

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

Институт систем информатики СО РАН,

Новосибирск, Россия

igor_lobiv@mail.ru

Институт систем информатики СО РАН,

Новосибирск, Россия

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.

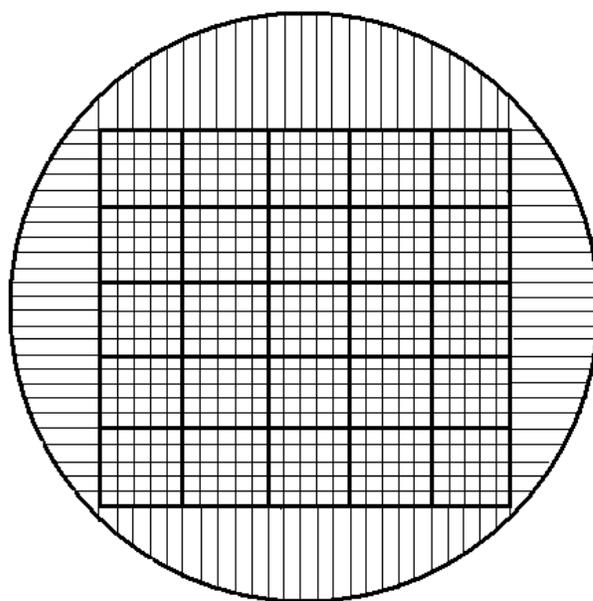


Рис. 1. Вариант окулярной квадратно-сетчатой тестовой системы. Тестовая система окуляра микроскопа со 121 точкой в квадратной сетке.

Данный тип анализа требует огромных временных и личностных затрат исследователя. При подобном анализе гистологического объекта в световом микроскопе с параллельным выделением искомых 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].

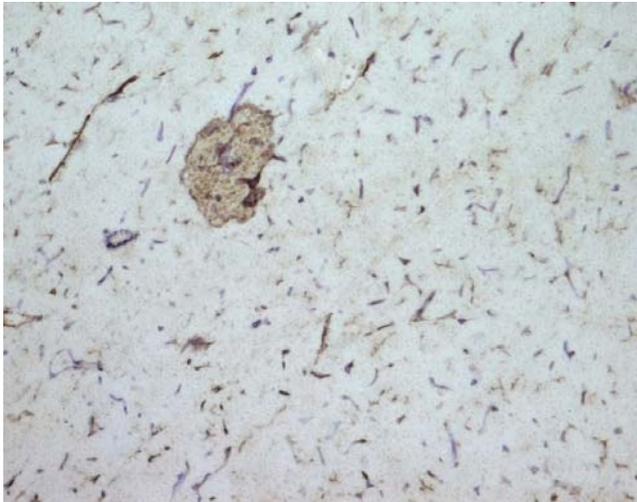


Рис. 2. Поджелудочная железа крысы. Двойное гистохимическое окрашивание на 5'-нуклеотидазу (коричневый цвет микрососудов) и щелочную фосфатазу (синий цвет микрососудов). Увеличение 100.

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 одинопиксельных 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.

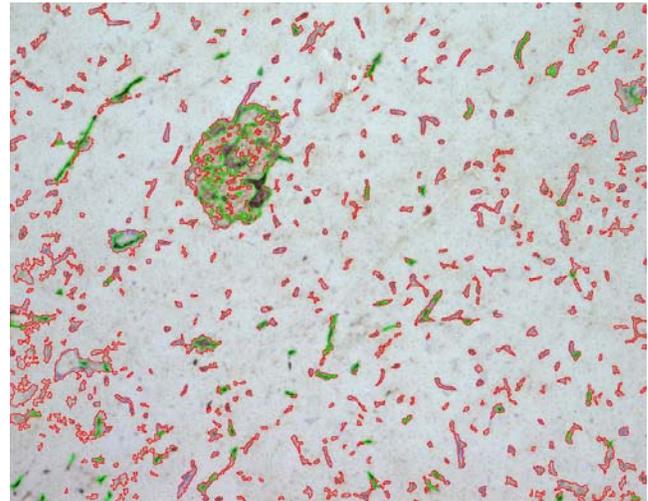


Рис. 3. Поджелудочная железа крысы. Двойное гистохимическое окрашивание на 5'-нуклеотидазу (коричневый цвет микрососудов) и щелочную фосфатазу (синий цвет микрососудов). Увеличение 100. Результат применения собственного программного комплекса. Красным контуром обведены кровеносные микрососуды (имеют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

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

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

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. Igor Lobiv is a researcher at IIS SibRAS. His contact email is 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.