

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-89-95

УДК 611.637:004

14.03.01 – анатомия человека

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© И. А. Петько, А. К. Усович, 2019

Применение программы анализа изображений для определения формы просветов биологических объектов на примере желез простаты человека

И. А. Петько*, А. К. Усович

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

Цель работы – оценить информативность применения компьютерных программ анализа изображений для определения формы просветов биологических объектов на примере возрастных изменений желез простаты человека в разных структурных долях органа.

Материал и методы. Исследовано 37 простат мужчин в возрасте от 17 до 75 лет, с применением программы открытого доступа «ImageFiji». Определение формы просветов концевых отделов желез проводилось на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, фукселином по Hart и азокармином по Heidenhain, в переднемедиальной, верхнемедиальной, нижнезадней, нижнебоковой долях правой и левой половин простаты. Для описания формы просветов концевых отделов желез простаты использовали диаметр Фере и «характеристики формы», включающие следующие факторы формы: округлость, индекс закругленности, индекс компактности. Статистическая обработка полученных данных выполнена при помощи пакетов прикладных статистических программ «Microsoft Excel'2007» и Statistica 10».

Результаты. Обнаружили, что форма просветов концевых отделов желез в каждой из структурных долек простаты с возрастом изменяется не одинаково.

Заключение. Предложенный способ количественного определения изменений формы просветов биологических объектов, основанный на использовании возможностей компьютерной программы анализа изображений ImageFiji, информативен при оценке их изменений. Полученные результаты способствуют расширению имеющихся в настоящее время научных представлений о возрастных преобразованиях желез простаты и могут использоваться как при исследовании возрастных, половых, индивидуальных особенностей строения структур человека и животных, так и на этапе предварительной оценки наличия патологических изменений.

Ключевые слова: анализ изображений, простата, железы, форма просвета, диаметр Фере.

Image Analysis Program Application for Determining the Shape of Lumens of Biological Objects on the Example of Human Prostate Glands

© I.A. Pet'ko*, A.K. Usovich, 2019

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

The aim of study was to evaluate the informative value of computer-based image analysis programs for determining the shape of lumens of biological objects investigating age-related changes in the human prostate glands in various structural lobules of the organ as an example.

Material and methods. The study included 37 men aged 17-75, whose prostates were examined using the open-access program "ImageFiji". Histological slides stained with hematoxylin and eosin, fuchselin with Hart's modification and azocarmine according to Heidenhain were used to determine the shape of lumens of adenomeres in the anteromedial, upper medial, inferior, lower lateral lobes of the right and left halves of the prostate. The Feret diameter and "shape characteristics" were used to describe the shape of the lumens of prostate adenomeres; this including the following shape factors: roundness, roundness index, and compactness index. The obtained data were statistically processed using "Microsoft Excel'2007" and "Statistica 10" programs.

Results. The results obtained demonstrated that the shape of the lumens of adenomeres in each of the structural lobes of the prostate does not vary in the same manner with age.

Conclusion. The proposed method for the quantitative determination of changes in the shape of lumens of biological objects based on the potentials of "ImageFiji", a computer program for analyzing images, is considered to have an informative value when evaluating these changes. The obtained results contribute to the expansion of the current scientific understanding of age-related transformations of the prostate glands and can be used both in the study of age, sex, individual structural features of human and animal structures, and at the stage of preliminary assessment of the presence of pathological changes.

Key words: image analysis, prostate, glands, lumen shape, Feret diameter.

***Автор для переписки:**

Петько Ирина Александровна
Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет, пр-т Фрунзе, 27, Витебск,
210009, Республика Беларусь
E-mail: usovicha@mail.ru

***Corresponding author:**

Irina Pet'ko
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical
University, pr-t Frunze, 27, Vitebsk, 210009, Republic of
Belarus
E-mail: usovicha@mail.ru

Введение

Современные технологии компьютерного анализа изображений интенсивно внедряются в различные сферы деятельности для автоматизированной оценки состояния исследуемых предметов, структур, в том числе и в медицинские исследования [3, 5, 14]. Существуют программы оценки качественных (цвет, плотность) и количественных (размеры) параметров исследуемых объектов. В биомедицинских исследованиях из количественных характеристик традиционно определяют длину, ширину, толщину, площадь, объем, периметр. Форму объекта относили к качественным характеристикам, так как при визуальном определении она являлась понятием субъективным и разными исследователями могла оцениваться по-разному [1]. Разрабатываемые в последние годы компьютерные методы помогают перевести параметр «форма» из качественного в количественный. В морфологии определение формы применяется для установления степени развития патологических изменений органов, составляющих их структур. Установлено, что параметр «форма» является важной подсказкой для определения наличия, степени тяжести некоторых заболеваний головного мозга [7, 8, 9, 11, 16], простаты [6, 17, 18], молочной железы [13]. Применение методов оценки, основанных на определении формы гистологических объектов, позволяет использовать микрофотографии или отсканированные изображения гистологических препаратов, окрашенных по различным методам. Контуры, форма, размеры объектов не изменяются в зависимости от метода окраски.

Цель работы – оценка информативности применения компьютерных программ анализа изображений для достоверного определения формы просветов биологических объектов на примере возрастных изменений желез простаты человека.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на гистологических препаратах простаты 37 юношей и мужчин 17–75 лет, не имевших патологических изменений мочевого аппарата, полученных из фонда кафедры анатомии чело-

века учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет» (табл. 1).

При помощи микроскопа Leica DM 2000 с фотонасадкой (Германия) и цифровой камеры «Leica D-LUX 3» (Германия) на окрашенных гематоксилином и эозином, фукселином по Hart и азокармином по Heidenhain гистологических срезах всех структурных долек простаты, в полях зрения, отобранных методом случайных чисел, по рекомендациям руководств по морфометрии, получали фотографическое изображение желез [1]. Оценку формы просветов желез проводили в переднемедиальной, верхнемедиальной, нижнезадней, нижнебоковой долях правой и левой половин простаты. Полученные микрофотографии желез простаты обрабатывали в программе открытого доступа «ImageFiji» [13]. В приложении программы имеется набор стандартных инструментов, позволяющих проводить корректировку изображения для улучшения его качества. Этот набор включает в себя следующие действия: регулировку контрастности, резкости, яркости и цветности, подавление шума, сглаживание, обнаружение границ и выделение деталей.

Определение формы просвета желез простаты проведено согласно следующему алгоритму:

1. Калибровка, полученных изображений с использованием объект-микрометра, сфотографированного в микроскопе через тот же объектив, что и исследуемые образцы (Analyze→Set scale) (рис. 1)

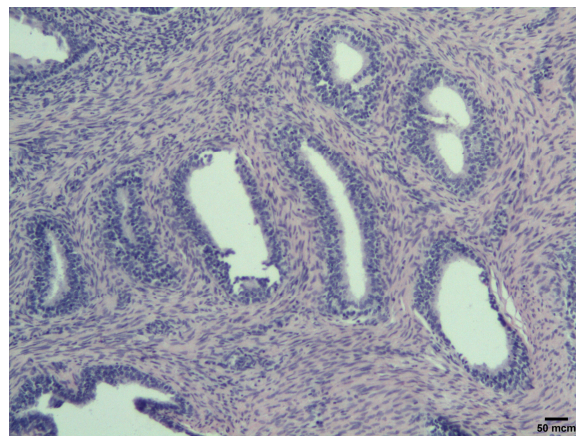


Рис. 1. Изображение желез простаты мужчины 21 года. Переднемедиальная доля. Окраска гематоксилином и эозином.

2. Преобразование изображения в 8-битовое (Image→Type→8 bit) (рис. 2). Условие 8-битового типа изображения обязательно для определения порогов при создании масок объектов.

3. Фильтрация изображения (Process→Filter→Guassien Blur...) (рис. 3). Размывающие фильтры применяются для очистки изображения от шумов и удаления ненужных деталей. Гауссово размывание применяется для

Таблица 1

Распределение материала исследования в соответствии с возрастной группой

Возрастной период	Юношеский возраст	Первый период зрелого возраста	Второй период зрелого возраста	Пожилой возраст
Возраст (лет)	17–21	22–35	36–60	61–75
Число наблюдений	7	8	15	7

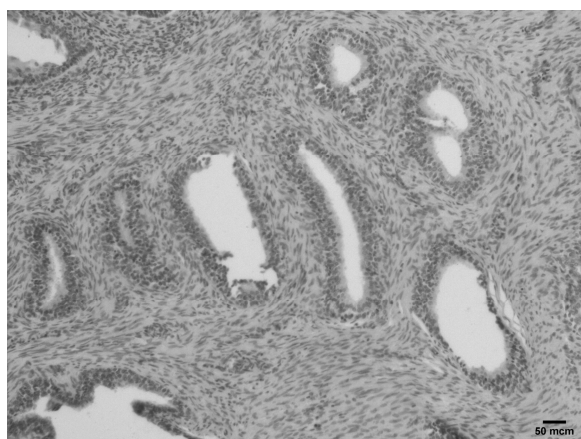


Рис. 2. Изображение желез простаты, преобразованное в 8-битовое.

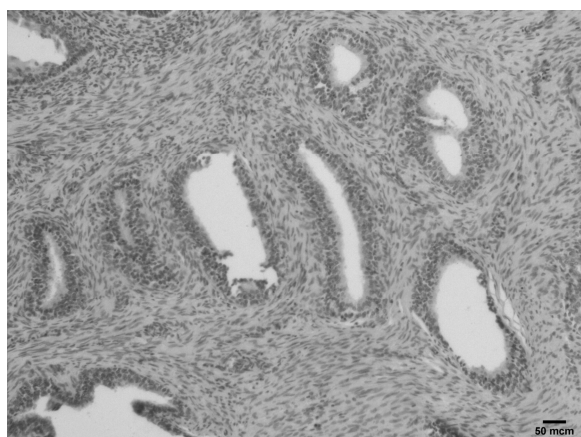


Рис. 3. Изображение желез простаты, обработанное при помощи фильтра.

устранения мелких дефектов, путем размытия изображения. Приведенный пример фильтра удобно использовать, когда снимки уже хранятся в базе изображений, а повторение их съемки проблематично, или при проведении исследований серии снимков с одним и тем же неустранимым дефектом.

4. Установление пределов распознавания (Image→Adjust→Threshold...) (рис. 4).

5. Создание двоичной маски (Process→Binary→Make binary) (рис. 5).

6. Сохранение полученного изображения в формате PNG.

7. Установление параметров измерения (Analyze→Set measurements...). В нашем случае были выбраны «характеристики формы» (Shape descriptors) и «диаметр Фере» (Feret's diameter) (рис. 6).

Для описания формы просветов использовали диаметр Фере и «характеристики формы», включающие следующие факторы фор-



Рис. 4. Изображение просвета желез простаты, преобразованное с помощью установки пределов распознавания.



Рис. 5. Изображение просветов желез простаты, преобразованное с помощью бинарной маски.

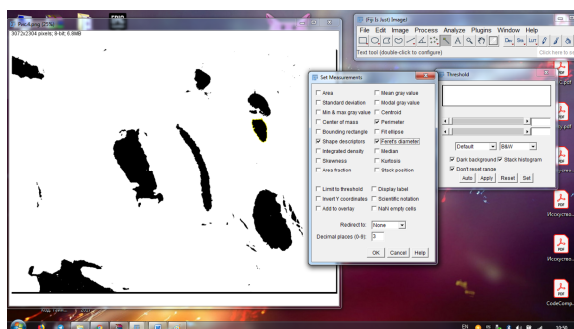


Рис. 6. Выбор параметров измерения.

мы: округлость, индекс закругленности, индекс компактности [5].

Диаметр Фере – это расстояние между касательными к контуру изображения, проведенными параллельно направлению просмотра. В нашем случае для каждого измеряемого просвета выбиралась средняя величина диаметра Фере.

Таблица 2

Показатели формы просветов желез простаты у людей разного возраста (M [1st Qu; 3rd Qu])

Возрастной период	Отдел простаты	Диаметр Фере	Округлость	Индекс закругленности	Индекс компактности
Юношеский возраст	AM	170 (118;318)	0.63(0.59;0.69)	0.47 (0.43;0.68)	0.92 (0.81;0.7)
	SM	158 (74;225)	0.63(0.6;0.77)	0.47 (0.4;0.6)	0.84 (0.68;0.93)
	IL	169(117;319)	0.82(0.73;0.96)	0.61 (0.5;0.7)	0.98(0.95;0.9)
	IP	156 (104;231)	0.5(0.49;0.63)	0.48 (0.36;0.8)	0.83 (0.75;0.9)
Первый период зрелого возраста	AM	177 (106;302)	0.82(0.77;0.96)	0.6 (0.49;0.4)	0.98* (0.9;0.95)
	SM	168(100;296)	0.6(0.59;0.71)	0.47 (0.36;0.62)	0.89* (0.74;0.96)
	IL	211* (170;359)	0.52 (0.42;0.63)	0.46* (0.35;0.6)	0.98 (0.9;0.96)
	IP	199* (128;257)	0.49 (0.44;0.53)	0.43 (0.29;0.5)	0.82 (0.76;0.9)
Второй период зрелого возраста	AM	206* (177;230)	0.72(0.69;0.84)	0.54 (0.42;0.6)	0.94 (0.83;0.9)
	SM	223*(198;352)	0.6 (0.55;0.69)	0.52(0.37;0.6)	0.88 (0.77;0.9)
	IL	241* (139;318)	0.64(0.6;0.75)	0.58* (0.4;0.7)	0.95 (0.7;0.9)
	IP	193 (129;272)	0.41 (0.38;0.5)	0.52 (0.37;0.6)	0.88* (0.78;0.9)
Пожилой возраст	AM	225 (160;334)	0.72 (0.59;0.8)	0.58 (0.42;0.6)	0.94 (0.82;0.9)
	SM	222 (197;352)	0.6 (0.5;0.67)	0.52 (0.37;0.6)	0.88 (0.77;0.9)
	IL	246 (166;356)	0.66 (0.61;0.71)	0.58 (0.48;0.7)	0.95 (0.78;0.9)
	IP	223 (196;353)	0.6 (0.54;0.66)	0.52 (0.37;0.6)	0.88 (0.78;0.9)

Примечание: AM – переднемедиальная доля, SM – верхнемедиальная доля, IL – нижнелатеральная доля, IP – нижнезадняя доля; * – отмечены статистически значимые различия по сравнению с предыдущим периодом.

Округлость (circularity) просветов концевых отделов желез определяется по формуле:

$$\text{Округлость} = 4\pi \frac{\text{area}}{\text{perimeter}^2}$$

Значение округлости – это морфометрический параметр, отличающий степень отличия фигуры от круга, равное 0, формально соответствует бесконечно вытянутому многоугольнику, значение, равное 1 – идеальному кругу.

Мы сочли целесообразным использовать «индекс закругленности (roundness)», так как контуры просветов желез, имеют много небольших выпуклостей на поверхности. Как известно, в этих случаях периметр увеличивается, и значение округлости принимает более низкие значения, тогда как величина индекса закругленности не зависит от неровностей периметра.

$$\text{Индекс закругленности} = \frac{4 \times \text{area}}{\pi [\text{major axis}]^2}$$

«Индекс компактности (solidity)» – отношение площади контура к площади его выпуклой оболочки.

$$\text{Индекс компактности} = \frac{\text{ContourArea}}{\text{ConvexHullArea}}$$

8. Измерение производится при помощи инструмента «Волшебная палочка». Следует учитывать, что некоторая часть просветов некорректно распознана из-за просветов сосудов или просветов в участках стромы, не являющихся просветом желез.

9. Выведение полученных результатов (Analyse→Tools→RIO Manager) и получаем таблицу с данными (рис.7).

10. Сохранение данных в таблице Excel.

11. Статистическая обработка данных.

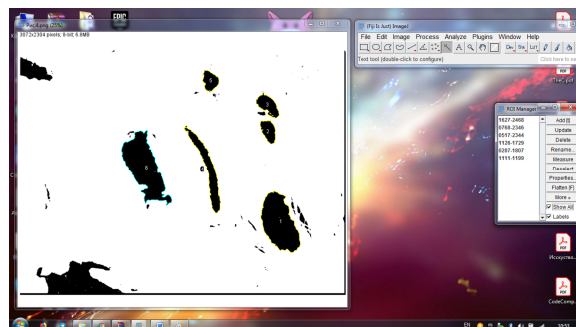


Рис. 7. Использование инструмента «Волшебная палочка» и RIO Manager.

Статистическая обработка данных произведена при помощи пакетов прикладных статистических программ «Microsoft Excel'2007» и Statistica 10». Распределение исследуемых показателей статистически значимо отличалось от нормального (тест Шапиро–Уилка). Полученные результаты оценивались непараметрическими методами математической статистики (W-критерий Вилкоксона для сравнения двух независимых выборок, H-критерий Краскела–Уоллиса для множественного сравнения, post hoc тест Данна с поправкой Бонферрони). Результаты представлены в виде M (1st Qu; 3rd Qu), где M – медиана, 1st Qu – первый квартиль, 3rd Qu – третий квартиль.

Результаты и их обсуждение

Применение вышеописанного алгоритма расчета характеристик формы выявило статистически значимые различия по всем исследуемым показателям между железами разных структурных долек простаты в пределах возрастного периода, как в первом, так и во втором периодах зрелого возраста (табл. 2).

Различия формы желез и их просветов в разных структурных долях простаты муж-

Таблица 3

Сравнение показателей формы просветов желез простаты в структурных долях простаты мужчин юношеского возраста

Сравниваемые отделы	Диаметр Фере	Округлость	Индекс закругленности	Индекс компактности
AM-IL	0.17	<0.05	<0.05	<0.05
AM-IP	0.15	<0.05	0.78	<0.05
IL-IP	0.12	<0.05	<0.05	<0.05
AM-SM	0.09	<0.05	0.9	<0.05
IL-SM	0.7	<0.05	<0.05	<0.05
IP-SM	0.33	<0.05	0.23	0.58

Примечание: AM – переднемедиальная доля, SM – верхнемедиальная доля, IL – нижнелатеральная доля, IP – нижнезадняя доля.

Таблица 4

Сравнение показателей формы просветов желез простаты в структурных долях простаты мужчин первого периода зрелого возраста

Сравниваемые отделы	Диаметр Фере	Округлость	Индекс закругленности	Индекс компактности
AM-IL	<0.05	<0.05	<0.05	0.47
AM-IP	0.13	<0.05	<0.05	<0.05
IL-IP	0.53	0.97	0.14	<0.05
AM-SM	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
IL-SM	<0.05	<0.05	0.7	<0.05
IP-SM	0.47	<0.05	0.08	<0.05

Примечание: см. табл. 3.

Таблица 5

Сравнение показателей формы просветов желез простаты в структурных долях простаты мужчин второго периода зрелого возраста

Сравниваемые отделы	Диаметр Фере	Округлость	Индекс закругленности	Индекс компактности
AM-IL	<0.05	<0.05	0.19	0.64
AM-IP	<0.05	<0.05	0.62	<0.05
IL-IP	<0.05	<0.05	0.17	<0.05
AM-SM	<0.05	<0.05	0.63	<0.05
IL-SM	0.99	0.9	0.9	<0.05
IP-SM	0.98	<0.05	0.89	0.91

Примечание: см. табл. 3.

Таблица 6

Сравнение показателей формы просветов желез простаты в структурных долях простаты мужчин пожилого возраста

Сравниваемые отделы	Диаметр Фере	Округлость	Индекс закругленности	Индекс компактности
AM-IL	0.78	<0.05	0.2	0.61
AM-IP	0.09	<0.05	0.6	<0.05
IL-IP	0.3	0.42	0.2	<0.05
AM-SM	0.65	<0.05	0.6	<0.05
IL-SM	0.99	0.89	0.9	<0.05
IP-SM	0.97	0.91	0.91	0.92

Примечание: см. табл. 3.

чиз зрелого возраста описаны в научных работах [10, 15]. Однако, эти описания основаны на визуальной оценке гистологических препаратов и не могут быть оценены методами математической статистики. У юношей и мужчин пожилого возраста достоверное отличие из характеристик формы просветов между железами разных долей простаты мы установили только для одного параметра – индекса компактности.

Нами также установлено, что форма просветов концевых отделов желез простаты изменяется с возрастом. В простате мужчин первого периода зрелого возраста в сравнении с юношеским возрастом показатель диаметр Фере демонстрирует статистически значимые различия формы просвета концевых отделов желез ($p \leq 0.05$) в нижнебоковой и нижнезадней долях (табл. 3, 4, 5, 6), а в сравнении с вторым периодом зрелого возраста различия

в верхнемедиальной и переднемедиальной долях.

В первом периоде зрелого возраста в сравнении с юношеским и вторым периодом зрелого возраста критерий округлость показал статистически значимое отличие ($p \leq 0.05$) во всех структурных долях простаты. Возрастные изменения величины желез и их просветов в разных долях простаты на основании сравнения их линейных размеров в аналогичные возрастные периоды ранее уже были показаны [2]. Но на основании линейных размеров желез авторы не смогли установить достоверность изменений формы желез по возрастным периодам.

Таким образом, показано, что в периоды функционального становления и возрастной инволюции простаты мужчин имеются изменения не только размеров, но и формы желез в разных структурных долях органа. Подобные возрастные преобразования формы и линейных размеров просветов желез простаты установлены в процессе развития органа в фетальные и неонатальные периоды [2, 4, 12].

Заключение

Использование возможностей компьютерной программы анализа изображений ImageFiji для достоверного определения формы просветов биологических объектов информативно при оценке их изменений. Так как определение формы просвета объектов активно внедряется на этапе предварительной оценки наличия патологических изменений в органах, данные методы следует использовать и при исследовании возрастных, половых, индивидуальных особенностей строения структур человека и животных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство. М.: Медицина; 1990. 384 [Avtandilov GG. Meditsinskaya morfometriya: rukovodstvo. Moscow: Meditsina; 1990. 384] (in Russian).
2. Будник А.Ф., Урусбамбетов А.Х., Богатырева О.Е., Нерсисян Н.А. Паренхима простаты в возрастном аспекте. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2011; 23(3): 70–73 [Budnik AF, Urusbambetov AKh, Bogatyreva OYe, Nersesyan NA. Prostate parenchyma in related aspect. Medical Bulletin of the North Caucasus] (in Russian).
3. Иванова К.А., Комышев Е.Г., Генаев М.А. и др. Оценка количественных характеристик клубнеобразования дикого картофеля на основе анализа изображений клубней с использованием компьютерного приложения SeedCounter. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019; 23(5): 519–26 [Ivanova KA, Komyshev EG, Genaev MA, et al. Image-based analysis of quantitative morphological characteristics of wild potato tubers using the desktop application SeedCounter. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019; 23(5): 519–26] doi: 10.18699/VJ19.35-o (in Russian).
4. Петько И.А., Усович А.К. Морфометрические показатели концевых отделов желез простаты на протяжении пренатального периода и у новорожденных мальчиков. Морфология. 2019; 155(1): 24–8 [Pet'ko IA, Usovich AK. Morphometric indices of end pieces of prostatic glands during prenatal period and in newborn boys. Morfologiya. 2019; 155(1): 24–8] (in Russian).
5. Cervantes E, Martín JJ, Saadaoui E. Updated methods for seed shape analysis. Scientifica. 2016; 1–10.
6. Epstein JI, Allsbrook WC, Amin MB, Egevad LL. The international society of urological pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma. American Journal of Surgical Pathology. 2005; 29: 1228–42.
7. Gerardin E, Chételat G, Chupin M, Cuingnet R, Desgranges B, Kim H-S, et al. Multidimensional classification of hippocampal shape features discriminates Alzheimer's disease and mild cognitive impairment from normal aging. NeuroImage. 2009 Oct; 47(4): 1476–86.
8. Gorczowski K, Styner M, Jeong JY, et al. Multi-object analysis of volume, pose, and shape using statistical discrimination. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. 2010; 32: 652–61.
9. Looi JC, Macfarlane MD, Walterfang M, et al. Morphometric analysis of subcortical structures in progressive supranuclear palsy: In vivo evidence of neostriatal and mesencephalic atrophy. Psychiatry Research: Neuroimaging. 2011; 194: 163–75.
10. McNeal J.E. The zonal anatomy of the prostate. Prostate. 1981; 2(1): 35–49.
11. Pachauri D., Hinrichs C., Chung M., et al. Topology-based kernels with application to inference problems in Alzheimer's disease. IEEE Transactions on Medical Imaging. 2011; 30: 1760–70.
12. Pet'ko IA, Usovich AK. Formation and Transformation of the Human Prostate Gland in Prenatal and Neonatal Periods of Development. Russian Journal of Developmental Biology. 2019; 50(2): 90–4.
13. Rangayyan RM, Nguyen TM. Fractal analysis of contours of breast masses in mammograms. Journal of Digital Imaging. 2007; 20: 223–37.
14. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nature Methods. 2012; 9(7): 676–82.
15. Shah RB, Zhou M. Anatomy and Normal Histology of the Prostate Pertinent to Biopsy Practice. Prostate Biopsy Interpretation: An Illustrated Guide. 2011; 1–10. doi:10.1007/978-3-642-21369-4_1.
16. Smith AD, Szatmari M, Esiri MM, et al. Rapidly progressing atrophy of medial temporal lobe in Alzheimer's disease. Lancet. 1994; 343: 829–30.
17. Sparks R, Madabhushi A. Explicit shape descriptors: Novel morphologic features for histopathology classification. Medical Image Analysis. 2013; 17(8): 997–1009.

18. Tabesh A, Teverovskiy M, Pang H, et al. Multifeature prostate cancer diagnosis and Gleason grading of histological images. IEEE Transaction on Medical Imaging. 2007; 26: 1366–1378.

Поступила в редакцию 11.07.2019

Received 11.07.2019

Принята в печать 21.09.2019

Accepted 21.09.2019

Для цитирования: Петько И.А., Усович А.К. Применение программы анализа изображений для определения формы просветов биологических объектов на примере желез простаты человека. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(3): 89–95. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-89-95

For citation: Pet'ko I.A., Usovich A.K. Image analysis program application for determining the shape of lumens of biological objects on the example of human prostate glands. Journal of Anatomy and Histopathology. 2019; 8(3): 89–95. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-89-95
