

# Автоматизация процесса морфометрии гистологического материала

М.Б. Васильева, И.В. Лобив, Ф.А. Мурзин

ГФУ «Новосибирский научно – исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н.Мешалкина» департамента здравоохранения и социального развития, Новосибирск, Россия

[mashina2001@ngs.ru](mailto:mashina2001@ngs.ru)

Институт систем информатики СО РАН,

Новосибирск, Россия

[igor\\_lobiv@mail.ru](mailto:igor_lobiv@mail.ru)

Институт систем информатики СО РАН,

Новосибирск, Россия

[murzin@iis.nsk.su](mailto:murzin@iis.nsk.su)

## Аннотация

Для изучения особенностей гистоархитектоники микрососудистого русла поджелудочной железы крысы в норме и при остром экспериментальном панкреатите использовался программно – аппаратный комплекс, включающий в себя флуоресцентный микроскоп “Carl Zeiss Fl 40” со встроенной фотокамерой высокого разрешения, программное обеспечение собственной разработки. Была отработана методика автоматического определения соотношения лимфатических и кровеносных микрососудов в норме и при патологии.

**Ключевые слова:** морфометрия, микрососудистое русло, гистохимия, выделение объектов.

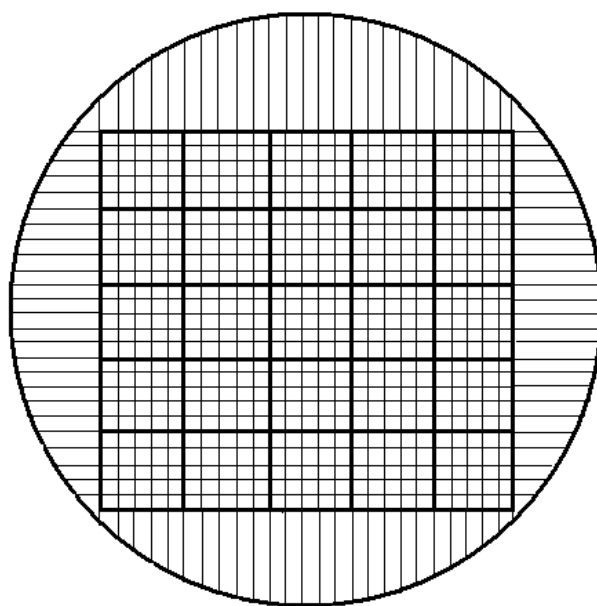
## 1. ВВЕДЕНИЕ

При различных микроциркуляторных расстройствах наблюдаются изменения гистоархитектоники дренажного лимфатического русла и распределения лимфатических капилляров в интерстиции патологически измененных тканей.

В патогенезе различных заболеваний немаловажную роль играет изменение структурной организации микроциркулярного русла. Лимфатическая система, являясь основным коллектором интерстициальной жидкости, участвует в регуляции клеточного метаболизма и тканевых обменных процессах [2]. При различных по этиологии микроциркуляторных расстройствах изменяется гистоархитектоника дренажного лимфатического русла.

К сожалению, на сегодняшний день часто пренебрегают исследованием лимфатического компонента системы микроциркуляции. Во многом это связано со сложностью и трудоемкостью дифференцировки лимфатических и кровеносных микрососудов на уровне стандартной световой микроскопии.

Для получения статистических данных о количественном соотношении тех или иных компонент в структуре ткани используется метод визуального подсчета объектов по Г.Г. Автандилу [1]. При этом в окуляр светового микроскопа помещается специальная тестовая система.



**Рис. 1.** Вариант окулярной квадратно-сетчатой тестовой системы. Тестовая система окуляра микроскопа со 121 точкой в квадратной сетке.

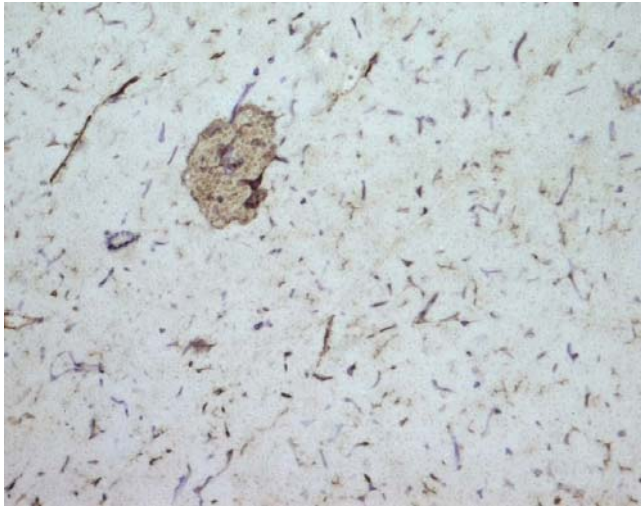
Данный тип анализа требует огромных временных и личностных затрат исследователя. При подобном анализе гистологического объекта в световом микроскопе с параллельным выделением искомым фрагментов требуется постоянная максимальная концентрация внимания и предельное напряжение зрения.

Для автоматизации данного процесса разработаны различные программно-аппаратные комплексы [5,7,8]. Это коммерческие разработки, поэтому они запатентованы и недоступны для свободного использования в научных исследованиях. Поэтому нами был предложен собственный программно-аппаратный комплекс.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цветное окрашивание гистологических препаратов поджелудочной железы крысы было получено методом двойного гистохимического окрашивания на 5'-нуклеотидазу

и щелочную фосфатазу для выявления лимфатических и кровеносных микрососудов [6].



**Рис. 2.** Поджелудочная железа крысы. Двойное гистохимическое окрашивание на 5'-нуклеотидазу (коричневый цвет микрососудов) и щелочную фосфатазу (синий цвет микрососудов). Увеличение 100.

Описание программного комплекса: на вход поступает изображение (в файле \*.bmp), полученное с помощью фотосистемы флюорисцентного микроскопа “Carl Zeiss Fl 40” со встроенной фотокамерой высокого разрешения. На выходе имеется текстовый файл с соотношениями удельных площадей искомых объектов к общей площади изображения.

Цветное изображение размером  $n \times m$  задается тремя матрицами  $S_R = S_R(i, j)$ ,  $S_G = S_G(i, j)$  и  $S_B = S_B(i, j)$ , где  $0 \leq i \leq n - 1$ ,  $0 \leq j \leq m - 1$ .

Значения элементов матриц  $S_R(i, j)$ ,  $S_G(i, j)$  и  $S_B(i, j)$  изменяются в пределах от 0 до 255.

Пусть точки  $p = (i, j)$  и  $p' = (i', j')$  имеют цвета  $(r, g, b)$  и  $(r', g', b')$  соответственно,  $S_R(i, j) = r$ ,  $S_G(i, j) = g$ ,  $S_B(i, j) = b$ ,  $S_R(i', j') = r'$ ,  $S_G(i', j') = g'$ ,  $S_B(i', j') = b'$ .

Тогда цветовое расстояние определяется, как

$$cd(p, p') = \max\{|S_R(p) - S_R(p')|, |S_G(p) - S_G(p')|, |S_B(p) - S_B(p')|\}$$

Вводится такая константа  $C_V$ , что если выполнено условие  $cd(p, p') \leq C_V$ , то считается, что  $p, p'$  имеют одинаковый цвет.

Евклидово расстояние определяется, как

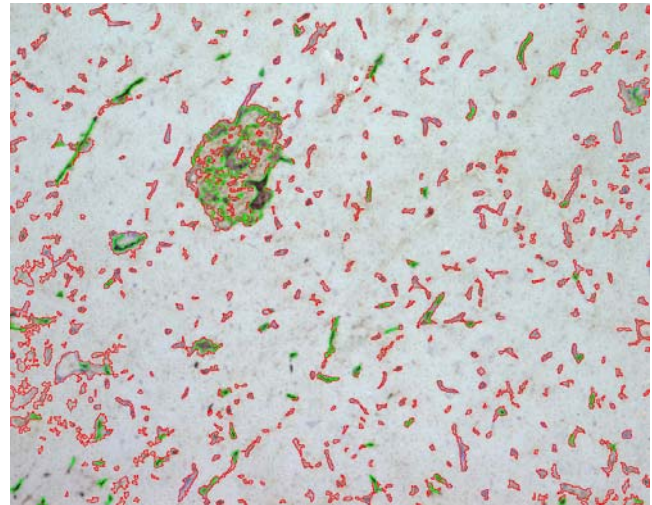
$$\rho(p, p') = \sqrt{(i - i')^2 + (j - j')^2}.$$

Первоначально изображение фильтруется по заданному цвету объектов. Для локализации объектов используется алгоритм с подавлением однопиксельных шумов [3]. Далее выделенные объекты фильтруются по пространственным характеристикам (количеству точек на границе, занимаемой площади).

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Была отработана методика автоматического определения соотношения лимфатических и кровеносных микрососудов в

норме и при патологии без привлечения коммерческих программных пакетов. При этом экономятся силы и время научного исследователя.



**Рис. 3.** Поджелудочная железа крысы. Двойное гистохимическое окрашивание на 5'-нуклеотидазу (коричневый цвет микрососудов) и щелочную фосфатазу (синий цвет микрососудов). Увеличение 100. Результат применения собственного программного комплекса. Красным контуром обведены кровеносные микрососуды (имеют синий цвет), зеленым – лимфатические (объекты коричневого цвета).

**Таб. 1.** Текстовый вариант результата работы программного комплекса.

Тип сосудов	Общая площадь выделенных объектов (в пикселях)	Общая площадь изображения (в пикселях)	Доля выделенных объектов (в процентах)
Лимфатические микрососуды	11936	888x698	1.92571%
Кровеносные микрососуды	54699	888x698	8.82492%

### 4. БИБЛИОГРАФИЯ

- [1] Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия. Руководство.* – М.: Медицина, 1990.-384с.
- [2] Бородин Ю.И. *Регионарная гемо- и лимфоциркуляция и ее место в реализации общей циркуляторной схемы организма // Лимфология: экспер., клиника /Тр. НИИКиЭЛ СО РАМН под ред. Ю.И.Бородина.* – Новосибирск, 1995.-Т.3.- С.5-8.
- [3] Лобив И. В., Мехонцев Д. Ю., Селезнев К. С., *Слежение и определение скорости движущихся на плоскости объектов в реальном времени / И. В. Лобив, Д. Ю. Мехонцев, К. С. Селезнев // Материалы междунар. конф. Современные проблемы прикладной математики и механики: теория, эксперимент и практика.* – Новосибирск, 2001. – С. 112-114.

- [4] Haug H. *Die Treffermethode, ein Verfahren zur quantitativen Analyse im histologischen Schnitt.-Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 1955, Bd 118, S. 302-312.*
- [5] Impuls GmbH <http://www.impuls-imaging.com>
- [6] Kato S. *Thiomy microvascular system // Microsc. Res. Tech. – 1997. – Vol. 38. – N 3. – P. 287-99*
- [7] Media Cybernetics, L. P. <http://www.optimas.com>
- [8] Ronald A. Massa Associates <http://www.way2c.com>

## Об авторах

Мария Борисовна Васильева – м.н.с. лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии  
Адрес: Новосибирск, 630055, ул. Речкуновская, 15, ГФУ  
«НИИ ПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» ДЗ СР.

Е-mail: [mashina2001@ngs.ru](mailto:mashina2001@ngs.ru)

Лобив Игорь Васильевич – к.ф.-м.н., н.с. ИСИ СО РАН,  
инженер 1 категории ООО «ИнтертелСибирь»  
Адрес: Новосибирск, 630090, пр. Ак. Лаврентева 6, ИСИ СО  
РАН

Е-mail: [igor\\_lobiv@mail.ru](mailto:igor_lobiv@mail.ru)

Мурзин Федор Александрович – к.ф.-м.н., с.н.с., ученый секретарь ИСИ СО РАН  
Адрес: Новосибирск, 630090, пр. Ак. Лаврентева 6, ИСИ СО  
РАН

Е-mail: [murzin@iis.nsk.su](mailto:murzin@iis.nsk.su)

## Automation of the process of histological material morphometry

### Abstract

To study the peculiarities of the histoarchitectonics of a microvascular channel in a pancreas of a rat at the normal and under acute experimental pancreatitis, we used hardware and software complex including a fluorescent microscope “Carl Zeiss Fl 40” with a built-in high-resolution camera and the software package of own elaborating. The procedure of automatic determination of lymphatic and blood microvessels ratio has been developed for the normal and pathological cases.

**Keywords:** *morphometry, microvascular channel, histochemistry, pattern recognition*

### About the author(s)

Maria Vasilieva is a researcher at «E. N. Meshalkin's Novosibirsk Researching Institute of Blood Circulation Pathology», laboratory of experimental surgery and morphology. Her contact email is [mashina2001@ngs.ru](mailto:mashina2001@ngs.ru). Igor Lobiv is a researcher at IIS SibRAS. His contact email is [igor\\_lobiv@mail.ru](mailto:igor_lobiv@mail.ru).

Murzin Feodor Alexandrovich a doctor at IIS SibRAS, scientific secretary of the Institute. His contact email is [murzin@iis.nsk.su](mailto:murzin@iis.nsk.su).