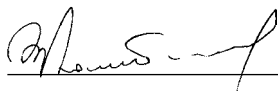


**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра



В.В. Колбанов

31 декабря 2003 г.

Регистрационный № 10–0103

**ДИАГНОСТИКА КАРЦИНОМЫ
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
В ЗАТРУДНИТЕЛЬНЫХ СЛУЧАЯХ
МЕТОДОМ МОРФОМЕТРИИ**

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: Белорусский государственный медицинский университет

Учреждение-соисполнитель: Объединенный институт проблем информатики НАНБ

Авторы: д-р биол. наук В.А. Кириллов, Е.Е. Стебеньева, д-р мед. наук, проф., акад. Е.П. Демидчик, д-р техн. наук, проф. С.В. Абламейко, Н.И. Парамонова

ВВЕДЕНИЕ

В результате катастрофы на Чернобыльской АЭС около 2,2 млн человек (22% всего населения) подверглись радиационному воздействию. В первые 3 мес. чувствительную лучевую нагрузку за счет инкорпорированных изотопов йода получила щитовидная железа, что вызвало значительный рост тиреоидных заболеваний. В настоящее время зарегистрировано несколько сотен тысяч больных различными формами заболеваний щитовидной железы, из которых более чем у 7 000 выявлена карцинома, в том числе на начало 2003 г. — у 1 140 детей и подростков, подвергшихся радиационному воздействию в 1986 г. Из них у 766 человек наблюдаются регионарные метастазы тиреоидной карциномы. В стране ежегодно оперируются около 3 000 человек.

Одним из наиболее достоверных методов верификации диагноза на дооперационном этапе является цитологическое исследование пункционного материала щитовидной железы и лимфатических узлов шеи. Но, как правило, при пунктировании 25–50% мазков пунктатов оказываются неинформативными, т.к. они содержат только форменные элементы крови. Ранее было показано, что соотношение малых и больших лимфоцитов в тканях щитовидной железы и лимфатических узлов шеи изменяется при злокачественной патологии. Наиболее адекватно такие изменения популяции клеток лимфоидного ряда можно оценить с помощью компьютерной морфометрии.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Метод используется в случае получения при аспирационной биопсии неинформативных мазков пунктатов (адекватность препарата оценивается цитологом). Цитологический препарат считается неадекватным, если в нем при исследовании биопсийного материала как щитовидной железы, так и лимфатических узлов шеи присутствуют только форменные элементы крови, а в случае материала щитовидной железы он содержит менее 12 агрегатов специализированных клеток — тироцитов.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Для проведения световой морфометрии используется компьютерный анализатор изображений на базе персонального компьюте-

ра, светового микроскопа, цветной видеокамеры, захватчика кадров и соответствующее программное обеспечение.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА С УКАЗАНИЕМ ЭТАПОВ

Дифференциация злокачественных и доброкачественных заболеваний щитовидной железы

Этап 1. На аспирационную биопсию направлялись пациенты, у которых по данным пальпации или УЗИ подозревалась патология щитовидной железы и были обнаружены узловые образования в щитовидной железе.

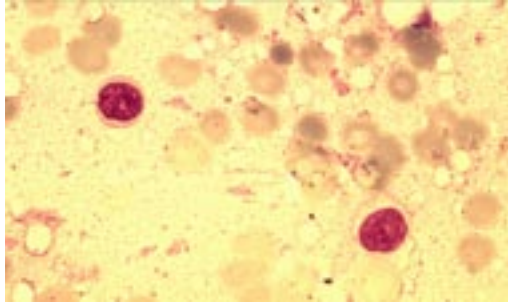
Этап 2. После получения аспирационного материала его нанесли на предметные стекла и ребром иглы равномерно распределяли по их поверхности.

Этап 3. После нанесения биологического материала на обезжиренные предметные стекла мазки высушивались на воздухе. Затем заливались красителем-фиксатором (эозин метиленовый синий) по Май-Грюнвальду на 3 мин. После этого мазок переносили в рабочий раствор красителя (азур-эозин) по Романовскому — Гимзе на 20–30 мин. Затем препараты ополаскивали дистиллированной водой и высушивали на воздухе.

Этап 4. Оценка цитологического препарата на предмет наличия тироцитов с помощью световой микроскопии. В случае их отсутствия препарат считался неинформативным.

Этап 5. Отбор изображений. С помощью компьютерного анализатора цветное изображение цитологического объекта выводилось на экран монитора (рис. 1). В процессе просмотра 80–100 полей зрения с объективом $\times 90$ или $\times 100$ отбирались картинки, содержащие лимфоидные клетки с таким расчетом, чтобы их общее число достигало 150 клеток. Файлы с изображениями заносились в соответствующую базу данных.

Этап 6. Обработка изображений. Компьютерная обработка цветных изображений осуществлялась в автоматическом режиме рядом последовательных операций: сегментация (рис. 2), оконтуривание (рис. 3) с последующим расчетом исходных параметров (рис. 4). Исходные морфометрические параметры лимфоидных клеток заносились в соответствующую базу данных.



*Рис. 1. Изображение неинформативного цитологического препарата.
Видны лимфоидные клетки*

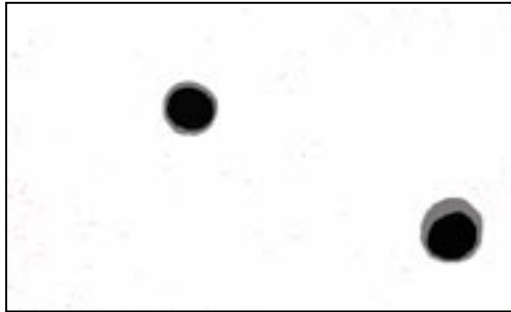
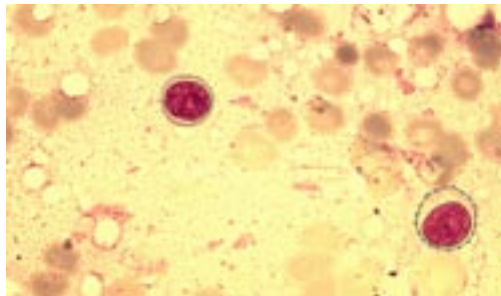


Рис. 2. Результат сегментации лимфоидных клеток



*Рис. 3. Результат оконтуривания лимфоидных клеток
в автоматическом режиме*

Этап 7. Статистическая обработка исходных данных:

1. Расчет средних значений площади (S) и диаметра (D) проводился по 150 клеткам. Операция осуществлялась в автоматическом режиме (рис. 5).

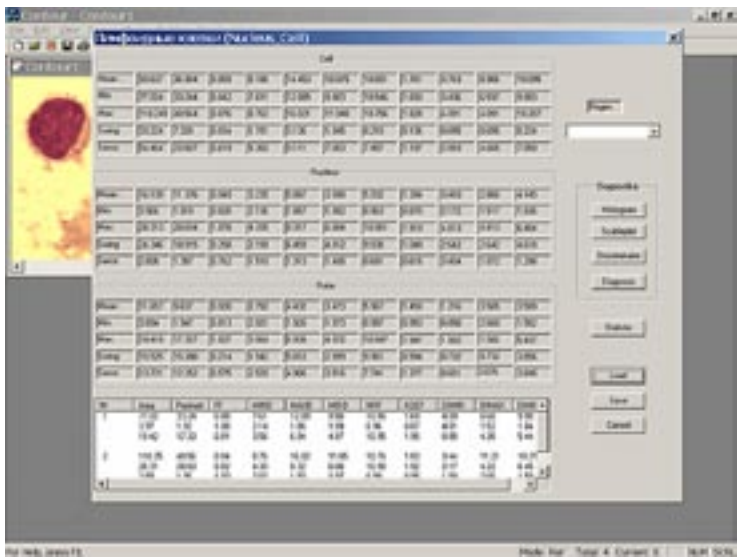


Рис. 4. Морфометрическая база данных параметров лимфоидных клеток

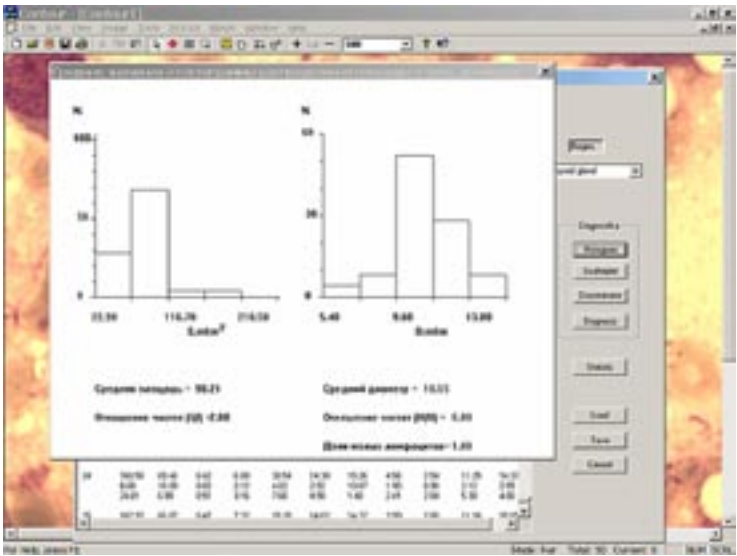


Рис. 5. Гистограммы распределения площади и среднего диаметра лимфоидных клеток

2. Построение гистограмм распределения площади и диаметра клеток осуществлялось по базе морфометрических данных. Расчет отношения частот на гистограммах площади (F_S) и диаметра (F_D), также доли малых лимфоцитов (η) в общей популяции лимфоидных клеток проводился в автоматическом режиме (рис. 5).

3. Регрессионный анализ. Диаграммы рассеяния диаметра и площади клеток строились по базе данных. Затем к скоплению экспериментальных точек подбирались регрессионные кривые второго порядка $y = ax^2 + bx + c$. По уравнению кривой определялись коэффициенты полинома a , b и c . Все процедуры осуществлялись в автоматическом режиме (рис. 6).

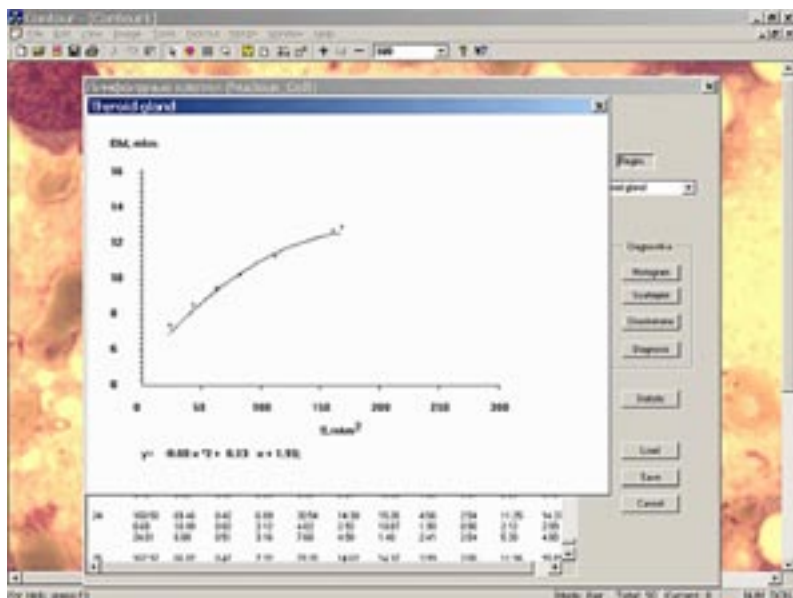


Рис. 6. Диаграмма рассеяния зависимости диаметра от площади лимфоидных клеток и регрессионная кривая второго порядка

4. Дискриминантный анализ. Сортировка лимфоидных клеток проводилась с помощью решающего правила, построенного по Байесову подходу для пары «злокачественная-доброкачественная патология». При этом автоматически определялся процент клеток (дискриминантный порог — D_{th}) с количественными параметрами характерными для тиреоидной карциномы.

Этап 8. Постановка диагноза с помощью экспертной системы. Полученные после статистической обработки исходных данных морфометрические параметры лимфоидных клеток ткани щитовидной железы автоматически заносились в X-матрицу в определенный столбец или строку. Затем компьютерная программа в режиме реального времени автоматически сравнивала полученные X-матрицы с S-матрицами (система граничных значений диагностических решающих критериев на базе совокупности морфометрических параметров лимфоидных клеток ткани щитовидной железы, см. табл. 1). Программа фиксировала совпадение элементов x_{ij} X-матрицы с соответствующими элементами s_{ij} каждой S-матрицы. Диагностический показатель рассчитывался по сумме значений весовых коэффициентов параметров, попавших в заданный диапазон системы при сравнении параметров исследуемого препарата с соответствующими параметрами группы злокачественной патологии (рис. 8, табл. 1, формула 1).

Таблица 1

Система граничных значений диагностических решающих критериев на базе совокупности морфометрических параметров лимфоидных клеток ткани щитовидной железы для дифференциации тиреоидной карциномы

Морфометрические параметры лимфоидных клеток	Граничные значения параметров	Весовой коэффициент, %
Средняя площадь клеток	>82,6	10,2
Средний диаметр клеток	>10,0	11,9
Отношение частот на гистограммах распределения клеток	>1	12,8
Отношение частот на гистограммах распределения среднего диаметра клеток	>1	11,9
Доля малых лимфоцитов	0–3	13,2
Коэффициент а уравнения регрессии	>-1,21	8,4
Коэффициент b уравнения регрессии	<8,40	9,2
Свободный член с уравнения регрессии	>4,08	9,0
Дискриминантный индекс	≥68,5	13,4

$$D = \sum_{i=1}^n k_i p_i \quad (1)$$

где k_i – весовой коэффициент i -го параметра лимфоидных клеток, а

$$p_i = \begin{cases} 1, & \text{если величина параметра принадлежит диапазону системы} \\ 0, & \text{если величина параметра не принадлежит диапазону системы} \end{cases}$$

Пример 1: Больной С., 13 лет. Предварительный диагноз — узловое образование щитовидной железы. После отбора цитологических изображений, их компьютерной обработки и статистического анализа исходной базы данных были получены следующие значения морфометрических параметров лимфоидных клеток: $S = 83,4$; $D = 10,2$; $F_S = 2,2$; $F_D = 1,6$; $\eta = 1,1$; $a = -1,5 \times 10^{-4}$; $b = 8,7 \times 10^{-2}$; $c = 4,0$; $D_{th} = 75,0$. Данные параметры автоматически заносятся в X_1 -матрицу. После сравнения с S -матрицей с учетом весовых коэффициентов (табл. 1, формула 1) рассчитывается диагностический индекс $D_1 = 10,2 + 11,9 + 12,8 + 11,9 + 13,2 + 13,4 = 73,4\%$. Следовательно, диагноз заболевания — рак щитовидной железы. Послеоперационный диагноз — папиллярный рак щитовидной железы.

Пример 2: Больной К., 43 года. Предварительный диагноз — узловое образование щитовидной железы. После отбора цитологических изображений, их компьютерной обработки и статистического анализа исходной базы данных были получены следующие значения морфометрических параметров лимфоидных клеток: $S = 71,7$; $D = 9,4$; $F_S = 0,8$; $F_D = 0,8$; $\eta = 11,0$; $a = -2,2 \times 10^{-4}$; $b = 9,9 \times 10^{-2}$; $c = 3,5$; $D_{th} = 54,5$. Данные параметры автоматически заносятся в X_2 -матрицу. После сравнения с S -матрицей с учетом весовых коэффициентов (табл. 1, формула 1) рассчитывается диагностический индекс $D_2 = 0\%$. Следовательно, заболевание щитовидной железы доброкачественной природы. Послеоперационный диагноз — фолликулярная аденома.

Дифференциация регионарных метастазов папиллярного рака щитовидной железы

Этап 1. Показаниями к проведению аспирационной биопсии лимфатических узлов шеи при наличии папиллярного рака являются: пальпаторно выявленные увеличенные лимфатические узлы (югулярные или паратрахеальные), в которых подозревается наличие метастазов; обнаружение узловых образований, выявленных при УЗИ.

Сходным образом и в той же последовательности этапов 2–7 осуществляется выявление наличия метастазов в лимфатических узлах шеи.

Этап 8. Постановка диагноза с помощью экспертной системы. Полученные после статистической обработки исходных данных

морфометрические параметры лимфоидных клеток ткани лимфатических узлов шеи (югулярных или паратрахеальных) автоматически заносились в X-матрицу в определенный столбец или строку. Затем компьютерная программа в режиме реального времени автоматически сравнивала полученные X-матрицы с S-матрицами (система граничных значений диагностических решающих критериев на базе совокупности морфометрических параметров лимфоидных клеток лимфатических узлов шеи, см. табл. 2). Программа также фиксировала совпадение элементов x_{ij} X-матрицы с соответствующими элементами s_{ij} каждой S-матрицы. Диагностический показатель рассчитывался по сумме значений весовых коэффициентов параметров, попавших в заданный диапазон системы при сравнении параметров исследуемого препарата с соответствующими параметрами группы с метастазами папиллярного рака (формула 1, табл. 2).

Таблица 2

Система граничных значений диагностических решающих критериев на базе совокупности морфометрических параметров лимфоидных клеток ткани лимфатических узлов шеи для дифференциации метастазов папиллярного рака

Морфометрические параметры лимфоидных клеток	Граничные значения параметров	Весовой коэффициент, %
Средняя площадь клеток	$\geq 51,0$ мкм ²	12,6
Средний диаметр клеток	$\geq 7,9$ мкм	12,6
Отношение частот на гистограммах распределения площади клеток	≥ 1	11,8
Доля малых лимфоцитов	4–27,3%	12,6
Коэффициент а уравнения регрессии	$\leq -2,8$	12,6
Коэффициент b уравнения регрессии	$\geq 11,0$	12,6
Свободный член с уравнения регрессии	$\leq 3,2$	12,6
Дискриминантный индекс	$\geq 43,3\%$	12,6

Пример 3: Большой М., 27 лет. Гистологически верифицированный диагноз — папиллярный рак щитовидной железы. У больного обнаружены увеличенные югулярные лимфатические узлы шеи. После отбора цитологических изображений, их компьютерной обработки и статистического анализа исходной базы данных были получены следующие значения морфометрических параметров лимфоидных клеток: $S = 60,8$; $D = 8,7$; $F_s = 1,2$; $\eta = 27,4$; $a = -2,2 \times 10^{-4}$; $b = 10,1 \times 10^{-2}$; $c = 3,4$; $D_{th} = 65,8$. Данные параметры автоматически заносятся в X_3 -матрицу. После сравнения с

S-матрицей с учетом весовых коэффициентов (табл. 2, формула 1) рассчитывается диагностический индекс $D_3 = 12,6 + 12,6 + 11,8 + 12,6 + 12,6 + 12,6 + 12,6 + 12,6 = 100,0\%$. Следовательно, в лимфатическом узле констатируют наличие метастазов папиллярного рака. Послеоперационный гистологический диагноз — метастазы папиллярного рака.

Пример 4: Умерший Щ., 24 года. После отбора цитологических изображений лимфоидных клеток ткани югулярного лимфатического узла, их компьютерной обработки и статистического анализа исходной базы данных были получены следующие значения морфометрических параметров клеток лимфоидного ряда: $S = 32,2$; $D = 6,4$; $F_s = 0,1$; $\eta = 95,9$; $a = -5,1 \times 10^{-4}$; $b = 13,3 \times 10^{-2}$; $c = 2,6$; $D_{th} = 1,3$. Данные параметры автоматически заносятся в X_4 -матрицу. После сравнения с S-матрицей с учетом весовых коэффициентов (табл. 2, формула 1) рассчитывается диагностический индекс $D_4 = 0\%$. Следовательно, в югулярном лимфатическом узле констатируют отсутствие метастазов папиллярного рака. Гистологическое заключение — лимфатический узел в норме.