

УДК 504.05+614.8

## НОВЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ АЛГОРИТМЫ ОБРАБОТКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА

М.В. СПРИНДЖУК, А.П. КОНЧИЦ, Ю.Е. ДЕМИДЧИК\*, С.Е. ШЕЛКОВИЧ\*

Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси  
Сурганова, 6, Минск, 220012, Беларусь

\*Белорусская медицинская академия последипломного образования  
П. Бровки, 3, Минск, 220013, Беларусь

Поступила в редакцию 19 мая 2015

Приводится подробное техническое описание морфометрических алгоритмов для анализа патоморфологических изображений лимфангиогенеза и ангиогенеза.

*Ключевые слова:* лимфангиогенез, ангиогенез, обработка изображений, рак щитовидной железы, карцинома яичников.

### Введение: морфометрический анализ патогистологических изображений ангиогенеза и лимфангиогенеза

Наиболее распространенный патоморфологический маркер-дескриптор лимфангиогенеза – площадь прокрашенных сосудов. Цель исследования заключалась в разработке морфометрических алгоритмов для полноценной визуальной картины лимфангиогенеза и его количественной оценки. Площадь сосудов опухоли в большинстве публикаций противопоставляется для корреляции с множеством параметров иного, чем изображения, происхождения. Всего в одной публикации упоминается применение фрактального и синтаксического структурного анализа для морфометрии ангиогенеза [1]. Ряд публикаций освещает вопросы применения окулярных сеток А. Автандилова, М. Вейбеля, Дж. Челкли в оригинальном и компьютеризированном виде [2–7], и с каждым годом все больше появляется журнальных статей об использовании программного обеспечения для морфометрических целей [8, 9]. Сетка Дж. Челкли (Chalkley) – прототип морфометрической технологии ангио- и лимфангиогенеза (см. таблицу). Применение морфометрии опухолевого ангио- и лимфангиогенеза показывает, что накопленная морфометрическая информация может служить источником новых исследований взаимосвязи и другой зависимости клинических и лабораторных данных [10]. Однако, по мнению авторов, такая информация по своей природе не может иметь ключевого диагностического характера.

#### Сравнение характеристик стандартной морфометрической и разработанной методик

Прототип: сетка Chalkley	Компьютеризированная морфометрия лимфангиогенеза на основе нескольких реализованных алгоритмов
1) одностороннее описание морфометрической картины опухоли; 2) субъективный, зависимый от глаза наблюдателя подсчет прокрашенных сосудов; 3) невозможность абсолютно точно повторить измерения, особенно если исследователей несколько.	1) несколько морфометрических дескрипторов более полноценно характеризуют картину лимфангиогенеза; 2) применение программного обеспечения объективизирует задачи морфометрии; 3) компьютеризированное исследование позволяет повторять эксперимент абсолютно идентично.

Вопросы терминологии ангиогенеза и лимфангиогенеза, опыт применения разработанного программного обеспечения и подробное описание методологии прогноза

развития злокачественных опухолей на основе анализа изображений лимфангиогенеза изложены авторами в ряде публикаций [11–13]. Данная работа полностью сосредоточена на подробном представлении самих алгоритмов обработки изображений.

### **Техническое описание морфометрических алгоритмов**

Все алгоритмы имеют общие шаги, главная цель которых – представление изображения в виде двумерного массива-матрицы для дальнейших манипуляций и выделение сосудов-объектов интереса.

*Вход:* изображение в формате .tiff.

*Шаг 1.* Преобразование цветовых компонент  $R, G, B$  (red, green, blue) пикселей исходного изображения, представленного в цветовом пространстве RGB в соответствующие цветовые компоненты в цветовом пространстве HSL (Hue – цветность, Saturation – насыщенность, Luminosity – освещенность). Преобразование реализовано на основе известных аналитических выражений, отображающих компоненты  $R, G, B$  в компоненты  $H, S, L$ . В результате выполнения преобразования каждый пиксел изображения характеризуется тремя численными значениями  $H, S$  и  $L$ .

*Шаг 2.* Сегментация сосудов на изображении стандартной пороговой сегментацией. Пиксел изображения считается принадлежащим сосуду, если его цветовые компоненты удовлетворяют следующему условию:  $H < 0,12$  и  $L < 0,7$ ; затем выполняется преобразование изображения в бинарное.

*Шаг 3.* Разбиение плоскости изображения на квадратные фрагменты  $70 \times 70$ .

Представленное как массив, изображение разделяется на субмассивы встроенными функциями языка программирования.

### **Алгоритм вычисления площади покрашенных маркером лимфатических сосудов**

Алгоритм представляет собой стандартное, определенное в положении Консенсуса об изучении лимфангиогенеза [14], оценочное решение экспансивной активности сосудистого русла опухоли, предоставляет количественную величину заполнения изображения сосудами злокачественной опухоли.

*Вход:* изображение в формате .tiff.

*Шаги 1–3 общие.*

*Шаг 4.* Суммирование числа отсегментированных черных пикселей.

*Шаг 5.* Вычисление отношения числа черных пикселей к общему числу пикселей.

*Конец алгоритма.*

*Выход:* Количественное представление распространения сосудов опухоли.

### **Алгоритм вычисления однородности распределения сосудов на изображении**

Алгоритм предназначен для того, чтобы можно было судить о степени однородности распределения микрососудов злокачественной опухоли по двумерной плоскости изображения. После выполнения общих для данной группы морфометрических алгоритмов шагов осуществляется вычисление вероятности попадания пикселя сосудов в  $i$ -й фрагмент изображения. Значение однородности как функции обратной по значению энтропии вычисляется по формуле (1).

*Конец алгоритма.*

*Выход:* Количественное представление энтропии распределения сосудов на плоскости изображения

$$H = -\sum_{i=0}^t p_i \ln(p_i), \quad (1)$$

где  $H$  – однородность,  $p_i$  – вероятность попадания пикселя сосудов в  $i$ -й фрагмент,  $t$  – верхний предел количества фрагментов изображения.

### Алгоритм вычисления относительной доли крупных объектов сосудов

Алгоритм предназначен для количественной оценки выделенных объектов на изображениях, подразумевает их классификацию на классы «крупных» и «мелких».

*Шаги 1–3 общие.*

*Шаг 4.* Вычисление относительной площади покрашенных сосудов на изображении путем подсчета окрашенных пикселей и деления их числа на число фоновых пикселей.

*Шаг 5.* Удаление краевых, пограничных пикселей выделенных объектов сосудов.

*Шаг 6.* Повторять шаг 5 три раза, чтобы осталось крупное ядро объекта.

*Шаг 7.* Вычисление площади полученного изображения. Достигается суммированием оставшихся на изображении черных пикселей.

*Шаг 8.* Вычисление отношения площадей объектов сосудов полученного и исходного изображения.

*Конец алгоритма.*

*Выход:* Количественное представление доли крупных объектов сосудов на плоскости изображения.

### Алгоритм вычисления относительной доли мелких объектов сосудов

Алгоритм предназначен для количественной оценки выделенных объектов на изображениях, подразумевает их классификацию на классы «крупных» и «мелких».

*Вход:* изображение в формате .tiff.

*Шаги 1–3 общие.*

*Шаг 4.* Вычисление относительной площади покрашенных сосудов на изображении (как суммы черных пикселей).

*Шаг 5.* Удаление краевых, пограничных пикселей выделенных объектов сосудов.

*Шаг 6.* Повторять шаг 5 шесть раз, чтобы получить четкое ядро мелких объектов сосудов.

*Шаг 7.* Вычисление площади полученного изображения (как суммы оставшихся черных пикселей).

*Шаг 8.* Вычисление отношения полученного и исходного изображения (деление величины суммарного количества темных пикселей после манипуляции на величину аналогичного параметра до манипуляции).

*Конец алгоритма.*

*Выход:* Количественное представление доли мелких объектов сосудов на плоскости изображения.

*Фрагмент кода Delphi, поясняющий реализацию формулы энтропии:*

```
for j:= 0 to W1-1 do
```

```
for i:= 0 to H1-1 do
```

```
if ms[j,i]/q>0 then hm:=hm-(ms[j,i]/q)*ln(ms[j,i]/q)/(2*ln(Rd));
```

где  $W1$  – ширина изображения,  $H1$  – высота изображения,  $ms[j, i]/$  – матрица бинарного изображения,  $q$  – число пикселей, отображающее площадь капилляров, покрашенных маркером,  $Rd = 70$  – константа разбиения изображения на регионы.

### Заключение

Разработанными алгоритмами решается задача полноценного описания патоморфологической картины лимфангиогенеза. В отличие от общепринятого алгоритма вычисления относительной площади микрососудов и подсчета микрососудов окулярными сетками, исследователь получает более широкий спектр параметров, которые можно использовать как для сравнительной характеристики опухолевых образцов, так и для прогностических и коррелятивных целей. Результаты проведенных авторами исследований не претендуют на то, чтобы быть рекомендациями для практических протоколов патоморфологии лимфангиогенеза и прогноза для онкологических больных, но предоставляют будущим

исследователям ряд разработанных алгоритмов и методологические подходы для следующих плодотворных исследований на пути от инженерных фундаментальных идей до практической пользы здравоохранению. Применением разработанных морфометрических алгоритмов решается методологическая задача прогноза развития карцином на основе анализа патоморфологических изображений лимфангиогенеза. Первые исследования показали корреляцию меньших значений плотности микрососудов и однородности их распределения на изображениях с рецидивом рака яичников и метастазированием в лимфатические узлы рака щитовидной железы [12]. В настоящее время ведется исследование о применении алгоритмов машинного обучения для прогноза развития опухолей на основе анализа данных, полученных с изображений.

*Авторы выражают благодарность сотрудникам Минского онкологического диспансера и лаборатории патоморфологической диагностики БелМАПО. Исследование проводилось при финансовой поддержке фондов МНТЦ и CRDF.*

## NEW MORPHOMETRIC ALGORITHMS OF IMAGE PROCESSING OF THE LYMPHANGIOGENESIS PATHOLOGY

M.V. SPRINDZUK, A.P. KONCHITS, Y.E. DEMIDCHIK, S.E. SHELKOVICH

### Abstract

Authors describe in technical details a set of algorithms, developed and implemented for the goals of lymphangiogenesis and angiogenesis image processing with application for the comprehensive quantitative description, correlative statistics and tumoral expansion prognosis.

### Список литературы

1. Weyn B., Tjalma W.A., Vermeulen P. et al. // Determination of tumour prognosis based on angiogenesis-related vascular patterns measured by fractal and syntactic structure analysis. Clin Oncol (R Coll Radiol). 2004. № 4. P. 307–316.
2. Dhakal H.P., Bassarova A., Naume B. et al. // Breast carcinoma vascularity: a comparison of manual microvessel count and Chalkley count. Histol Histopathol. 2009. № 8. P. 1049–1059.
3. Da Rocha A.O., Coutinho L.M., Schall J.G. // The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in gallbladder carcinoma. Hepatogastroenterology. 2009. № 89. P. 34–38.
4. Suhonen K.A., Anttila M.A., Sillanpaa S.M. et al. // Quantification of angiogenesis by the Chalkley method and its prognostic significance in epithelial ovarian cancer. Eur J Cancer. 2007. № 8. P. 1300–1307.
5. Hansen S., Sorensen F.B., Vach W. et al. // Microvessel density compared with the Chalkley count in a prognostic study of angiogenesis in breast cancer patients. Histopathology. 2004. № 5. P. 428–436.
6. Offersen B.V., Sorensen F.B., Yilmaz M. et al. // Chalkley estimates of angiogenesis in early breast cancer – relevance to prognosis. Acta Oncol. 2002. № 7–8. P. 695–703.
7. Hansen S., Grabau D.A., Sorensen F.B. et al. // The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in a confirmatory study design on 836 breast cancer patients. Clin Cancer Res. 2000. № 1. P. 139–146.
8. Doukas C.N., Maglogiannis I., Chatziioannou A. et al. // Automated angiogenesis quantification through advanced image processing techniques. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2006. № 1. P. 2345–2348.
9. Hayek A., Beattie G.M., Lopez A.D. et al. // The use of digital image processing to quantitate angiogenesis induced by basic fibroblast growth factor and transplanted pancreatic islets. Microvasc Res. 1991. № 2. P. 203–209.
10. Fox S.B., Leek R.D., Weekes M.P. et al. // Quantitation and prognostic value of breast cancer angiogenesis: comparison of microvessel density, Chalkley count, and computer image analysis. J Pathol. 1995. № 3. P. 275–283.
11. Sprindzuk M., Dmitruk A., Kovalev V. et al. // Computer-aided Image Processing of Angiogenic Histological. J Clin Med Res. 2009. № 5. P. 249–261.
12. Sprindzuk M., Konchits A., Shukelovich A. et al. The method for ovarian cancer recurrence prediction based on computerized lymphangiogenesis morphometry of the D2-40 stained images. International Conference on Digital Technologies 2013: IEEE. P. 52–54.
13. Sprindzuk M.V. // Angiogenesis in malignant thyroid tumors. World Journal of Oncology. 2009. № 6. P. 221–231.
14. Van der Auwera I., Cao Y., Tille J.C. et al. // First international consensus on the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. Br J Cancer. 2006. № 12. P. 1611–1625.