

DOI: 10.51790/2712-9942-2020-1-2-5

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАЦИИ Ki-67 С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ КОМПЬЮТЕРНОГО ЗРЕНИЯ****С. А. Котов<sup>1</sup>, С. А. Мозеров<sup>2,a</sup>, С. О. Старков<sup>2,b</sup>**<sup>1</sup> ООО «Модель Спектр», г. Обнинск, Российская Федерация, serj-kotoff@mail.ru<sup>2</sup> Обнинский институт атомной энергетики, Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Обнинск, Российская Федерация<sup>a</sup> mozerov@list.ru, <sup>b</sup> sergeystarkov56@mail.ru

*Аннотация:* в последнее время в качестве средств компьютерной диагностики широкую популярность приобретают элементы из области компьютерного зрения. Целью данной работы является разработка программных средств, позволяющих автоматически анализировать онкомаркированные клетки в образцах медицинских изображений. В процессе работы была решена такая задача, как выявление количества онкомаркированных клеток в образце медицинского изображения. Это стало возможно благодаря тесному взаимодействию с морфологами, обозначившими интересующие их фрагменты снимка, где необходимо было произвести подсчет онкомаркированных клеток, и опыту программиста в решениях подобных задач других областей жизнедеятельности с помощью технологии компьютерного зрения. Медицинские изображения были размечены морфологами и представляли собой срез стекла, на котором были окрашены в определенный цвет онкомаркированные клетки специальным препаратом. Исследуемым органом стал язык. В результате был совершен подсчет иммунопозитивных клеток, что дает морфологам возможность наблюдать более объективную картину в изображении среза стекла образца, позволяющую скорректировать решение в отношении постановки диагноза и назначения необходимого лечения.

*Ключевые слова:* компьютерное зрение, Python, OpenCV, онкомаркер Ki-67.

*Для цитирования:* Котов С. А., Мозеров С. А., Старков С. О. Определение уровня экспрессии маркера пролиферации Ki-67 с помощью технологии компьютерного зрения. *Успехи кибернетики*. 2020;1(2):42–46. DOI: 10.51790/2712-9942-2020-1-2-5.

**ESTIMATION OF THE Ki-67 PROLIFERATION MARKER EXPRESSION LEVEL WITH COMPUTER VISION TECHNOLOGY****Sergey A. Kotov<sup>1</sup>, Sergey A. Mozerov<sup>2,a</sup>, Sergey O. Starkov<sup>2,b</sup>**<sup>1</sup> Model Spektr, OOO, Obninsk, Russian Federation, serj-kotoff@mail.ru<sup>2</sup> Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, National Research Nuclear University MEPhI, Obninsk, Russian Federation<sup>a</sup> mozerov@list.ru, <sup>b</sup> sergeystarkov56@mail.ru

*Abstract:* lately, computer vision technologies have become common computer diagnostics tools. The study objective is the development of software tools to automatically detect cells with proliferation markers on medical images. We managed to qualitatively assess the number of cells with proliferation markers on a medical image sample. We closely cooperated with morphologists who identified the areas of interest on the image where the cells with proliferation markers were to be counted. Another enabler was extensive experience with developing computer vision systems for other applications. The medical images were tokenized by the morphologists. The images were slices where the proliferation marker cells were dyed. The organ under investigation was the tongue. We counted the immune-positive cells. It helped the morphologists to have some objective slice image metrics used to adjust the diagnosis and therapy plans.

*Keywords:* computer vision, Python, OpenCV, Ki-67 proliferation marker.

*Cite this article:* Kotov S. A., Mozerov S. A., Starkov S. O. Estimation of the Ki-67 Proliferation Marker Expression Level with Computer Vision Technology. *Russian Journal of Cybernetics*. 2020;1(2):42–46. DOI: 10.51790/2712-9942-2020-1-2-5.

## Введение

В настоящее время наблюдается бурный рост развития средств компьютерной диагностики. Сама по себе аналитика служит медицине уже более 40 лет, но лишь в последнее десятилетие ее использование в здравоохранении вышло на новый уровень: появились мощные инструменты, в том числе на основе технологий компьютерного зрения, машинного обучения и т.д.

Компьютерное зрение — технология, позволяющая производить детекцию и классификацию объектов. Сама по себе, как научная дисциплина, она относится к тематике обработки изображений, а в технической составляющей ее применяют в системах видеонаблюдения, управления промышленными процессами, моделирования объектов, и в последнее время очень популярны подобные системы в построении дополненной реальности.

Программно подобные системы реализуются с помощью библиотек алгоритмов компьютерного зрения с открытым исходным кодом, таких как Open computer vision (OpenCV) или Point Cloud Library (PCL).

В статье рассматриваются возможности визуального анализа маркера, обсуждается техническая сторона реализации определения его уровня экспрессии на основе технологии компьютерного зрения, приведены основные результаты анализа.

## Маркер пролиферации Ki-67

В основе развития злокачественных опухолей лежит пролиферация клеток, которая приводит к увеличению числа атипических элементов. Для определения особенностей пролиферации клеток злокачественных опухолей наиболее распространенным маркером пролиферации является антиген Ki-67, который экспрессируется практически во всех фазах митотического цикла, кроме фазы покоя  $G_0$ , и, соответственно, отражает величину пролиферативного пула [1]. Синтез белка Ki-67 начинается в середине фазы  $G_1$  митоза, и, постепенно нарастая, его уровень достигает максимума в метафазе, затем резко снижаясь в анафазе. Антиген Ki-67, выявляемый соответствующими моноклональными антителами, представляет собой короткоживущий протеин, он разрушается в течение 1,5-2 часов. Поэтому антитела к Ki-67 выявляют только делящиеся клетки, так как Ki-67 не успевает накапливаться и не остается в покоящихся клетках.

Традиционный подсчет митотической активности не отражает пролиферативный потенциал опухоли, так как собственно митоз занимает несколько часов, а подготовка к нему — около 24 ч. Изучение негистонового протеина Ki-67, экспрессирующегося во всех клетках, вышедших из  $G_0$  и ранней  $G_1$  фазы митоза, позволяет определить именно скрытый пролиферативный потенциал опухоли.

Пролиферативная активность прямо коррелирует со степенью гистологической злокачественности, степенью инвазии, наличием метастазов. Физиологическая роль антигена Ki-67 в жизни клетки пока еще не ясна. Тем не менее его присутствие на всех активных фазах митотического цикла позволяет использовать данный белок в качестве универсального маркера пролиферации при оценке активности роста злокачественных новообразований. Темп роста опухолевой массы представляет очень важную информацию для определения онкологической сущности опухоли и ее агрессивности. В таких случаях показатель пролиферативной активности ее является одним из решающих факторов, учитываемых при выборе тактики лечения [2].

## Методика разработанной искусственной системы оценки уровня экспрессии маркера Ki-67

Для построения этой искусственной системы получения объективной оценки необходимо решить следующие задачи:

1. Применение математического метода выделения пятен двух типов: коричневого и синего цвета, где клетки рассматриваются как пятна определенного цвета.
2. Расчет соотношения площадей пятен разного цвета на изображении. Необходимое условие — классификация относительно соотношения избытка одного из типов пятен.

Непосредственно реализация системы выполняется программно на языке программирования Python и с помощью библиотеки компьютерного зрения OpenCV [3]. Структура функционирования программного обеспечения показана на рис. 1.

Рассмотрим основные этапы предлагаемого подхода:

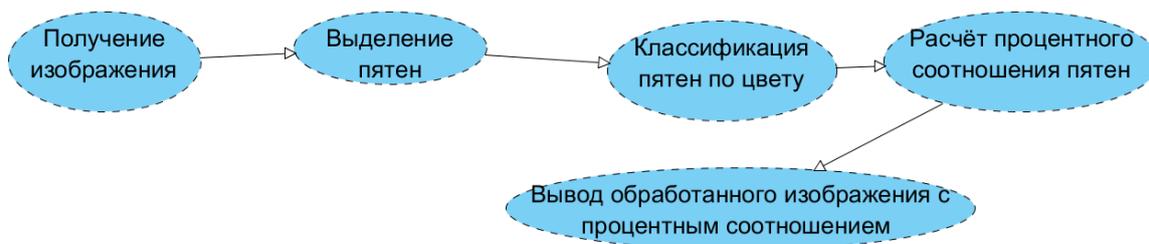


Рис. 1. Схема функционирования программного обеспечения

### 1. Выделение пятен.

После получения первичного изображения необходимо реализовать процедуру выделения пятен. Для этого используем Адаптивный порог из библиотеки OpenCV [4]:

```
mask = cv2.adaptiveThreshold(cv2.cvtColor(img, cv2.COLOR_BGR2GRAY), 255, \
cv2.ADAPTIVE_THRESH_GAUSSIAN_C, cv2.THRESH_BINARY, 1931, 3)
```

Следующим шагом является очистка маски от слишком мелких вкраплений пикселей. Для этого размываем маску и снова применяем такой же адаптивный порог. Чтобы компенсировать небольшое расширение черных пятен при процедуре очистки, применяется функция сужения чёрных областей маски. Так же используем библиотеку OpenCV [5]:

```
mask = cv2.GaussianBlur(mask, (15, 15), 0)
mask = cv2.adaptiveThreshold(mask, 255, \
cv2.ADAPTIVE_THRESH_GAUSSIAN_C, cv2.THRESH_BINARY, 1931, 3) \
kernel = np.ones((5, 5), np.uint8)
mask = cv2.dilate(mask, kernel, iterations = 1)
return mask
```

В итоге сочетания этих методов и функций получаем маску для отсечения светлого фона (выделения пятен):

```
mask = clear_mask(get_mask(img))
```

### 2. Классификация пятен по цвету.

Следующим шагом является операция разделения: какие пятна относятся к коричневым, а какие — к синим. К коричневым пикселям будем относить пиксели, для которых выполнены следующие условия:

1. Находится внутри пятна ( $mask == 0$ ).
2. Интенсивность синего меньше интенсивности красного или оба одновременно: синий меньше 120 и красный меньше 110, интенсивность зеленого меньше интенсивности красного.
3. К голубым пикселям относим все пиксели пятен, которые не оказались коричневыми.
4. Расчет процентного соотношения пятен.

Расчёт количества пятен коричневых и синих основан на оценке их общей площади. Находятся соотношения между пятнами в процентах: соотношения как для избытка коричневых, так и для избытка голубых пятен, которые отличаются лишь тем, что именно стоит в знаменателе. Но, несмотря на то, что мы считаем оба изображения, пользователь видит один подсчёт: минимальный. Алгоритм действий следующий:

1. Находим соотношение между ними и голубыми и коричневыми клетками.
2. Вычисляем, какое из соотношений получилось меньше.
3. Создается копия исходного изображения и накладывается маска с выделенными на нём пятнами. Создается копия изображения, на которое наносятся коричневые и голубые пиксели.
4. Пользователю возвращается соотношение в процентах и обработанное итоговое изображение.

### Полученные результаты

На основе анализа изображений были выявлены клетки, окрашенные в синий и коричневый цвет, посчитано их соотношение, предоставлен выбор обработки одного или нескольких изображений. При обработке данной программы пользователь получает фотографию с выделенными клетками и их процентное соотношение. Графический результат показан на рис. 2.

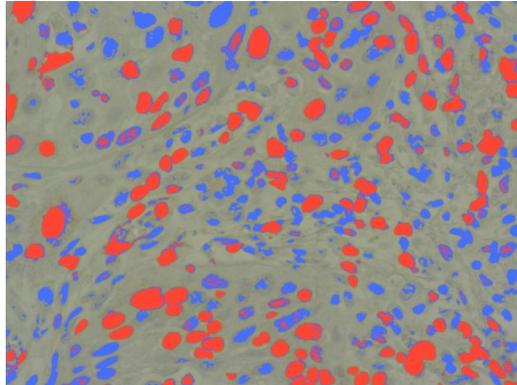


Рис. 2. Графический результат выполнения программы

Медицинские изображения онкомаркера Ki-67 и основные результаты анализа — избыток коричневых и голубых клеток, полученные в результате обработки программы, представлены в таблице.

Таблица

№ картинки	Медицинское изображение	Избыток	№ картинки	Медицинское изображение	Избыток
1		Коричневых клеток 70 процентов	4		Коричневых клеток 96 процентов
2		Голубых клеток 30 процентов	5		Голубых клеток 39 процентов
3		Коричневых клеток 60 процентов			

Результаты анализа показаны для областей, где непосредственно находится интересующая область для врача, а не для всего медицинского изображения.

### Заключение

В первой части программной реализации решена задача выявления на фотографиях клеток, окрашенных в синий и коричневый цвет (иммунопозитивных клеток), и подсчёта их соотношения. С учетом того, что пролиферативная активность клеток опухолей человека коррелирует со степенью их гистологической и биологической злокачественности, подсчет индекса пролиферации с помощью компьютерного зрения значительно повышает объективность данных. Возможность дальнейшего развития текущего программного продукта заключается в увеличении цветового диапазона пятен, для расширения обрабатываемого программой набора данных, в доработке подсчета клеток, поскольку пока погрешность составляет 5 %.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Иммуногистохимические методы: руководство* / Пер. с англ. под ред. Г. А. Франка и П. Г. Малькова. М., 2011. 224 с.
2. Волченко Н. Н., Франк Г. А. *Комплекс морфологических и прогностических факторов при раке молочной железы: пособие для врачей*. М., 2000.
3. *OpenCV*. Режим доступа: [opencv.org](http://opencv.org).
4. Жуков А. Технологии на службе медицины: аналитика и искусственный интеллект против рака. Режим доступа: <https://medvestnik.ru/content/interviews/Tehnologii-na-službe-mediciny-analitika-i-iskusstvennyi-intellekt-protiv-raka.html>.
5. *Morphological Transformations*. Режим доступа: [https://opencv-python-tutroals.readthedocs.io/en/latest/py\\_tutorials/py\\_imgproc/py\\_morphological\\_ops/py\\_morphological\\_ops.html?highlight=dilate#dilation](https://opencv-python-tutroals.readthedocs.io/en/latest/py_tutorials/py_imgproc/py_morphological_ops/py_morphological_ops.html?highlight=dilate#dilation).
6. Шапиро Л., Стокман Дж. *Компьютерное зрение*. М.: Бином. Лаборатория знаний; 2006. 752 с. ISBN 5-94774-384-1.
7. Форсайт Д., Понс Ж. *Компьютерное зрение. Современный подход = Computer Vision: a Modern Approach*. М.: Вильямс; 2004. 928 с. ISBN 5-8459-0542-7.