
АЛГОРИТМЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ В ИНФОРМАЦИОННОМ ОКРУЖЕНИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ*

К.Б. Гордон¹, А.А. Катушкина², Е.А. Лукьянова¹,
И.И. Бабиченко², В.Д. Проценко¹

¹Кафедра медицинской информатики

²Кафедра патологической анатомии

Медицинский факультет

Российский университет дружбы народов

ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

В условиях современной науки автоматизация проводимых исследований является необходимым условием эффективного выполнения исследовательской работы. В российских медицинских вузах данный аспект реализуется не в полной мере. Актуальным вопросом медицинского образования является внедрение и активное использование новых инструментов автоматизации исследования, для чего необходима разработка принципов и алгоритмов работы с ними.

Ключевые слова: морфологический эксперимент, автоматизация, количественный анализ.

Алгоритм построения информационного окружения морфологического исследования состоит из нескольких основных этапов. Первым этапом является определение уровня исследовательской работы. Основные уровни можно охарактеризовать как студенческие (курсовые и дипломные работы), постдипломные (кандидатские и докторские диссертации) и собственно научные исследования (гранты, клинические исследования и др.).

Для каждого уровня требуется специфическая информация. Так, для соискателя степени кандидата наук необходимо знать, по каким дисциплинам необходимо пройти аттестацию для допуска к защите диссертационной работы. После выявления данного уровня работы в систему заносятся данные о направлении работы, название, цель, задачи, аннотация, руководители и исполнители, а также, что очень важно, информация о сроках выполнения как всей работы, так и ее отдельных этапов.

На следующей ступени по краткому описанию работы, полученному на предыдущем этапе, определяется основной объект исследования: человек, биологический вид, какой-либо другой материал. Если объектом является человек, то дополнительно будет необходима информация о диагнозе, сопутствующих заболеваниях. Если объектом является какой-либо другой вид, то необходимо предусмотреть сбор информации о параметрах, специфичных для данного вида, например, линия для крыс.

Затем выбираются параметры, необходимые для проведения морфологических исследований.

Зная цель, объект, параметры исследования и другие характеристики, частично описанные выше, можно выбрать методы подготовки и обработки материала,

* Данная работа выполняется в рамках Федеральной целевой программы «Научные и педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 годы».

приборы и программное обеспечение, позволяющие наиболее оптимально провести исследования и получить качественный результат.

На рис. 1 приведена общая схема построения информационного окружения морфологического исследования.

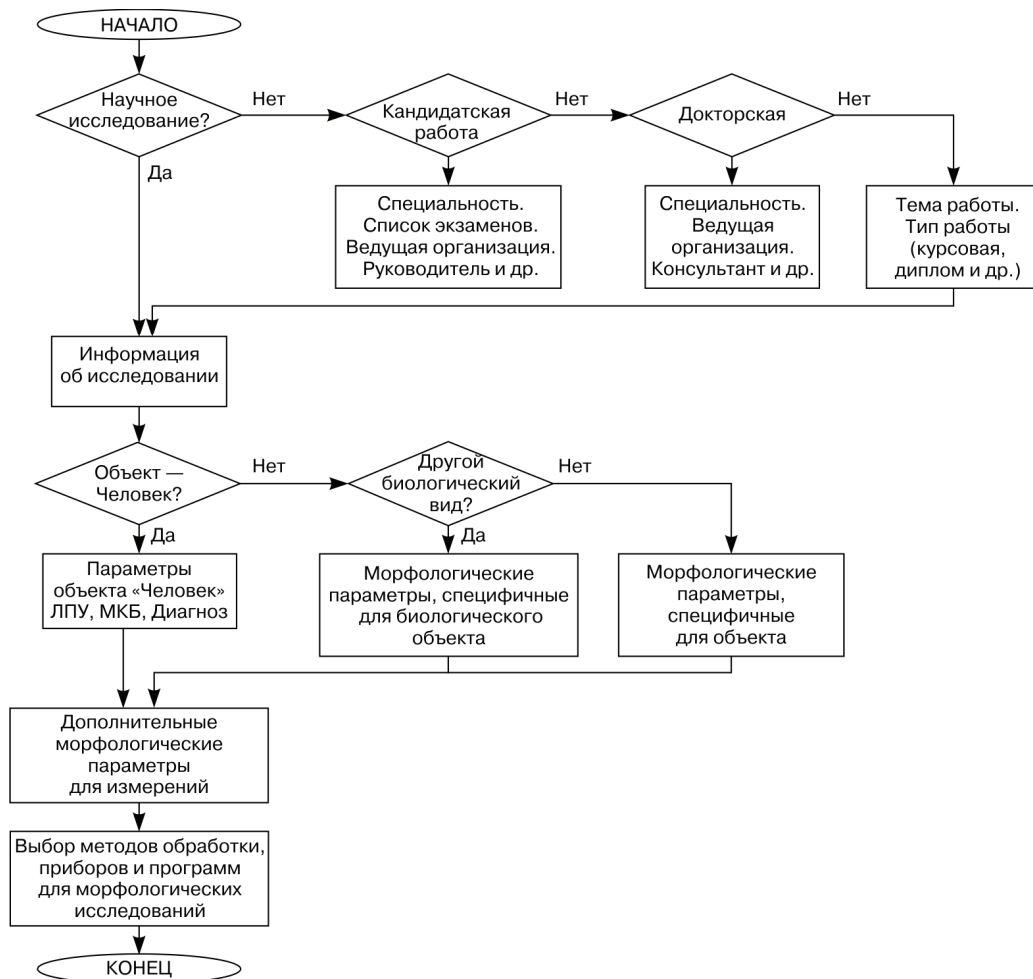


Рис. 1. Алгоритм построения информационного окружения морфологического исследования

Поскольку при проведении научных работ исследователи используют специализированное оборудование, для приведения результатов исследования к стандартному виду, который может быть обработан как можно большим числом имеющихся программ, необходимо адаптировать сами данные или, если это возможно (например, с помощью макросов), адаптировать непосредственно программное обеспечение. Ниже приведен пример получения результатов исследования в виде «табулированного текста», т.е. файла, данные в котором разделены символом табуляции.

В качестве средства обработки полученных в морфологическом эксперименте данных мы использовали свободно распространяемое программное обеспечение

«ImageJ», предоставленное для использования на сайте <http://rsb.info.nih.gov/ij/> [1]. Данная программа представляет собой платформонезависимый дистрибутив, написанный на языке JAVA и предназначенный для обработки, преобразований и широкого спектра аналитических процедур над цифровыми изображениями. Особенностью данного программного продукта является то, что исследователи всего мира разрабатывают и выставляют на указанном сайте модули, предназначенные как для рутинных операций над изображениями, так и для сложных видов фильтрации, преобразований и вычислений.

Ниже приводится пример адаптации данной программы к обработке и анализу морфологического изображения с целью подсчета количества ядер эпителиальных клеток, выделенных иммуноморфологическими маркерами.

Последовательность операций для анализа эпителиальных клеток.

1. Калибровка измерительной части программы, осуществляемая с помощью подключаемого модуля (plug-in, плагина) в разделе меню “Analyze → Set Scale”.

2. В качестве тест-объекта для пространственной калибровки программы можно использовать снимок линейки объект-микрометра с теми же параметрами увеличения, которые были при съемке исследуемых объектов.

3. С помощью инструмента “Straight line selections” выделяется участок на линейке стандартного объекта-микрометра с ценой деления 0,01 мм. Таким образом вычисляется расстояние в пикселях (“Distance in pixels”). Затем в меню “Analyze → Set Scale”, в окне “Known distance” задается заранее известный размер (в мкм) с учетом цены деления линейки. Процедуру проводили несколько раз для получения усредненных данных и снижения ошибки измерений.

4. Открывается исследуемое изображение (меню “File → Open”) (рис. 2).

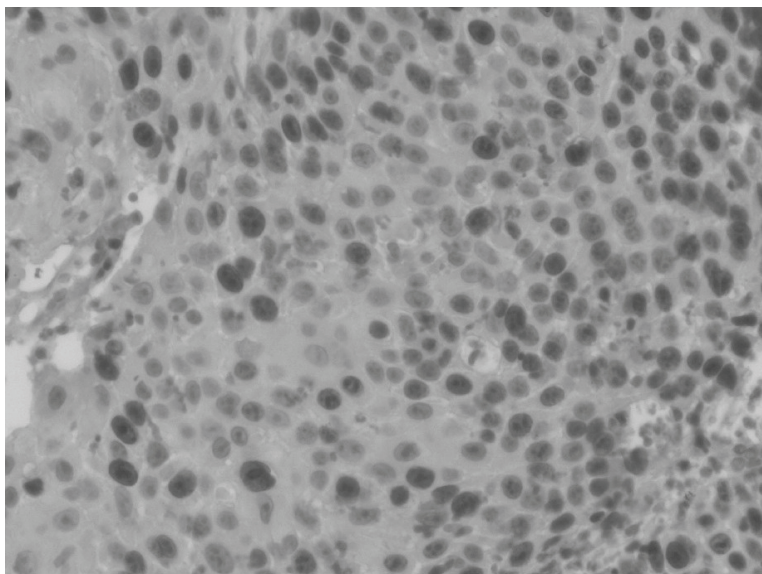


Рис. 2. Иммуногистохимическая окраска клеток плоскоклеточного рака на белок Ki 67

5. Проводится разделение изображения на цветовые каналы (“Image → Color → Split Channels”). Выбирается изображение зеленого канала “Green Channel” — как наиболее контрастное и качественно отражающее детали объекта.

6. При необходимости: дальнейшее увеличение контрастности изображения (меню “Process → Enhance Contrast”).

7. Изображение дублируется (меню “Image → Duplicate”). В дальнейшем работа ведется с дубликатом, оригинал временно сворачивается.

8. Полученное изображение преобразовывается в черно-белое, бинарное (меню “Process → Binary → Make Binary”). Таким образом создается маска изображения (рис. 3).

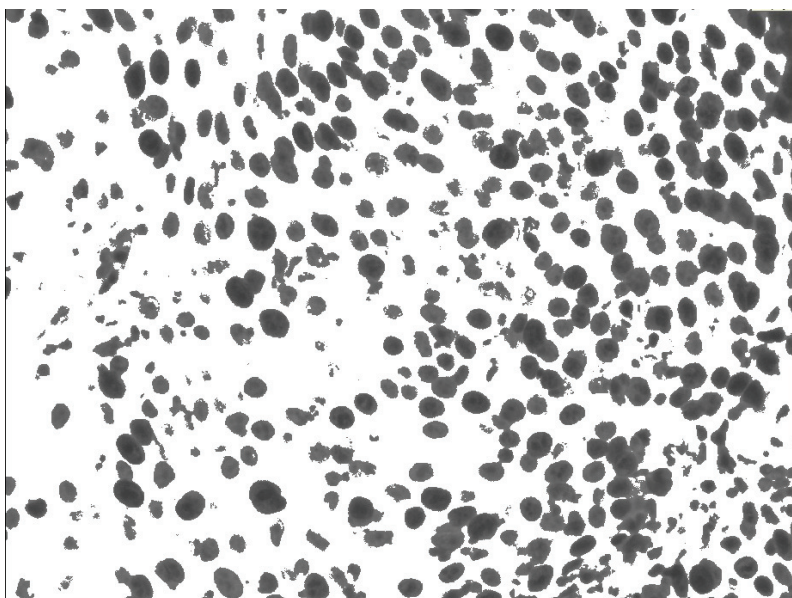


Рис. 3. Черно-белое бинарное изображение
(маска первичного микропрепарата)

9. При необходимости производят корректировку изображения клеток командами “Erode”, “Dilate”, “Watershed” (меню “Process → Binary”).

10. Между полученной бинарной маской и исходным полутоновым изображением в зеленом канале выполняется операция вычитания “Subtract” (меню Process → Image Calculator”);

11. Проводят определение пороговых значений цвета (меню “Image → Adjust → Threshold”). Параметры “Over/Under”.

12. Перемещениями верхнего и нижнего бегунка определяется анализируемая область.

13. Далее приступаем непосредственно к анализу изображения. В меню “Analyze → Set Measurement” выбираются необходимые параметры измерений и анализа выделенных клеток.

14. Для завершения процедуры анализа и получения конечных результатов выполняем: “Analyze → Analyze Particles”.

Параметры: “Display Results”, “Clear Results”, “Add to Manager”, “Exclude on Edges”, “Record Start” (рис. 4).

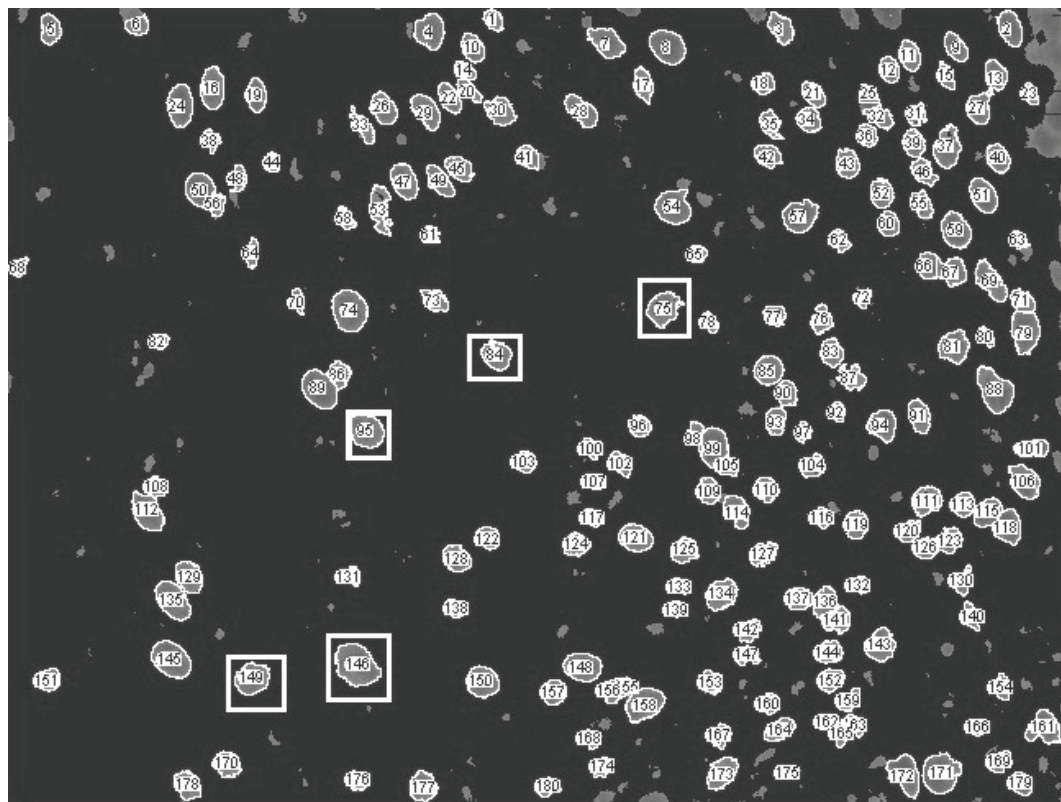


Рис. 4. Результирующее изображение препарата после операции вычитания исходного изображения и маски и выделение объектов (отмечены номерами)

На примере выделенных объектов ниже будет показана результирующая таблица.

Таблица

Количественные параметры клеток по изображению плоскоклеточного рака
(окраска на белок Ki 67)

№ ¹	Area ²	Perim. ³	Median ⁴	Skew ⁵	Kurt ⁶
75	4 592	349,103	172	0,129	-1,139
84	3 680	325,647	170	0,167	-0,96
95	5 276	308,191	171	-1,10E-04	-0,725
146	8 001	404,517	174	0,067	-1,152
149	4 736	320,919	173	0,195	-0,618

Примечание: 1 — порядковый номер объекта, 2 — площадь, 3 — периметр, 4 — медиана, 5 — коэффициент асимметрии, 6 — эксцесс. Единица измерения — точка изображения (пиксель).

15. Полученные данные выводятся в виде таблицы (см. табл.).

16. Полученную таблицу сохраняем в формате «табулированный текст», пригодном для дальнейшей обработки как в табличных редакторах, так и в стандартных программах статистической обработки и анализа результатов исследований.

17. Примечание: для корректного отображения данных необходимо при помощи текстового редактора заменить все имеющиеся в тексте отчета точки на запятые (Команда «Найти и Заменить»).

Важно отметить, что данный алгоритм не является уникальным только для одного типа исследуемого морфологического объекта. Существует возможность применения его при анализе других морфологических структур, естественно, при условии незначительной адаптации к конкретной задаче. В проведенных нами последующих работах мы успешно применяли данный алгоритм при исследовании соединительнотканых волокон миокарда.

Данный пример свидетельствует о том, что средства автоматизации являются эффективным вспомогательным инструментом в исследовательской работе современного ученого, позволяют значительно ускорить процесс при сохранении высокого качества получаемых данных.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Rasband W.S.* ImageJ // U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/> — 1997—2009.

ALGORITHMS OF THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF IMAGES IN AN INFORMATION ENVIRONMENT OF MORPHOLOGICAL RESEARCH

**K.B. Gordon, A.A. Katushkina, E.A. Luk'yanova,
I.I. Babichenko, V.D. Protsenko**

Department of Medical Informatics
Department of Pathological Anatomy
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

It's necessary to make an effective performance of research work in the conditions of a modern science research automation. This aspect is not realized as full as it need in the Russian medical high schools. Most actual questions of medical education process are introduction and active use of these research automation tools. To solve this problem it is necessary to design some new principles and algorithms of working with them.

Key words: morphological experiment, research automation, quantitative analysis.