SIAMS Photolab:

- более 200 функций для обработки различных типов данных: изображений, графиков, чисел и др;
- передача данных анализа и изображений в базу данных;
- простота создания алгоритмов анализа, наглядность процесса анализа и пошаговый контроль результатов благодаря технологии электронных таблиц для работы с изображениями SIMAGIS™;
- расширение функциональных возможностей программы за счет подключения специализированных решений;
- удобство работы и простота освоения программы;
- дружелюбный и интуитивно понятный интерфейс.

Готовые решения – это специализированные электронные таблицы SIAMS Photolab, предназначенные для автоматизации анализа изображений и автоматического формирования отчетов по результатам анализа. Таблица **Готовое решение** выполняет необходимые действия с изображением в автоматическом режиме по заданному алгоритму. Алгоритм осуществляет полный цикл действий, необходимых для решения задачи на серии изображений.

Готовое решение "Анализ ядер лимфоцитов".

Одним из таких готовых решений является Анализ ядер лимфоцитов.

Данное решение позволяет решать задачи по компьютеризированному анализу патогистологических изображений для дифференциальной диагностики злокачественных лимфом кожи и хронических дерматозов.

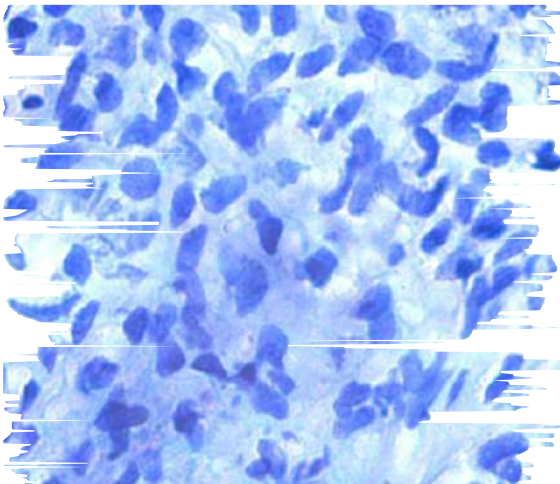
Иными словами, на микроскопе смотрится подготовленный образец (срез кожи пациента, окрашенный специальными красителями, зажатый между предметным и покровным стеклами)

Благодаря цифровой камере, установленной на микроскоп, изображение передаётся на компьютер, для дальнейшего анализа. При захвате кадра из потока видео предоставляется

возможность установить масштаб на изображении. Это достигается путем градуировки системы, во время которой на каждом объективе вычислялся размер 1 пикселя в микрометрах, с использованием объект-микрометра. После проведения данных манипуляций мы получаем изображение кожи пациента, с подкрашенными ядрами лимфоцитов. Причем на этом изображении будет установлен масштаб, благодаря которому мы сможем вычислить различные размерные характеристики, такие как площадь, периметр и прочие.

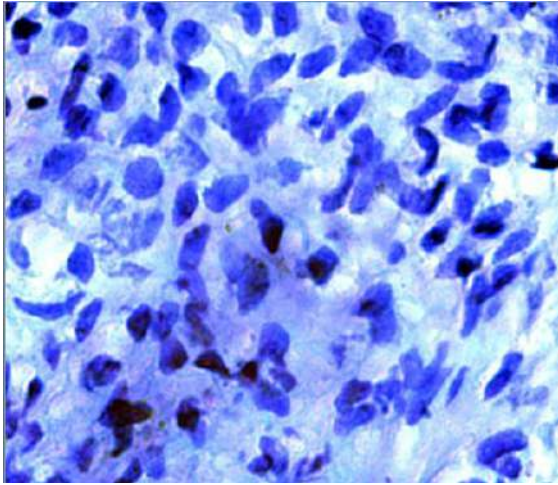
Обработка происходит за 4 основных этапа:

- Предобработка;
- Выделение;
- Постобработка;
- Измерения.

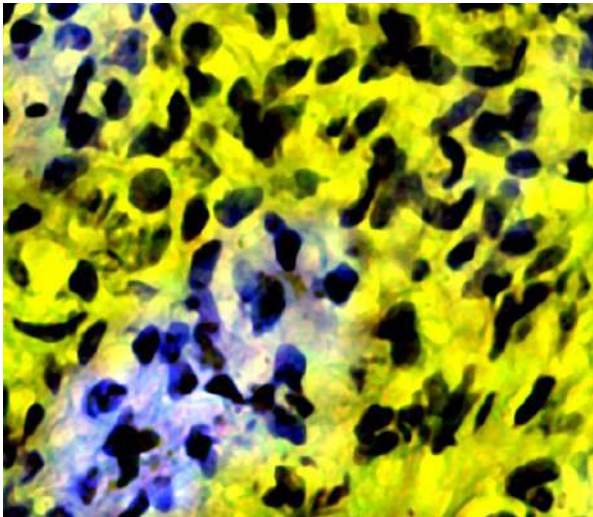


Фрагмент исходного изображения:

Предобработка заключается в контрастировании исходного изображения. Полученное, более контрастное изображение:



Регулируя различные настройки, можно получить немного другую картинку, если проводить контрастирование по цветовым каналам.



Этап выделение частиц. На данном этапе происходит непосредственное выделение частиц.

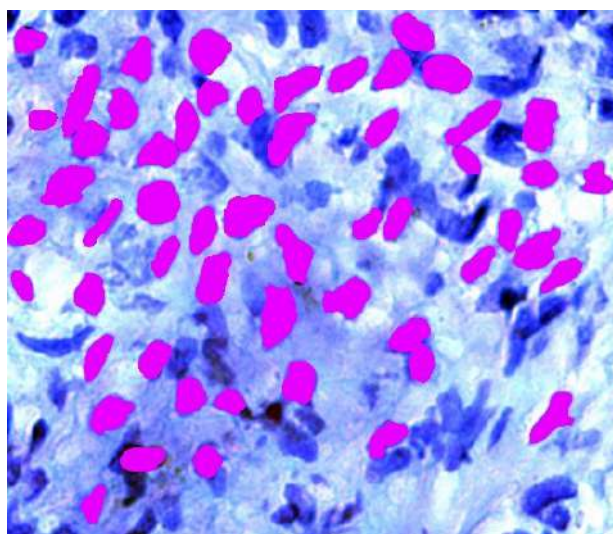
Это реализуется с помощью операции **Пороговая сегментация**,
В итоге получается вот такое изображение:



Данное изображение является бинарным, то есть состоит только из белых и черных пикселей. Выделение происходит по интенсивности цвета на изображении.

На полученном изображении будет считаться количество белых пикселей и, зная размер одного пикселя, будет установлен реальный размер интересующего объекта, а затем посчитаны необходимые характеристики.

Для того, чтобы пользователю можно было оценить проделанную работу по выделению интересующих частиц, используется функция наложения маски, входными аргументами которой являются два изображения – исходное (то есть то, на которое будет накладываться маска) и бинарное (где белые пиксели – интересующие нас объекты, накладываются на исходное изображение с нужной прозрачностью и цветом, а черные пиксели будут игнорироваться и вместо них будет просто прозрачный цвет). Таким образом, мы получим изображение с наложенной маской:



на которой наглядно видны интересующие объекты.

Дальше, после того как будет получена маска нужных нам объектов, программа произведет необходимые измерения:

Фаза Long	
Число ядер	15
Средняя площадь, кв.мкм	1,16
СКО площади, кв.мкм	0,83
Средний периметр, мкм	4,45
СКО периметра, мкм	1,60
Средний D Фере, мкм	1,40
СКО среднего D Фере, мкм	0,51
Средний круглый фактор формы	0,82
СКО круглого фактора формы	0,03
Средний фактор удлинения	0,49
СКО фактора удлинения	0,044
Средний фактор изрезанности	0,98
СКО фактора изрезанности	0,02

Индекс ядерного контура	4,32
СКО индекса ядерного контура	0,16

Распределение средних D Фере ядер лимфоцитов

Также в данном готовом решении используется многофазный анализ, то есть полученная маска частиц разделяется по 3 фазам. Каждая фаза определяется своими индивидуальными особенностями.

2.1 Фаза *dark*.



Объекты, отнесенные к этой фазе, отличаются наименьшей интенсивностью.

2.2 Фаза *long*.



Объекты, отнесенные к данной фазе, отличаются наиболее вытянутой (удлиненной) формой, и отфильтровываются по фактору удлинения $F_1 = \frac{D_{\text{отд}}}{D_{\text{max}}}$ (**ElongationFactor**), из числа частиц, не входящих в состав фазы **dark**.

2.3 Фаза *light*.

Объекты, отнесенные к данной фазе, являются наиболее светлыми, и характеризуются более округлой формой, что отфильтровывается по $F_s = \frac{2 \cdot \sqrt{\pi \cdot S}}{P}$ круглому фактору формы (**ShapeFactor**), из числа частиц, не входящих в состав фаз **dark** и **long**.

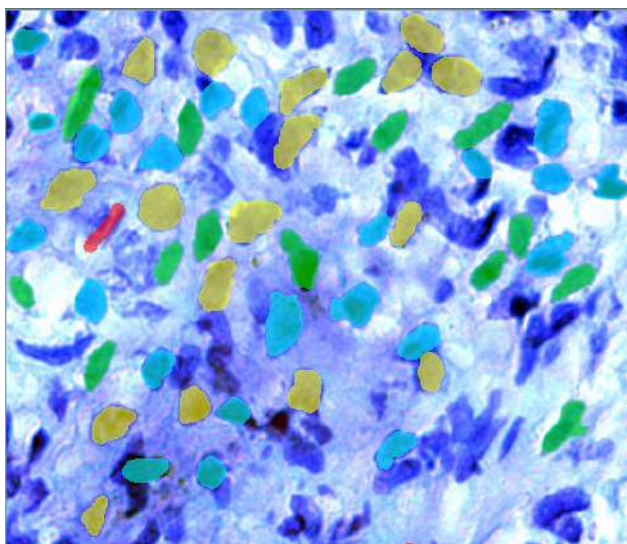
2.4 *Refuse*.

В эту фазу входят все оставшиеся частицы, которые не входят ни в одну из фаз **dark**, **long** или **light**.

Это частицы, которые могут являться темными, похожими с фазой **dark**, но по своей форме они являются неправильными, то есть:

- представляют собой слипшиеся частицы, которые разрезать не получается;
- частицы, которые представляют собой наложившиеся друг на друга ядра;
- прочие неклассифицированные объекты.

Изображение, содержащее три фазы:



Результаты и выводы

С использованием представленной медико-диагностической системы анализа патогистологических изображений, реализованной в программе SiamsPhotolab™ "Анализ ядер лимфоцитов", проведено сравнительное исследование более 50 образцов кожи больных воспалительными дерматозами, злокачественными лимфомами кожи и здоровых лиц (контрольная группа).

На основании сравнительных морфометрических исследований характеристик лимфоидного инфильтрата и ядер составляющих его лимфоцитов в коже больных, разработан способ диагностики, дифференцирующий хронический воспалительный дерматоз и злокачественную лимфому кожи. В условиях недостаточной информативности клинической и морфологической симптоматики, когда установление диагноза злокачественной лимфомы на ранних этапах развития и ее дифференцирование с проявлениями взрослой фазы атопического дерматита затруднено, установленные морфометрические характеристики могут служить дополнительным объективизированным критерием в дифференциальной диагностике указанных заболеваний [4.350].

Разработанная система подлежит дальнейшему внедрению в практическую деятельность патоморфологических подразделений клиничко-диагностических лабораторий медицинских организаций, оказывающих специализированную медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология» в Российской Федерации, может быть использована в других медицинских организациях, оказывающих медицинскую помощь и осуществляющих диагностические мероприятия больным хроническими воспалительными дерматозами и злокачественными лимфомами кожи.

Коммерциализация

Данное программное обеспечение разрабатывалось и модернизируется совместно с ФГБУ «Уральский научно –исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии» Минздрава России, сотрудники которого вносят предложения по корректировке ПО в целях повышения воспроизводимости и специфичности метода морфометрического исследования клеток, тестируют версии программы.

Данные по стоимости: ориентировочная стоимость данного продукта около €2500.

В дальнейшем планируется окончательная доработка программы, использование ее в практике дифференциальной диагностики заболеваний кожи, и, в случае успешного ввода в эксплуатацию, запуск в массовые продажи.

Потенциальными потребителями представленной программы могут быть большинство имеющихся патоморфологических лабораторий в учреждениях дерматовенерологического профиля, в том числе оказывающих высокотехнологичную

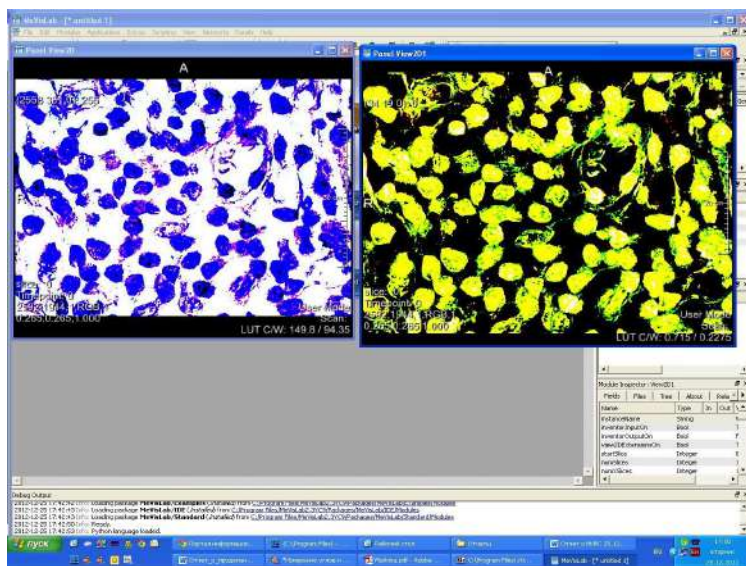
специализированную помощь, а также вновь создающиеся практические и научно-исследовательские лаборатории.

По предварительным оценкам таких лабораторий в территориях Российской Федерации может быть около двухсот.

Аналоги MeVisLab

MeVisLab - гибкое и простое в управлении средство для обработки и визуализации медицинских данных с современным интерфейсом. Помимо общих алгоритмов обработки изображений и графического подхода к программированию, MeVisLab включает в себя модули для сегментации, количественных морфологических оценок и функционального анализа. Визуальный подход позволяет выполнить индивидуальную обработку изображений посредством взаимодействия модулей, которые образуют комплекс по визуализации изображений.

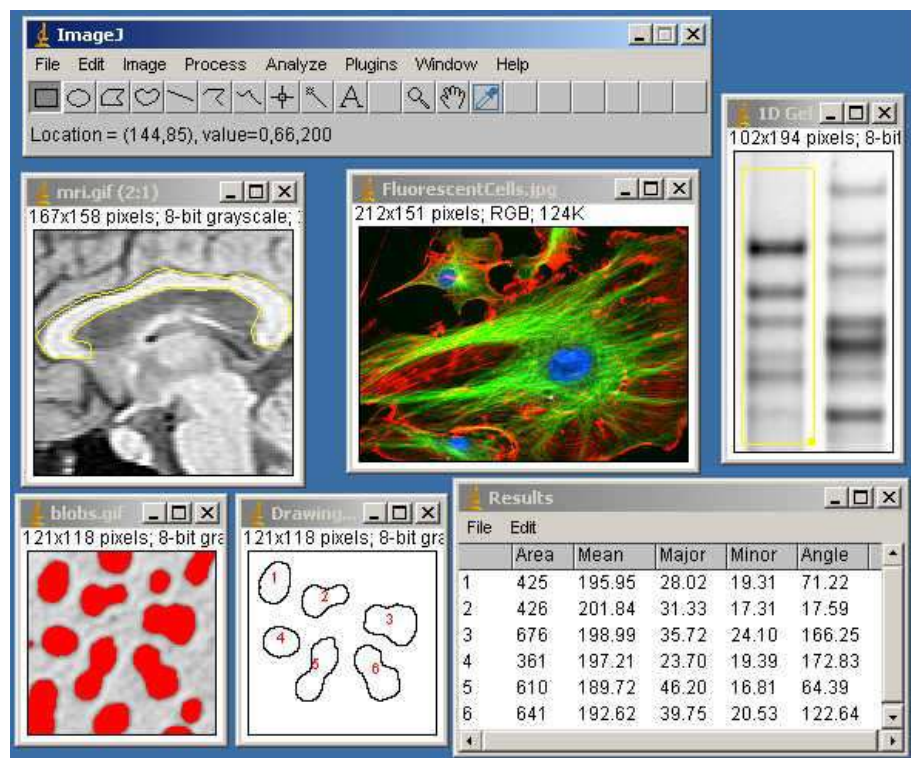
Недостатки: нет возможности пакетной обработки, прямой связи с микроскопной камерой, прямой связи со сканирующим столиком, для получения панорамных изображений.



ImageJ

ImageJ (Image Processing and Data Analysis in Java) - программа специально разработана для анализа медицинских и биологических изображений. Эта программа имеет открытый код и свободно распространяется.

Недостатки: нет возможности пакетной обработки, прямой связи с микроскопной камерой, прямой связи со сканирующим столиком, для получения панорамных изображений. Функционал довольно широкий, но отсутствуют необходимые плагины, разработанные в компании Siams. Возможно их дописание, но это требует определенных затрат.



Литература

1. Гонсалес, Р. Вудс . -Цифровая обработка изображений // Техносфера. - 2006. - 1072 с.
2. Кардашова З.З. - Возможности витальной компьютерной морфометрии в диагностике злокачественных лимфом кожи / З.З. Кардашова, И.А. Василенко, С.В. Бабакова, В.Б. Метелин, Г.В. Овсянникова // Вестник последиplomного мед. образования. - М. - 2006. -№3-4. - с.49.
3. Кардашова З.З. - Дерматоонкология: компьютерная морфометрия в диагностике заболеваний / З.З. Кардашова, Е.М. Лезвинская, И.А. Василенко, Г.В. Овсянникова // МОНИКИ, материалы I НПК - Цитометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты - 2008. - С. 39-41.
4. Кунгуров Н.В., Кохан М.М., Ку克林 И.А., Сафонова Г.Д., Кадушников Р.М. - Морфометрическая характеристика ядер дермальных лимфоцитов у больных atopическим дерматитом и Т-клеточной злокачественной лимфомой кожи. // Фундаментальные исследования. - 2012. -№ 8 (ч. 2). - С. 350-354.
5. Овсянникова Г.В. - Злокачественные лимфомы кожи // Consilium medicum. / Овсянникова Г.В., Лезвинская Е.М. - 2005. - № 07. - С. 7-14.
6. Bourne P., Rosendahl C., Keir J, Cameron A. - A diagnostic algorithm for skin cancer diagnosis combining clinical features with dermatoscopy findings // Research Dermatol Pract Concept. - 2012. - Vol.2(2) . - P.12.
7. Jerant A.F., Jonson J.T., Sheridan C.D., Caffrey N.J. - Early detection and Treatment of Skin Cancer // Amer. Fam. Physician. - 2000. - Vol.15, №62(2) . - P.357 - 368.
8. Lookingbill D.P., Marks J.G.- Principles of clinical diagnosis // Dermatology / Eds. S.L.Maschella, H.L.Hurley. 3th ed. - Philadelphia: W.B. Saunderson Co. - 1992. - P.16 - 239.
9. Meyer N., Mazereeuw-Hautier J., Launay F., Lamant L., Paul C. - Cutaneous T cell lymphoma complicating severe atopical dermatitis. Is making a diagnosis the main challenge? // Dermatology. - 2009. -Vol. 218(2). -P. 168-171.
10. Yeh Y.A., Hudson A.R., Prieto V.G., Shea C.R., Smoller B.R.- Reassessment of lymphocytic atypia in the diagnosis of mycosis fungoides // Mod Pathol. - 2001. - Vol. 14(4). - P. 285-288.

Электронные ресурсы (Ресурсы Интернет)

11. Анализатор фрагментов микроструктуры твёрдых тел SIAMS 700
http://siams.com/products/siams700/siams700_mod.htm
12. Гельфонд М.Л. Дифференциальная диагностика опухолей кожи в практике дерматологов и косметологов //Практическая онкология <http://www.practical-oncology.ru/arh050/02.pdf>

13. Кунгуров Н.В. Злокачественные новообразования кожи: заболеваемость, ошибки диагностики, организация раннего выявления, профилактика / Кунгуров Н.В., Малишевская Н.П., Кохан М.М., Игликов В.А. <http://www.urniidvi.ru/files/Bakurof.pdf>