

УДК 004.931

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ТЕКСТУРНОГО АНАЛИЗА В КОМПЬЮТЕРНОЙ МИКРОСКОПИИ ВИДИМОГО ДИАПАЗОНА ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

В. Г. Никитаев¹, А. Н. Проничев¹, Е. В. Поляков¹, В. В. Дмитриева¹,
Н. Н. Тупицын², М. А. Френкель², А. В. Моженкова²

В статье рассмотрено применение методов текстурного анализа на базе компьютерной микроскопии в видимом диапазоне электромагнитного излучения для классификации клеток крови на лимфобласты и лимфоциты. Предложена модель цифровой обработки изображений клеток. Для количественного описания клеток при диагностике и дифференциальной диагностике острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) применены текстурные характеристики изображений ядер с оценкой их параметров.

Ключевые слова: компьютерная микроскопия, острый лимфобластный лейкоз, диагностика лейкозов, методы цифровой обработки изображений, текстурный анализ.

Диагностика острых лейкозов базируется на изучении морфологических особенностей лейкемических клеток периферической крови и аспиратов костного мозга [1, 2]. Данные морфологического исследования свидетельствуют о значительной гетерогенности бластов при острых лейкозах. Констатация наличия лейкемических клеток, морфологически сходных с лимфобластами в крови или костном мозге, требует проведения дифференциальной диагностики с другими лимфопролиферативными заболеваниями и с реактивным лимфоцитозом. Однако иногда это представляет трудную диагностическую проблему. Поэтому применение методов, уточняющих морфологическую характеристику лимфоидных элементов, до настоящего времени представляет значительный интерес [3–8].

¹ Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, 115409 Россия, Москва, Каширское ш., 31; e-mail: VGNikitayev@mephi.ru.

² ФГБУ “Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина” МЗ РФ, 115478 Россия, Москва, Каширское шоссе, 23.

Общие вопросы цифровой обработки изображений изложены в ряде работ [5, 7, 8].

Цель данной работы – проведение исследований по оценке применимости методов текстурного анализа изображений клеток крови для разделения на бласты костного мозга и лимфоциты крови на базе компьютерной микроскопии при диагностике и дифференциальной диагностике острых лимфобластных лейкозов.

Исследование характеристики структуры хроматина лимфоцитов проводилось на мазках периферической крови трех доноров, структуры хроматина бластов – на мазках аспиратов костного мозга семи больных ОЛЛ. Все препараты были фиксированы и окрашены по методу Май–Грюнвальд–Романовского. Морфологическое исследование мазков крови и аспиратов костного мозга осуществлялось в лаборатории иммунологии гемопозеза ФГБУ “РОНЦ им. Н. Н. Блохина” МЗ РФ двумя экспертами. Диагноз ОЛЛ был установлен на основании морфологического, цитохимического и иммунофенотипического исследований. На препаратах больных ОЛЛ преобладали бласты (87–99%), прочие клетки составляли 1–13%.

Система для съемки изображений включает автоматизированный микроскоп Olympus BX43 с камерой Imregx IPX-4M1ST-GCFB. Изображения представлены в формате BMP, с цветовой кодировкой RGB24 (свыше 16 млн цветов). Получено 126 изображений лимфоцитов периферической крови доноров и 1332 изображения бластов костного мозга больных ОЛЛ при одинаковых условиях (модель камеры, микроскопа, настройки микроскопа по Келлеру, освещение).

На полученных изображениях исследовалась пространственно-цветовая регулярность в структуре хроматина изображений ядер лимфоцитов и бластов и рассчитывались её характеристики с помощью программного обеспечения, разработанного на кафедре “Компьютерные медицинские системы” НИЯУ МИФИ.

Модель цифровой обработки изображений. Для проверки применимости методов текстурного анализа для классификации бластов и лимфоцитов по типам была разработана модель цифровой обработки изображений $M_{IP} = \{I_{MN}, S, C_{CM}, P, Cl, In, T_{ce}\}$. Здесь I_{MN} – регистрация цифрового изображения, S – сегментация ядра лейкоцита, C_{CM} – преобразование изображений ядер в полутоновые изображения компонент цветных моделей [8], P – расчет текстурных характеристик для полученных изображений, Cl – классификация лейкоцитов на основе полученных данных, In – расчет порогового значения текстурной характеристики для проведения диагностики и дифференциальной диагностики ОЛЛ, T_{ce} – оценка качества классификации.

Исследование текстурных характеристик изображений клеток для различных диапазонов спектра видимого электромагнитного излучения. В ходе исследования проводился расчет текстурных характеристик [8] по изображениям в трех диапазонах спектра видимого света (соответствующих зоне красного, зеленого и синего цветов) для рассматриваемой выборки из 126 лимфоцитов и 1332 бластных клеток. Такое представление цветного изображения соответствует цветовой модели RGB (Red, Green, Blue). Наряду с этим рассматривался ряд других цветовых моделей, таких как XYZ, HSL, Lab, Luv, HLS, HSV, YUV, YIQ, YPbPr, CMY [8].

В результате исследования текстурных характеристик среди них была найдена оптимальная для классификации типов клеток крови характеристика (P_{\max}), соответствующая значению характеристики “максимальная вероятность”, рассчитанной по матрице пространственной смежности (МПС) в цветовом пространстве YUV для цветоразностного сигнала (V).

Анализ ошибок классификации клеток по типам. Для определения характерных диапазонов величины P_{\max} распределения клеток построены гистограммы таких распределений, анализ которых показывает, что распределение значений исследуемого признака (за исключением 14 клеток) близко к нормальному закону распределения (рис. 1).

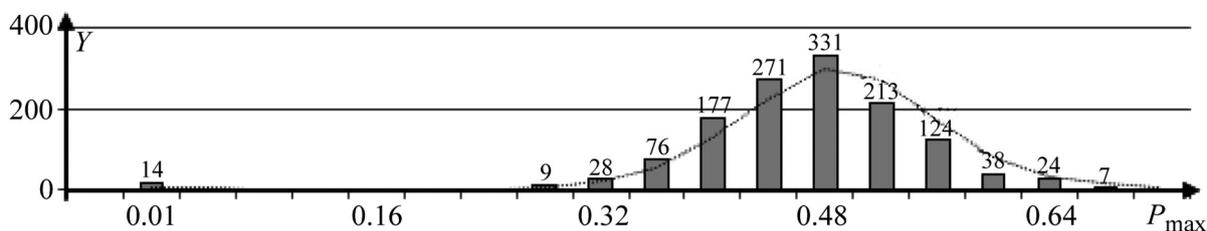


Рис. 1: Гистограмма распределения лимфобластов по характеристике P_{\max} (по оси ординат отложено число клеток с соответствующим значением характеристики P_{\max}).

Полученное распределение позволяет выявить диапазоны P_{\max} , характерные для лимфоцитов доноров и лимфобластов больных ОЛЛ. Большинству бластов соответствуют диапазон значения характеристики P_{\max} от 0.29 до 0.69 (рис. 1), при этом среди бластов есть клетки, значения P_{\max} которых отличаются от значений большинства бластов, и попадают в диапазон P_{\max} от 0.01 до 0.04, характерный для лимфоцитов.

Для найденной характеристики установлено, что для всех лимфоцитов численные значения этой характеристики распределены в диапазоне, соответствующем типовым значениям этой характеристики для лимфоцитов. Для лимфобластов в 99% случаев значения этой характеристики находятся в диапазоне, характерном для бластов, а 1% бластов имеет значение характеристики в зоне, соответствующей лимфоцитам.

Оценка вариабельности клеток. Рассчитаны статистические $(\bar{x}, S, S_{\bar{x}})$ характеристики P_{\max} для групп лимфоцитов доноров и бластов больных ОЛЛ (в рассматриваемой выборке из расчета исключены нетипичные для бластов 14 клеток). Здесь \bar{x} – среднее арифметическое, S – среднеквадратическое отклонение, $S_{\bar{x}}$ – среднеквадратическое отклонение среднего арифметического значения измеряемой величины от ее среднего значения для соответствующей группы клеток (бластов или лимфоцитов). Результаты расчетов представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Средние показатели характеристики P_{\max} бластов больных ОЛЛ и лимфоцитов доноров

	P_{\max}		
	$\bar{x} \cdot 10^{-1}$	$S \cdot 10^{-1}$	$S_{\bar{x}} \cdot 10^{-1}$
Лимфобласт	4.5	0.8	0.02
Лимфоциты	0.013	0.001	0.0001

На основании данных, представленных в табл. 1, рассматриваемая текстурная характеристика P_{\max} может использоваться как показатель принадлежности клетки к типу лимфобластов или лимфоцитов.

Принятие решения об отнесении клетки к одному из типов основывается на оценке отличия рассчитанной для исследуемой клетки характеристики P_{\max} от её характерной величины (индекс I), свойственной для бластов или лимфоцитов. Для найденной текстурной характеристики рассчитано значение порога $I = 0.1$ для принятия решения. Следовательно, результаты компьютерной микроскопии позволяют количественно описывать характеристики клеток, которые могут быть представлены в формализованном виде как значения текстурной характеристики, отражающей принадлежности клетки к типу бластов или лимфоцитов для каждого исследуемого случая.

Проведена оценка вариабельности бластов больных ОЛЛ для элементов выборки каждого пациента. В табл. 2 представлены результаты расчетов по пациентам (П) с указанием числа изображений (к) для каждого из них.

Т а б л и ц а 2

Средние показатели характеристики P_{\max} бластов по больным ОЛЛ

Пациент № (количество клеток)	P_{\max}		
	$\bar{x} \cdot 10^{-1}$	$S \cdot 10^{-1}$	$S_{\bar{x}} \cdot 10^{-1}$
П1 (200)	4.4	1.3	0.09
П2 (138)	4.5	0.7	0.06
П3 (208)	4.6	0.7	0.05
П4 (216)	4.7	0.6	0.04
П5 (138)	4.2	0.6	0.03
П6 (204)	4.2	0.5	0.04
П7 (208)	4.9	0.7	0.05

Среднее значение текстурной характеристики для бластов больных ОЛЛ изменяется в диапазоне $(4.2 - 4.9) \cdot 10^{-1}$. Также из представленных данных в табл. 2 видно, что для изображений бластов характерно значимое различие внутри группы пациентов больных ОЛЛ. Данное различие предположительно может быть связано с индивидуальными особенностями клеток пациентов.

Практическое использование предложенной текстурной характеристики предполагает применение системы компьютерной микроскопии с программным обеспечением, выполняющим расчет характеристик структуры хроматина ядра клеток крови лейкоцитарного ряда. Полученные данные сравниваются с определенными ранее характерными значениями характеристик по результатам эксперимента и на основании этого сравнения делаются заключения о принадлежности клетки к одному из классов.

Заключение. Проведенные предварительные исследования показали применимость методов текстурного анализа для диагностики острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) с определением бластов и лимфоцитов, и это может быть использовано в высокотехнологичных программно-аппаратных комплексах диагностики ОЛЛ.

Планируемым этапом дальнейших исследований является определение различий бластов от прочих клеток костного мозга и увеличение объема экспериментальной выборки.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] М. А. Френкель, Иммунология гемопоэза, **12**(1-2), 18 (2014).

- [2] С. А. Луговская, М. Е. Почтарь, Н. Н. Тупицын, *Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов* (М., Тверь, ООО «Издательство “Триада”», 2005).
- [3] E.S. Jaffe (ed.), *Pathology and Genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues* (World Health Organization Classification of Tumours) (IARC, 2001).
- [4] M. M. Amin, S. Kermani, A. Talebi, and M.G. Oghli, *Journal of medical signals and sensors* **5**(1), 49 (2015).
- [5] C. Reta, L. Altamirano, J. A. Gonzalez, et al., *PLoS ONE* **10**(6), e0130805 (2015).
- [6] S. Mohapatra, D. Patra, and S. Satpathy, *Neural Computing and Applications* **24**(7-8), 1887 (2014).
- [7] J. Rawat, H. S. Bhadauria, A. Singh, and J. Virmani, in: *Proc. of 2nd International Conference on Computing for Sustainable Global Development (INDIACom)* (IEEE, New Delhi, India, 2015), p. 1948.
- [8] V. G. Nikitaev, O. V. Nagornov, A. N. Pronichev, et al., *Wseas transactions on biology and biomedicine* **12**, 16 (2015).

По материалам V Международной молодежной научной школы-конференции “Современные проблемы физики и технологий”.

Поступила в редакцию 12 июля 2016 г.