

## ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ И РАСПОЗНАВАНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Скобцов Ю.А., Мартыненко Т.В., Белявцев А.А.

Донецкий национальный технический университет, кафедра АСУ

E-mail: [skobtsov@kita.dgtu.donetsk.ua](mailto:skobtsov@kita.dgtu.donetsk.ua), [mart@kita.dgtu.donetsk.ua](mailto:mart@kita.dgtu.donetsk.ua)

### Abstract

*Skobtsov Y.A., Martynenko T.V., Belyavtsev A.A. Processing of images of histologic cuts and recognition of tumoral cells. The task of automation of histologic cuts processing is considered with the purpose of the further diagnosing and forecasting of development of tumours. Segmentation of the image and revealing morphometric attributes are used for a statistical estimation of the form and the size of histologic objects.*

### Введение

Актуальность задачи выявления опухолевых клеток определяется возрастанием процента раковых заболеваний, которые являются второй по частоте причиной смертности в развитых странах. Многочисленные медико-социологические исследования показывают, что примерно 33% людей имеют онкологические заболевания, либо предрасположены к ним. По статистике продолжительность жизни 60% больных раком при различном лечении не превышает 5 лет. Для диагностирования и прогнозирования развития опухолей обязательным является гистологическое исследование атипичных клеточных структур и определение гистологической принадлежности опухоли. Сложность получения качественных препаратов существенно снижает эффективность гистологических исследований. Использование математических методов и алгоритмов обработки изображений дает возможность повысить точность результатов исследования и ускорить процесс гистологического анализа препаратов.

### Постановка задачи

Многочисленными исследованиями установлено, что различные по гистологической (тканевой) принадлежности опухоли строго специфичны как на тканевом, клеточном так и на структурном уровне. Однако имеется ряд морфологических и цитологических методов, позволяющих отличить доброкачественность или злокачественность данной опухоли. Эти признаки, несмотря на многообразие опухолей, являются для них общими. Такими признаками являются размеры клеток, размеры ядра клеток и ядерно-цитоплазматическое соотношение. Таким образом, анализ изображения гистологических срезов любой топологии сводится к морфологической оценке цитологической картины:

1. Фон препарата, наличие и характер межклеточного вещества.
2. Количество и расположение клеток, образование комплексов или структур, сохранность клеточных границ.
3. Размеры и формы клеток.
4. Форма и размеры, расположение и окрашиваемость ядра.
5. Ядерно-цитоплазматическое соотношение.
6. Характер строения хроматина.
7. Количество, форма, размеры и четкость границ ядрышек.
8. Объем, окраска, четкость границ, секреция включения и вакуолизация цитоплазмы.

9. Наличие многоядерных клеток, фигур деления (атипичные митозы).  
 Фрагмент гистологического среза желудка представлен на рисунке 1.

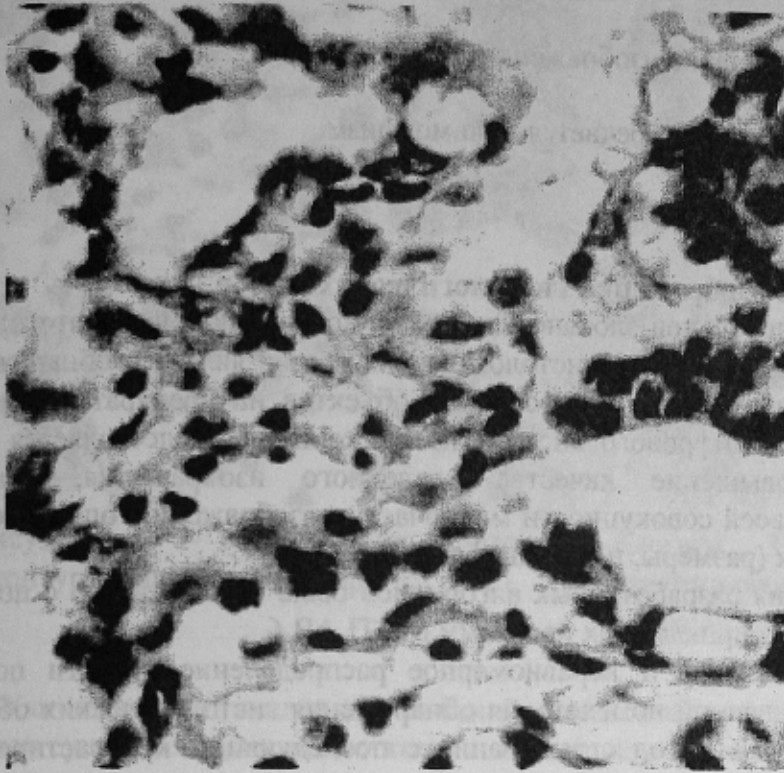


Рисунок 1 – Фрагмент гистологического среза желудка.

Выделяют следующие признаки злокачественности для элементов цитологической картины:

1. Клетка:

- размер клеток превосходит размеры клеток той ткани, которая явилась источником опухолевого роста: клетки могут быть гигантских размеров. Изменение размера не абсолютный показатель — размеры клеток могут быть не изменены;
- изменение формы клеток — не полностью или мало соответствует той форме, которая свойственна клеткам нормальной ткани. Может определяться отчетливый клеточный полиморфизм, т. е. клетки могут быть разных размеров и формы;
- изменяется ядерно-цитоплазматическое соотношение и, как правило, за счет увеличения ядра;
- появление многоядерных клеток, с отчетливым ядерным полиморфизмом;
- атипичное расположение ядра;
- диссоциация в созревании ядра и цитоплазмы (молодое ядро в зрелой клетке, зрелое ядро в незрелой цитоплазме).

2. Ядро:

- увеличение размера ядра;
- изменение формы ядра, ядерный полиморфизм;
- контур ядра неправильный, неравномерно извилистый, иногда с глубокими вырезками, нередко грубо очерчен;
- ядерная мембрана неравномерно утолщена, имеются разрывы.

3. Строение хроматина:

- неравномерность, грубость, разряженность;

- в недифференцированных и низкодифференцированных опухолях хроматин может быть тонкодисперсный и распределён равномерно;
- окрашиваемость чаще всего — гиперхромия.

#### 4. Ядрышки:

- чаще всего выделяются на фоне изображения;
- размеры увеличены;
- форма неправильная, нередко встречается полиморфизм.
- число увеличено.

### Результаты обработки изображений гистологических срезов

В результате анализа признаков злокачественности можно заключить, что одной из основных задач автоматизации обработки гистологических срезов является обнаружение и измерение геометрических параметров интересующих объектов на препарате. Эта задача решается с помощью методов цифрового анализа изображений и представляется в виде совокупности подзадач: повышение качества введенного изображения, отделение гистологических объектов от всей совокупности микрочастиц изображения, определение их геометрических характеристик (размеры, площадь, форма).

Программная реализация разработанных алгоритмов была осуществлена с помощью Image Processing Toolbox пакета прикладных программ MATLAB 6.

Недостаточная контрастность и неравномерное распределение яркости по полю изображения являются существенной помехой для обнаружения гистологических объектов. Разработанный и реализованный метод сглаживания с последующим контрастированием позволяет избавиться от этих недостатков.

Для отделения гистологических объектов от всей совокупности микрочастиц изображения необходимо обнаружить их границы, т.е. участки изображения, в которых есть перепад яркости. Результатом проведения операции оконтуривания является бинарное изображение такого же размера, как исходное полутоновое изображение. Перечень методов выявления контуров с указанием параметров, используемых для обнаружения границ, представлен в таблице 1.

Таблица 1 Методы выявления контуров на гистологических изображениях

Наименование метода	Диапазон изменения параметра оконтуривания		Шаг
	Начальное значение	Конечное значение	
Собель	0.03	0.04	0.01
Превит	0.025	0.035	0.01
Робертс	0.045	0.075	0.01
Лапласиан-гауссиан	2	6	0.1
Зеррокросс	0.001	1	0.01
Канни	0	0.1	0.05

Общим параметром для всех методов оконтуривания является порог для определения принадлежности пикселя границе. Значение среднеквадратического отклонения для формирования маски фильтров Канни и Лапласиан-Гауссиана составляло  $10^{-10}$ .

Наилучшие результаты, полученные при применении методов оконтуривания Канни с порогом 0.025 и Лапласиан-Гауссиана – 2.9 представлены на рисунках 2 и 3 соответственно.

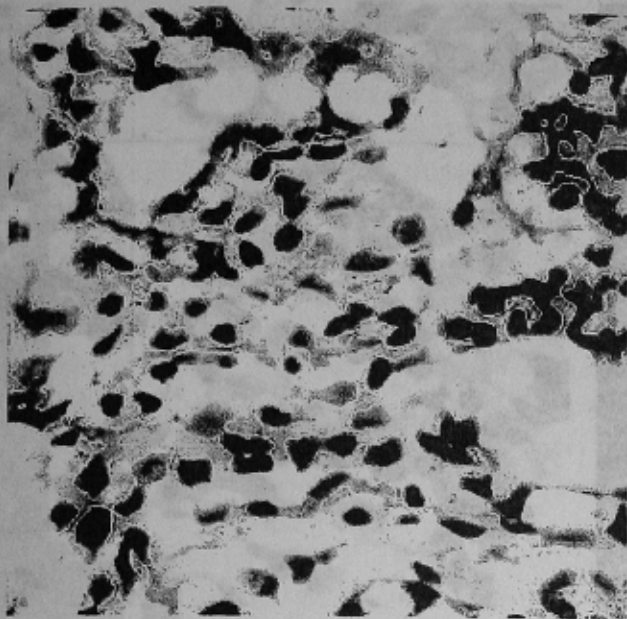


Рисунок 2 – Применение метода оконтуривания Канни с порогом 0.025

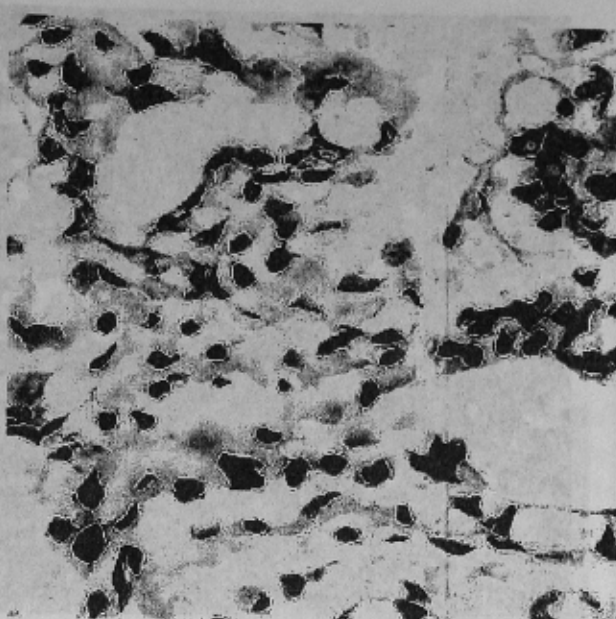


Рисунок 3 – Применение метода оконтуривания Лапласиан-гауссиана с порогом 2.9

Как показывает анализ изображений с выделенным контуром, рассмотренные методы обладают существенными недостатками. При определении контура объекта методом Канни иногда происходит выделение ложных границ. Результаты оконтуривания при применении метода Лапласиан-гауссиана не удовлетворяют основному требованию методов выделения контуров – полученные контуры являются незамкнутыми и, следовательно, непригодными для ряда процедур анализа.

Для преодоления вышеуказанных недостатков, производится преобразование исходного полутонового изображения в бинарное по порогу яркости. Такое преобразование осуществляется с целью сокращения информационной избыточности изображения. Пороговая обработка полутонового изображения заключается в разделении всех элементов изображения на два класса по признаку яркости.

Над полученным бинарным изображением производится ряд морфологических операций, таких как

- эрозия и наращение по преобладанию в окрестности пикселей фона или объекта;
- сжатие объекта;
- удаление изолированных пикселей объектов;
- утолщение объекта;
- удаление внутренних пикселей объектов.

При этом связанные области изображения, значение яркости пикселей которых равны единице, рассматриваются как объекты, а остальные в качестве фона. Результаты применения морфологических операций при выполнении одной итерации показаны на рисунке 4.

Морфометрические признаки такие, как площадь, координаты центра масс, длины максимальной и минимальной осей инерции используются для статистической оценки величины гистологических объектов на изображении и их классификации. Для определения местоположения объекта в поле зрения вычисляются экстремальные координаты. Математическое описание формы объекта производится с помощью эксцентриситета.

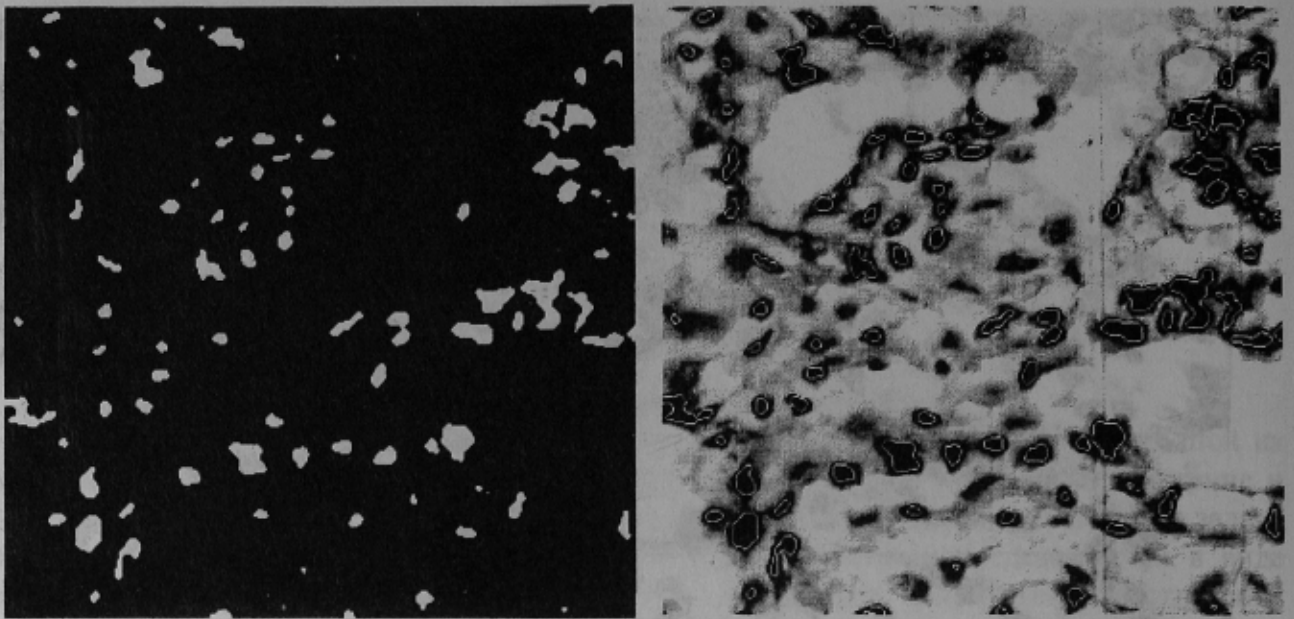


Рисунок 4 – Морфологические операции над гистологическим изображением

Координаты центра масс объекта вычисляются согласно стандартным формулам (1) и (2):

$$x_c = \frac{1}{N} \sum_{p(x,y) \in \Omega} x, \quad (1)$$

$$y_c = \frac{1}{N} \sum_{p(x,y) \in \Omega} y, \quad (2)$$

где  $N$  - количество пикселей, относящихся к объекту;  $p(x, y)$  - множество пикселей.

Для вычисления максимальной и минимальной осей инерции вычисляются вспомогательные величины:

$$U_x = \frac{1}{12} + \frac{1}{N} \sum_{p(x,y) \in \Omega} (x - x_c)^2, \quad (3)$$

$$U_y = \frac{1}{12} + \frac{1}{N} \sum_{p(x,y) \in \Omega} (y - y_c)^2, \quad (4)$$

$$C = \sqrt{(U_x - U_y)^2 + 4 \cdot U_{xy}^2} \quad (5)$$

Длины максимальной  $A_{\max}$  и минимальной  $A_{\min}$  осей инерции вычисляются следующим образом:

$$A_{\max} = 2\sqrt{2} \cdot \sqrt{U_x + U_y + C}, \quad (6)$$

$$A_{\min} = 2\sqrt{2} \cdot \sqrt{U_x + U_y - C} \quad (7)$$

Эксцентриситет определяется с помощью соотношения (8):

$$E = \frac{2 \cdot \sqrt{(0.5 \cdot A_{\max})^2 - (0.5 \cdot A_{\min})^2}}{A_{\max}} \quad (8)$$

Гистограмма площадей гистологических объектов изображения приведена на рисунке 5. Распределение значений эксцентриситета объектов представлено на рисунке 6.

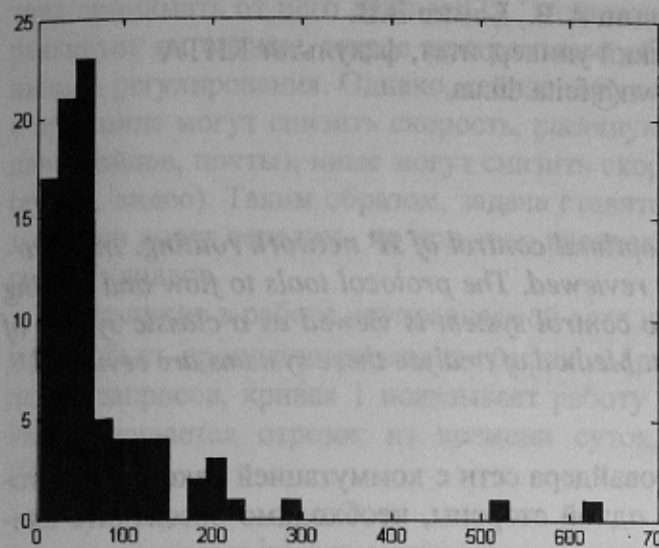


Рисунок 5 – Гистограмма площадей объектов

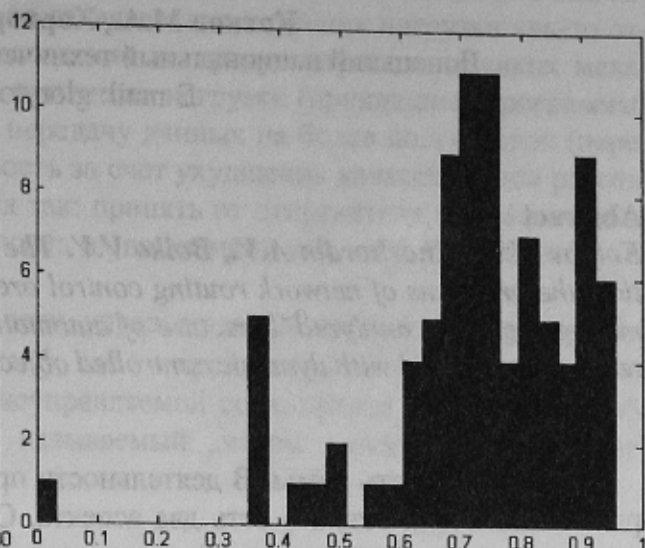


Рисунок 6 – Гистограмма значений эксцентриситета объектов

Достоинство предложенного метода заключается в корректном выявлении границ и определении геометрических характеристик гистологических объектов на изображениях.

### Выводы

При выделении объектов на рассмотренных изображениях гистологических срезов методами оконтуривания было выявлено несоблюдение основных требований к выделению контуров. Применение же морфологических операций над изображениями позволяет повысить как точность выделения объектов, так и использовать морфометрические признаки для определения формы и местоположения объектов. Выполненная обработка изображений гистологических срезов позволяет производить дальнейшее распознавание атипичных клеточных структур. Решение указанной подзадачи предлагается осуществить на основе нейросетевых технологий.

### Библиографические ссылки

1. У.К. Прэтт. Цифровая обработка изображений. – М.: Мир, 1982. Т.1.-2. 792 с.
2. Сойфер В.А. Компьютерная обработка изображений. Часть 2 Методы и алгоритмы. – Соросовский образовательный журнал, №3, 1996.
3. Рудаков П.И., Сафронов И.В. Обработка сигналов и изображений MATLAB 5.x / под общ. ред. к. т. н. В. Г. Потемкина. – М.: ДИАЛОГ-МИФИ, 2000. – 416 с.
4. Дьяконов В., Абраменкова И. MATLAB. Обработка сигналов и изображений. Специальный справочник. – СПб.: Питер, 2002. – 608 с.
5. Аруин А.И., Кануллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника – М.: Триада-Х, 1998.
6. <http://www.cce.hw.ac.uk/hipr/html/featops.html>
7. [http://www.nsu.ru/matlab/MatLab\\_RU/imageprocess/index.asp.htm](http://www.nsu.ru/matlab/MatLab_RU/imageprocess/index.asp.htm)
8. <http://library.graphicon.ru>