

BME Folyamatszabályozási Tanszék, Onkopathológiai Kutató Intézet
és
Egyesült Izzólámpa és Villamossági RT

Daganatsejtek kromoszómainak számítógépes osztályozása

Hajnal Miklós, Pályi István és Székely György

1. Bevezetés - a feladat megfogalmazása

A daganatsejtek jellemző kromoszóma száma (stem line) rendszerint eltér az eredeti, nem malignus szövetétől, illetve a fajra specifikus számtól. A számbeli eltérés azonban nem mindig szükségszerű, gyakran előfordul azonos kromoszóma szám (diploidia, vagy pszeudodiploidia). Gyakori jellemzője a daganatsejt populációnak a heterogenitás, amely számbeli szórást, heteroploiditást jelent. Számos esetben megfigyelhető olyan kromoszómák megjelenése is, amelyek az eredeti kariotípusban szereplő kromoszómáktól alakilag eltérnek. Ezek az ún. markerek.

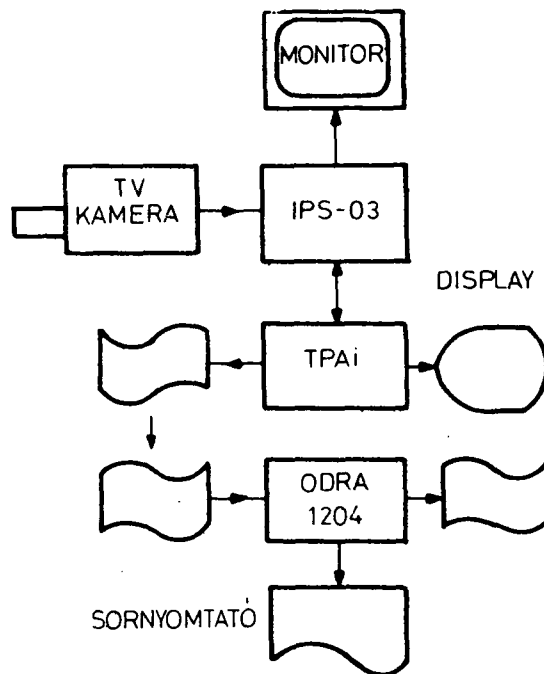
A kromoszóma számolás az idiogram elkészítése céljából fárasztó, időigényes munka. A marker kromoszómák felismerése is gondot okozhat. Mind a számolást, mind pedig a kromoszómák osztályozását meggyorsítja és pontosabbá teszi a számítógép alkalmazása - különösen tömeges feldolgozás esetén.

2. Vizsgálati módszer

A kromoszómák számítógépes osztályozása céljából vizsgálatokat kezdtünk egy kísérletes egérdaganattörzsön. A sejtenyészetben növekvő daganatsejtek jelzése P (Pályi és mtsai, 1977.(1)). Ezeket egy ascites formában növekvő egér lymphomából (Németh és Kellner, 1960. (2)) stabilizálták in vitro. Az eredeti daganatsejtek hiperdiploidak, jellemző kromoszóma-számuk 43, közöttük egy jellegzetesen nagy metacentrikus markerrel. Az egér normális sejtjeiben 40 kromoszóma található, és mindegyik telocentrikus (3). A P₀ sejtvonalban 3-7 marker kromoszómát találtunk. Ezért ennek a daganatsejtnak a kromoszómái kedvező objektumnak bizonyultak a számítógépes osztályozás kidolgozására (4), (5).

A számítógépes feldolgozás céljára metafázisban fixált Giemsa-festésű kromoszómák keményre hívott fényképeit használtuk. A képek ál-

tal hordozott analóg információ digitalizálását és számítógépbe juttatását a BME Folyamatszabályozási Tanszéken kifejlesztett IPS-03 képfeldolgozó berendezéssel végeztük (6). (Az IPS érzékelője zárt láncú, kötött soros TV kamera, felbontóképessége 512^2 képpont, 8 szürkeségi szint.) Az IPS adatformátumai közül a mátrix-reprezentációt használva a kromoszómák digitális képének eltárolását és kódolását TPAi számítógép végezte, innen az adatok a szűkös memóriakapacitás miatt lyukszalag közvetítésével ODRA 1204 számítógépbe kerültek öt további feldolgozás és az eredmények kiírása céljából (1. ábra).

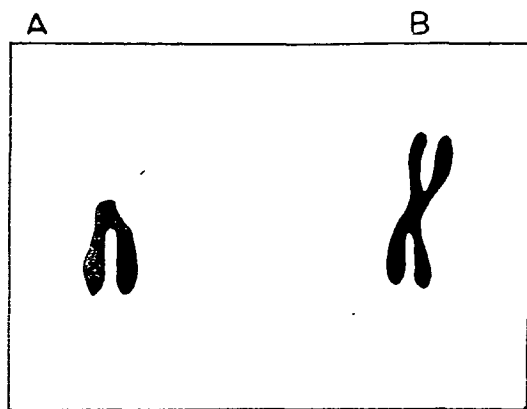


1. ábra

Konfiguráció

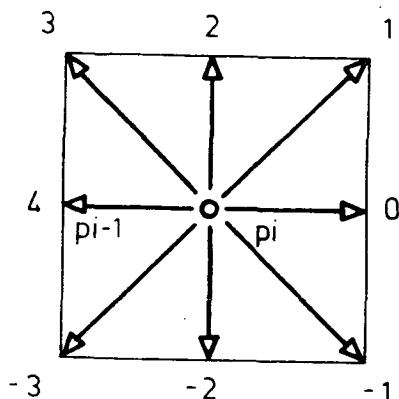
3. Felismerési eljárás

A felismerendő kromoszómák idealizált képét a 2. ábra mutatja. A felismerő algoritmus fő részei: lényegkiemelés (amely magában foglalja a kódolást) és az erre alapozott szintaktikus alakfelismerő eljárás (5. ábra).



2. ábra

- A. Normál telocentrikus
- B. Marker kromoszóma



3. ábra

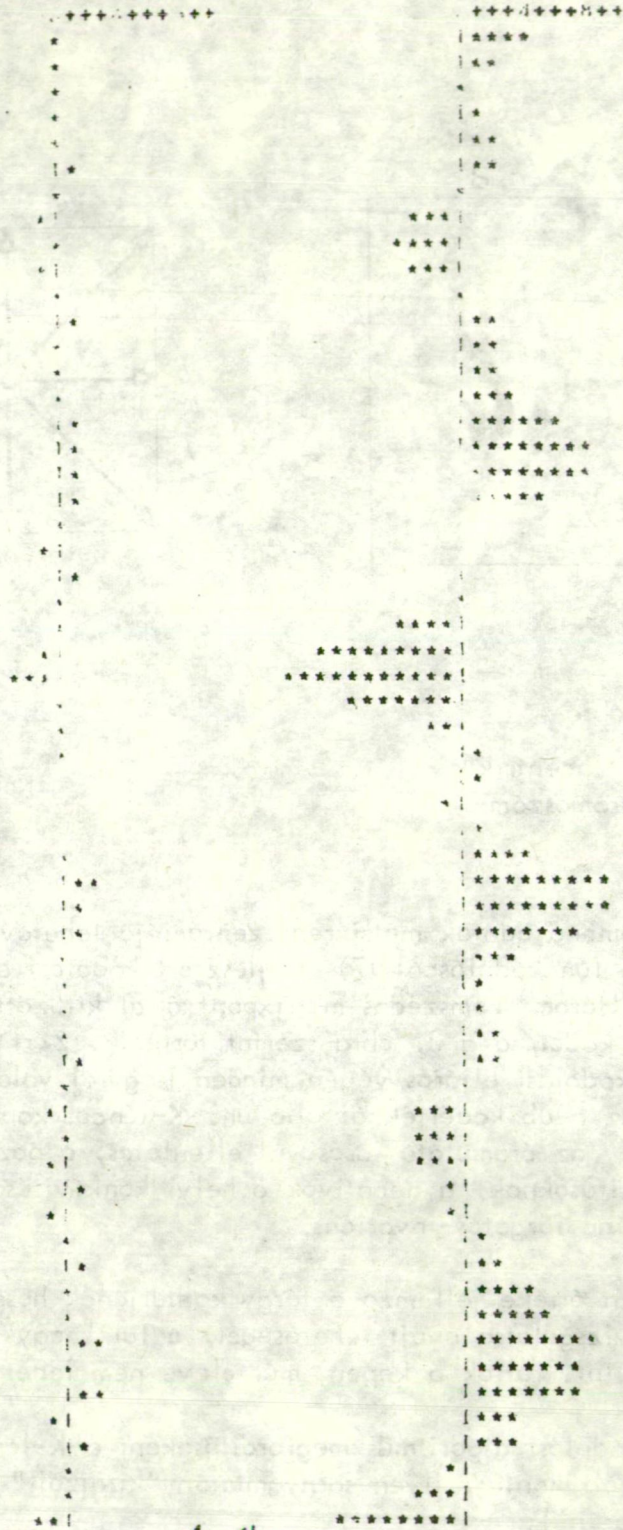
Kódolás

A bemenő adatok mátrixreprezentációja lehetővé teszi egy, a Freeman-féle lánckódolásból (7) kifejlesztett kódolási eljárás (8) alkalmazását. Három szomszédos mátrixpont által kitűzött két szakasz közötti szög kódolása a 3. ábra szerint történik. Zárt alakzatról lévén szó, a kódolási eljárás végén minden tárgyról valamilyen n hosszúságú, azaz n db kódértékből álló ún. K-láncot kapunk. Ha a körüljárási irány az óramutató járásával ellentétes, a pozitív kódok a helyi konvexitásoknak, a negatívak a helyi konkávitásoknak felelnek meg. A K-lánc forgatás-invariáns.

Az n értéke jellemző a tárgy konturjának hosszára: ez egyfajta hihetőségvizsgálatra nyújt lehetőséget, a túl "nagy", ill. a "túl kicsi" tárgyak (pl. foltok a képen) már eleve nem lehetnek kromoszómák.

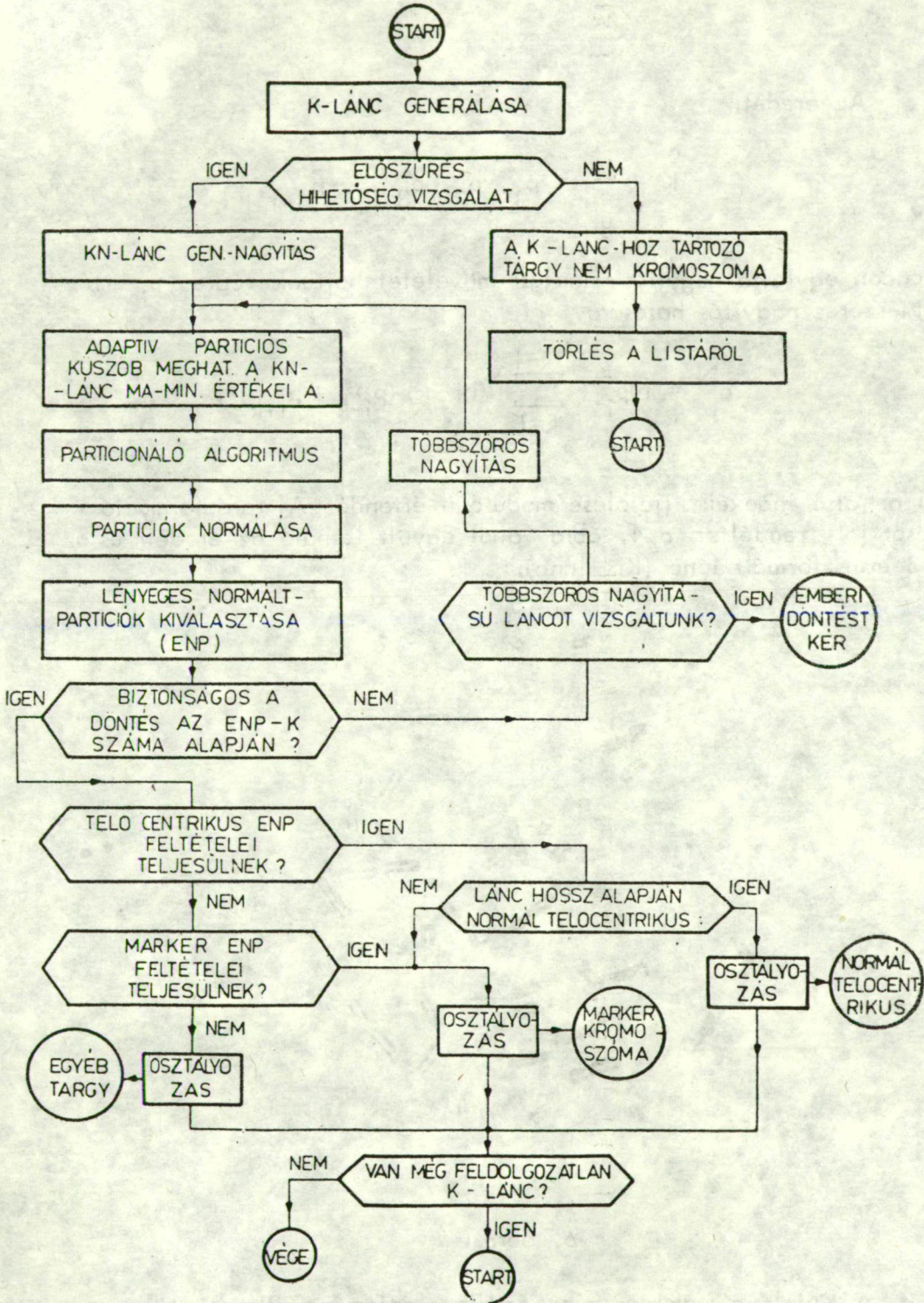
(A kódolási algoritmus megfordításaként a K-láncból visszaállítható a kvantált kontur, ilyen sornyomatón "kirajzolt" kromoszóma látható a 7. ábrán.)

A TÁRSY GYORSÍTÓ : 1



4. ábra

K lánca és harmadrendű KN lánca



5. ábra
Felismerési algoritmus

Az eredeti

$$\sum_{i=1}^n p_i = p_1, p_2, p_3 \dots p_{n-1}, p_n \quad /1/$$

K-láncon egyfajta nagyítási-simitási műveletet hajtunk végre. p_i értéke N -szeres nagyítás hatására

$$p_i^N = Np_i + \sum_{k=1}^{N-1} (N-k) (p_{i-k} + p_{i+k}), \quad /2/$$

ahol az alsó indexek kijelölése modulo n értendő. A transzformáció hatását jól szemlélteti a 4. ábra, ahol együtt látható az eredeti és az $N=3$ transzformált lánc (KN-lánc).

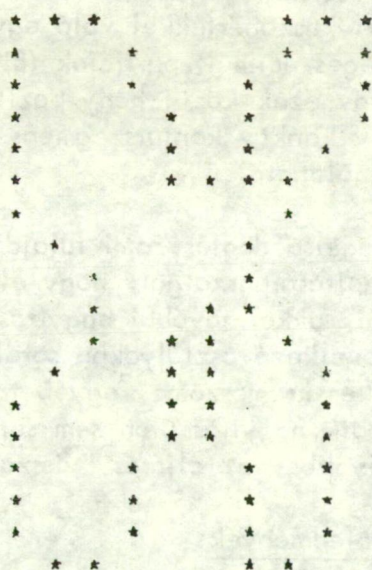


4. ábra

A KN-lánc max. és min. értéke alapján megállapítható egy képzelt tengely, azaz egy olyan küszöbérték, amely a láncot partíciókra bontja. Egy partíciót alkotnak a "tengely" egyazon oldalára eső, egymást követő láncértékek. Természetesen a particionálást is moduló n kell végrehajtani. A kapott partíciók már a kvantálási zajoktól mentesen írják le az eredeti kontur konvex és konkáv részeit.

A 3 SZAMU KLP
FELDOLGOZAS

AZ ELŐSZÖRÉS VAGY NIMETOSLEGVIZSGALAT EREDMÉNYE:
1 ALAKZAT MÉRTE MIATT ELEVE BEN KROMOSZÓMA
A TÁRGY SORSZÁMA :



7. ábra

K láncból rekonstruált kromoszóma

A particiókat két mérőszámmal jellemezhetjük: a KN-lánc egy particiót alkotó tagjainak összegét nevezzük a partició súlyának, a partició hosszán pedig a benne szereplő lánctagok számát értjük. A súly közelítőleg a szóban forgó konturdarab görbültségére, a hossz pedig az adott görbültségű szakasz eredeti hosszára jellemző.

Bevezetve egy normálási műveletet, és azt a KN-lánc összes particiójára végrehajtva, eredményül olyan NP normált partició értékeket kapunk, amelyek abszolút értéke annál nagyobb, minél jellegzetesebb a particiónak megfelelő konturdarab a kromoszóma teljes határvonala "szempontjából".

A normált partició:

$$F'_c(w, s) = w \cdot \frac{s}{n_c} , \quad /3/$$

ahol w a partició sulya, s a partició hossza, n_c pedig a particióhoz tartozó KN-lánc hossza.

A szintaktikus elemzéshez szükséges alkotórészek meghatározásában az utolsó lépés: a jellegzetes, normált particiók közül ki kell választani a felismerés szempontjából lényegeseket. Ezt tanulással megállapított küszöbértékkel való egybevetéssel oldottuk meg. Az így kapott lényeges normált particiók (ENP) száma alapján, ill. abból kiindulva, hogy ezek közül hány pozitív konvex konturszegmens, és hány negatív konkáv konturszegmens van, az elemzés már egyszerű döntésekkel megoldható.

A legelső döntés, ami tulajdonképpen nem is elemző jellegű, annak megállapítására szolgál, hogy elegendően biztonságos lesz-e a döntés. Ha nem, akkor további nagyításra van szükség. Az elemzés a tárgyakat a következő osztályokba sorolhatja: normál telocentrikus kromoszóma, marker kromoszóma, egyéb tárgy. Azokat az alakzatokat, melyek még a második nagyítás után sem sorolhatók elegendő biztonsággal az említett osztályokba, az eljárás "visszadobja az embernek".

4. Eredmények

Az előző pontban ismertetett eljárást 5 modulból álló programrendszerrel realizáltuk, ALGOL nyelven. A programrendszer belövésére és az adaptív küszöbértékek kezdeti értékeinek meghatározására idealizált bemenő alakzatokat használtunk fel, amelyek között geometrikus alakzatok és képi zajok is előfordultak a kromoszóma-képek mellett.

A kísérleti futtatások során az Onkopathológiai Kutató Intézetben készült felvételekből indultunk ki, melyek közül egyet mutat a 6. ábra. A feldolgozás első lépéseként az IPS-TPAi konfigurációval on-line módon generáltuk a kromoszómák K-láncait, amelyek az off-line felismerő eljárás bemeneteként szolgáltak. A korlátozott hardware lehetőségek miatt a teljes kép feldolgozása csak többszöri bevitellel volt megoldható. A programellenőrzés vagy -kétely esetén - emberi döntés céljára, kirajzoltatja a szóban forgó alakzatot (7. ábra), és kiírja a részeredményeket is. A próbafuttatások 93-95 %-os osztályozási pontosságot eredményeztek. Az eredménylista egy részletét mutatja a 8. ábra. További részletek (5)-ben találhatóak.

A PARTICIOK RENDRE AZ ALABBIAK:

16 -1

MN[N] ES MP[P] ERTEKEK: 1 18

A NORMALT PARTICIOK :

15.16 -.05 *** PARTICIO KONTROLL

O.K.***NUMBER OF OBJECT: C= 1 NUMBER OF ESSENTIAL NORMALIZED
PARTITIONS: UK[C]= 1

POSITIVE: PK[C]= 1

NEGATIVE: NK[C]= 0

A 55 SZAMU KEP
FELDOLGOZASA

AZ ELOSZURES VAGY HIHETOSEGVIZSGALAT EREDMENYE:

2 ALAKZAT MERETE MIATT ELEVE NEM KROMOSZOMA

A KEPEN LEVO KROMOSZUMAK SZAMA : 4

EBBOL MARKERKROMOSZUMA : 2

VEGEN KISZURT

EGYEB TARGYAK : 0

FUTASI IDJ : 0 PERC 10 SEC

8. ábra

Protokol részlet

Összefoglalás

Az előadás olyan számítógépes szintaktikus módszert ismertet, amely Giemsa-festésű kromoszóma-felvételek meghatározott szempont szerinti gyors, tömeges kiértékelésére alkalmas. A módszer lényege a konturok forgatás-invariáns differencia-lánckódolása, a kódlánck szűrése és nagyítása, particiója és normálása, majd a lényeges normált particiók (ENP) kiválasztása tanult küszöbértékek révén. Az ENP-k az eredeti alakzatok igen tömör morfológiai reprezentációját adják, melynek révén a kromoszómák jól megkülönböztethetők. Az eljárás alkalmazása egy ascites formában növvő egér lymphomából stabilizált P₀ daganatsejt normál telocentrikus és metacentrikus marker kromoszómáinak felismerése kapcsán kerül bemutatásra.

Irodalom

- (1) Pályi, I., Oláh, E., Sugár, J.: Drug sensitivity studies on clonal cell lines isolated from heteroploid tumour cell populations. *I.Int. J. Cancer*, 19, 1977, p. 859-865.
- (2) Németh, L., Kellner, B.: In Form von Ascites transplantierbare leukämische Lymphadenose bei Mäusen. *Naturwissenschaft*, 47, 1960, p. 468-474.
- (3) Schnedl, W.: The karyotype of the mouse. *Chromosoma, Berl.*, 35, 1971, p. 111-116.
- (4) Rosenfeld, A. ed.: *Digital Picture Processing*. Academic Press, New York, 1976.
- (5) Hajnal, M., Pályi, I., Székely, Gy.: Quantative Studies on Malignant Tumour Cells, Using Computerized Chromosome Analysis. (Megjelenés alatt)
- (6) Hajnal, M., Loványi, I., Vajta, L.: On-line Digital Image Processor Using a CCTV Camera Input and Its Applications. Preprints of International Conference on Optical Computing in Research and Development (Visegrád, 4-9 Oct, 1977) p. 108-125.
- (7) Freeman, H.: On the digital computer classification of geometric line patterns. *Proc. Natl. Electronic Conf.*, 18, p. 312-323.
- (8) Gallus, G., Regoliosi, G.: Un modello decisionale di riconoscimento applicato ai contorni cromosomili. *Applicazioni bio-medicae del calcolo elettronici* 2., 1973, p. 69-82.