

**Н.А. ЭНГЛЕВСКИЙ,**

младший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ, г. Томск, Россия, nicolayenglevskiy@gmail.com

С.С. ГУТОР,

аспирант кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ, г. Томск, Россия, ssgutor@gmail.com

Б.В. ШИЛОВ,

доцент кафедры физиологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия, borisshilov@gmail.com

В.А. КАЗАКОВ,

старший научный сотрудник ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН, г. Томск, Россия, vkazakov@cardio.tsu.ru

С.Л. АНДРЕЕВ,

младший научный сотрудник ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН, г. Томск, Россия, anselen@rambler.ru

И.В. СУХОДОЛО,

зав. кафедрой морфологии и общей патологии СибГМУ, г. Томск, Россия, suhodolo@sibmail.com

СОЗДАНИЕ ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ АВТОМАТИЗАЦИИ МОРФОМЕТРИИ МИОКАРДА ПРИ ВЫБОРЕ МЕТОДА ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

УДК 025.4.03

Энглевский Н.А., Гутор С.С., Шилов Б.В., Казаков В.А., Андреев С.Л., Суходоло И.В. *Создание программного комплекса для автоматизации морфометрии миокарда при выборе метода оперативного лечения больных ишемической кардиомиопатией* (ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск, Россия; ФБГУ «Научно-исследовательский институт кардиологии» Сибирского отделения РАМН, г. Томск, Россия; ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, г. Москва, Россия)

Аннотация. У 5–25% больных ишемической кардиомиопатией после перенесенной вентрикулопластики с аортокоронарным шунтированием в отдаленном послеоперационном периоде происходит возврат гемодинамических показателей к дооперационным значениям и прогрессирование сердечной недостаточности. В прогнозе данного исхода немаловажное значение имеет морфологическое состояние миокарда. Разработанный программный комплекс для автоматизированной морфометрии миокарда предназначен для объективизации и оптимизации морфометрического исследования миокарда с использованием автоматизации морфометрии.

Ключевые слова: имейджинг, автоматический анализ изображений, ишемическая кардиомиопатия, ремоделирование левого желудочка.

UDC 025.4.03

Englevskiy N., Gutor S., Shilov B., Kazakov V., Andreev S., Suhodolo I. *Software developing used in the automatization of myocardial morphometry to choose the surgical treatment methods for patients with ischemic cardiomyopathy* (Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; FSBI «RI Cardiology» SB RAMS, Tomsk, Russia; Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia)

Annotation. In 5–25% of patients with ischemic cardiomyopathy after ventriculoplasty with coronary artery bypass grafting occur to return of hemodynamic parameters to preoperative values and to progress of heart failure in outcome. The morphological state of myocardium is very importance in prognosis of outcomes. Development software designed for objectification and optimization of morphometric test in myocardium with automatization of morphometry.

Keywords: imaging, automatic image analysis, ischemic cardiomyopathy, left ventricular remodeling.



Введение

По данным ВОЗ, за год в мире от болезней умирают 58 млн. человек, из них 19 млн. (33%) от заболеваний сердечно-сосудистой системы [3]. Ведущее положение среди сердечно-сосудистых заболеваний занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС), на долю которой приходится 60% случаев [6, 7].

По данным разных авторов, в 10–35% случаев у больных ИБС развивается ишемическая кардиомиопатия (ИКМП), обусловленная диффузным, значительно выраженным атеросклерозом коронарных артерий и проявляющаяся кардиомегалией, известной под термином «ремоделирование сердца», а также симптомами застойной сердечной недостаточности [6, 7, 8].

Современные методы хирургического лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН) включают в себя реваскуляризацию миокарда, пластические вмешательства на атрио-вентрикулярных клапанах и их протезирование, реконструкцию полости левого желудочка (ЛЖ), электрофизиологические методы лечения, искусственный левый желудочек [7].

Из всех вышеперечисленных методов оптимальным и самым распространенным в качестве хирургического лечения пациентов с постинфарктным ремоделированием сердца является метод реконструкции полости ЛЖ [1, 6, 9]. Однако после данного хирургического вмешательства в отдаленном послеоперационном периоде у 25% пациентов размеры камер сердца и показатели гемодинамики вновь достигают дооперационного уровня (происходит повторное ремоделирование ЛЖ), а иногда даже превышают их (то есть происходит прогрессирование ХСН) [9, 11].

Послеоперационное ремоделирование ЛЖ — крайне серьезная и актуальная проблема современной кардиологии и кардиохирургии. Процесс ремоделирования сердца представляет собой совокупность изменений формы, объема полостей и массы миокарда

постинфарктного сердца в ответ на выраженные неадекватные гемодинамические условия его функционирования.

Первые поиски морфологических предикторов послеоперационного ремоделирования сердца при кардиомиопатиях зарубежные и русские исследователи начали вести 11–13 лет назад, анализируя течение послеоперационного периода и оценивая морфофункциональное состояние миокарда ЛЖ по данным интраоперационных биопсий.

В 2007 году российскими учеными Шипулиным В.М., Казаковым В.А., Суходоло И.В. и др. был предложен «Способ прогнозирования послеоперационного ремоделирования сердца у больных ишемической кардиомиопатией» (Патент № 2310372). Патентный способ позволяет прогнозировать послеоперационное ремоделирование сердца, основываясь на одновременном наличии патоморфологической картины миокардита и следующих значений: паренхиматозно-стромальное отношение $< 1,5$, трофический индекс $< 0,010$, зона перикапиллярной диффузии > 1000 мкм и индекс Керногана $> 1,6$ [12]. Наличие всех этих факторов одновременно является предиктором повторного послеоперационного ремоделирования ЛЖ [8].

Морфометрическое исследование вообще и биоптатов миокарда, в частности, очень субъективно и его результат сильно зависит от квалификации исследователя, который его проводит. Поэтому целью данной работы явилась автоматизация морфометрии для объективизации и ускорения морфометрического исследования миокарда.

Автоматизация анализа медико-биологических объектов

Микрообъекты в биологии и медицине изучают в основном с помощью оптических микроскопов. Современный оптический микроскоп обладает разрешением порядка $\lambda/2$, где λ — длина волны света, используемого для освещения препарата. Для видимой



части электромагнитного спектра длины волн лежат в пределах от 0,4 до 0,76 мкм. Таким образом, нижний размерный предел микрообъектов составляет 0,2–0,3 мкм.

Непосредственно сам морфометрический анализ подразумевает измерение и вычисление геометрических, яркостных, текстурных, количественных признаков микрообъекта, таких как площадь микрообъекта и составляющих его элементов, критерий формы, цвет, текстурированность и т.д. [2].

Более 30% медицинских анализов приходится на микроскопическую диагностику заболеваний. Анализ микрообъектов различного биологического материала (биоптаты тканей, кровь, костный мозг, хромосомы, сперма, секреты различных органов и т.д.) очень важен, так как зачастую от этого зависит быстрая постановка правильного диагноза и назначение лечения [2, 4]. Однако даже при такой важности микроскопической диагностики большинство исследований в лабораториях проводятся вручную. В большинстве случаев это происходит из-за отсутствия или узкой направленности, а также дороговизны существующего программного обеспечения для автоматического анализа или дороговизны автоматических компьютерных анализаторов.

Трудность автоматизации анализа медико-биологических микрообъектов заключается еще и в том, что эти объекты, как и все объекты естественного происхождения, отличаются большим разнообразием строения даже внутри одного класса. Существенные трудности также вносят разнообразие методов подготовки и окраски медико-биологических препаратов, приобретение реактивов для окраски или фиксации у различных производителей, изменение характеристик химикатов со временем под воздействием света, воздуха и других факторов [2].

Научное сообщество осознает необходимость дальнейшего развития и усовершенствования как методов автоматизации, так и создания компьютерных автоматических ана-

лизаторов. В России одним из первых начал заниматься компьютерной морфометрией Г.Г. Автандилов [5].

Анализ методов обработки изображений показал, что для подготовки к последующему анализу целесообразно проводить следующие операции:

- оптимизация гистограммы яркости (для минимизации пустого пространства в окне отображения гистограмм);
- фильтрация изображения с использованием матричного линейного фильтра размытия по Гауссу (для уменьшения цифрового шума, а также сглаживания мелких дефектов препарата) [14].

Существует довольно много методов сегментации изображений, но все они являются в той или иной степени вариантами двух: порогового преобразования и обнаружения границ. Метод обнаружения границ мало пригоден для сегментации изображений медико-биологических микрообъектов, так как границы самих микрообъектов и границы их внутренних элементов изначально, по своей природе, нечеткие. Поэтому для цветных изображений микрообъектов в качестве базового метода сегментации нами был выбран метод порогового преобразования. В этом методе каждый пиксель относится к той или иной области сегментации в зависимости от значения одного или нескольких параметров, определяющих этот пиксель, относительно предварительно определенного порога или порогов. Пороги определяются разными способами, наиболее универсальный из них: гистограмма значений какого-либо из параметров (чаще яркости). В этом случае на гистограмме определяются «впадины», которые считаются границами областей сегментации.

В отличие от монохромного изображения, где каждый пиксель определяется только значением яркости, в цветном изображении каждый пиксель характеризуется значениями яркости трех цветовых компонент RGB (красного, зеленого и синего). Поэтому для сегмен-





тации цветных изображений одной гистограммы яркости не достаточно (пиксели с одинаковой яркостью могут иметь разный цвет). Работа с трехмерной гистограммой, где по трем осям находятся значения яркости цветов RGB, а на их пересечении — количество пикселей исходного изображения, является неприемлемой с точки зрения времени выполнения ее на современных процессорах.

Наиболее пригодным в качестве процессора для обработки изображений в силу его распространенности, доступности и авторитетности в научном сообществе нам видится использование программы ImageJ.

Биологический материал и получение изображений

Для реализации наших задач использовались интраоперационные биоптаты миокарда левого желудочка, полученные от больных ишемической кардиомипатией мужского пола с множественными инфарктами миокарда в анамнезе, перенесшие хирургическую реконструкцию левого желудочка по Дору в сочетании с аортокоронарным шунтированием в условиях искусственного кровообращения в отделении сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН в 2011 году.

Клиническими критериями отбора пациентов, включенных в настоящую работу, были следующие параметры: конечно-диастолический индекс (КДИ) ЛЖ > 90 мл/м² поверхности тела, конечно-систолический индекс (КСИ) ЛЖ > 70 мл/м² поверхности тела, конечно-диастолическое давление ЛЖ > 30 мм рт. ст., фракция выброса (ФВ) ЛЖ < 40%, наличие участков а- и дискинеза левого желудочка, стенокардия II–IV функционального класса по классификации Канадского общества кардиологов (CCS), недостаточность кровообращения (НК) II–IV функционального класса по NYHA (Нью-Йоркская ассоциация сердца), длительность течения ишемической болезни сердца от 1 года до 10 лет, поражение коронарных артерий — стеноз более 75% перед-

ней нисходящей артерии или ствола, или стеноз, превышающий 75% не менее чем в двух коронарных артериях. Возраст пациентов, включенных в исследование, колебался от 37 до 68 лет. Отсутствие органического поражения клапанов сердца также входило в клинические критерии отбора пациентов.

У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено этическими комитетами ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России и НИИ кардиологии СО РАМН.

Во время операции на этапе канюляции ПП проводился забор биопсийного материала — фрагмент ушка ПП, во время венстрикулопластики по Дору брали еще четыре образца, общим объемом не более 2 мм³, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, дегидратировали в этаноле восходящей концентрации и заливали в парафин. Гистологические препараты, окрашенные гематоксилином-эозином, изучались с помощью обычной световой микроскопии на микроскопе Axioskope 40 (Carl Zeiss, Германия). После чего делались по 10–12 микрофотографий случайных полей зрения каждого среза камерой Canon G10 (Canon, Япония).

Алгоритм автоматической морфометрии миокарда

Для обработки изображений была определена четкая последовательность действий, позволяющая наиболее эффективно выделять различные элементы на изображениях: Загрузка изображения — Предварительная обработка — Анализ ядер паренхимы — Анализ паренхимы — Анализ ядер стромы — Анализ стромы — Анализ отека — Передача в базу данных.

При создании алгоритма мы руководствовались в первую очередь возможностями ImageJ по работе с изображениями (официальный сайт программы <http://rsb.info.nih.gov/ij/> и адаптированный для российских исследователей сайт <http://imagej.ru/>). Так как мы заложили в алгоритм возможность

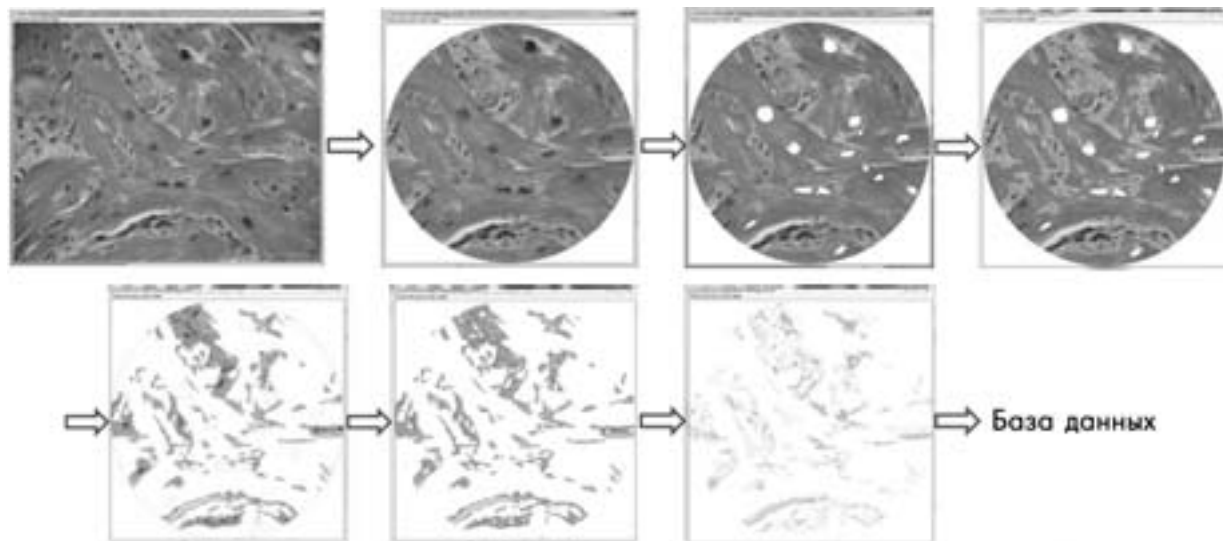


Рис. 1. Результат работы алгоритма

визуального контроля, то использовали в том числе и методы улучшения изображения, оптимизирующие его отображение на экране.

Для того, чтобы проводить исследование независимо от методики получения изображения (модели фотокамеры, ее настроек, расстояния от камеры до микропрепарата и т.д.), необходимо предварительно его обработать. Суть обработки заключается в следующем: вычисляется наименьшая сторона изображения, от ее длины отнимается 10% и в центр изображения вписывается круг с радиусом $r = \text{наименьшая сторона} - 10\%$. Все, что находится за пределами этого круга, удаляется и в дальнейшем анализе не принимает участия. Это реализовано для того, чтобы избежать затемнений, искажений и других aberrаций, которые присутствуют по краям нативного изображения (рис. 1).

Таким образом, все интересующие нас элементы на микрофотографии миокарда выделены, подсчитан их удельный объем, в случае необходимости их количество. Последовательное выделение и удаление обработанных объектов с изображения позволяют наиболее точно выделять все последующие элементы.

После ряда проведенных исследований было установлено, что общая площадь изображения совпадает с суммарной площадью выделенных объектов.

Программный комплекс

Программный комплекс для полуавтоматической морфометрии миокарда создан для реализации разработанного нами алгоритма в удобном для пользователя программном продукте.

При написании данного программного комплекса была использована водопадная модель процесса разработки программного обеспечения.

Данный программный комплекс позволяет создавать, удалять, редактировать информацию о пациентах просматривать и дополнять результаты исследований микрофотографий миокарда. Интерфейс программы дружелюбный (есть подписи и всплывающие подсказки). Программа предупреждает пользователя о возможных задержках и ошибках в работе. Программный комплекс запрашивает авторизацию пользователя, сохраняет все полученные результаты в базе данных, а также обеспечивает удобную выгрузку полученных данных в про-



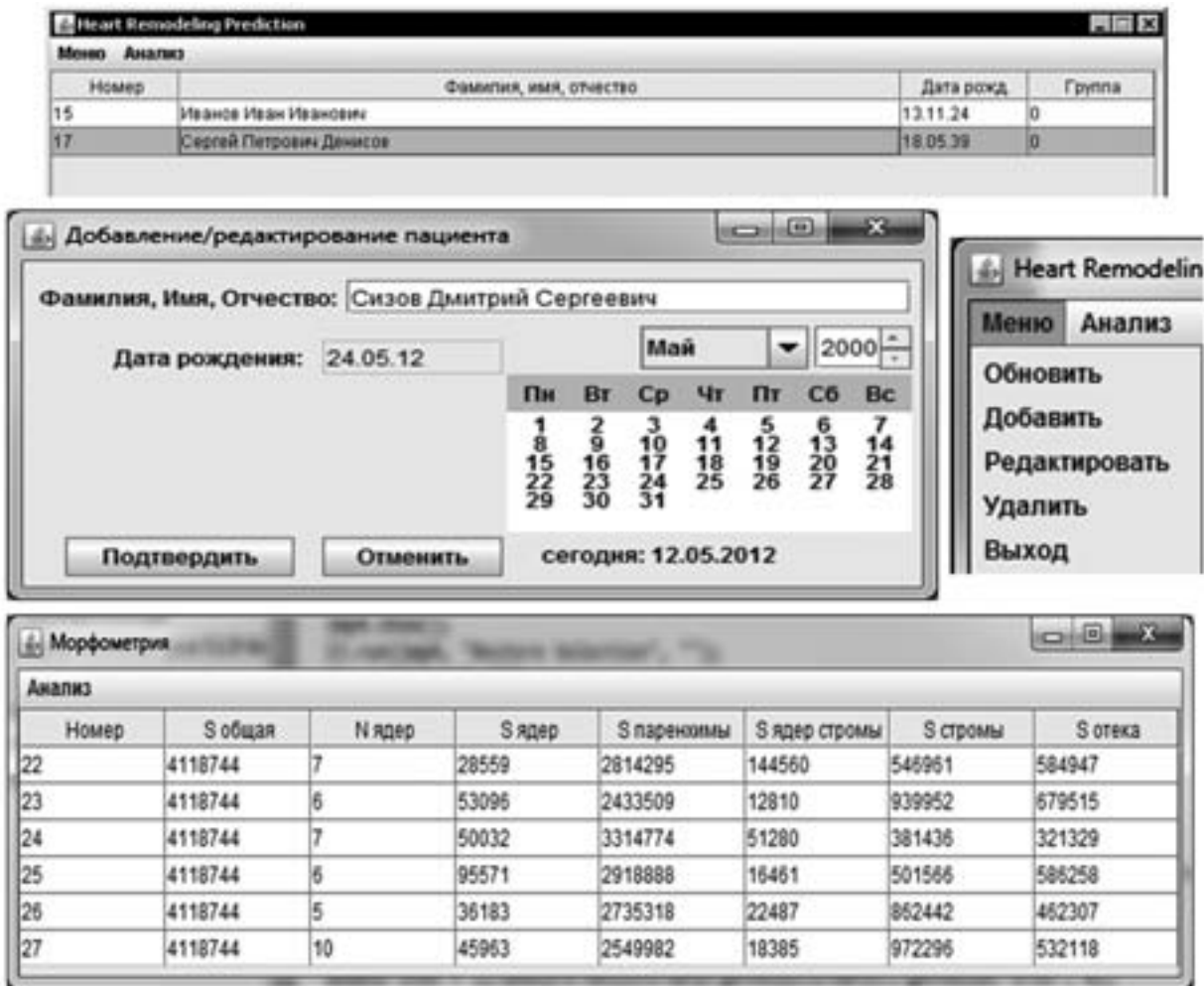


Рис. 2. Основные рабочие окна программного комплекса

грамму статистической обработки или любую другую, по желанию пользователя (рис. 2).

Весь код программы располагается в 5 пакетах (11 классов). Также в программном комплексе использованы две библиотеки — ImageJ и MySQL-Connector-Java.

Разработка и реализация вышеописанных алгоритмов, программного комплекса и базы данных способствуют прогнозу ремоделирования ЛЖ, так как морфометрический анализ наиболее точно отображает функциональное состояние левого желудочка при ишемической кардиомиопатии.

На данный момент разработанный программный комплекс используется его авторами в исследовании миокарда при ишемической кардиомиопатии, где будет оценена прогностическая значимость получаемых прецизионных характеристик. В случае обнаружения корреляционных связей между получаемыми показателями данным программным комплексом и характеристиками морфофункционального состояния сердца по результатам ультразвукового исследования сердца через год после операции можно будет считать цель достигнутой, а точность определения достаточной.



Заключение

1. Разработанный программный комплекс позволит автоматизировать и объективизировать проводимые научные исследования, связанные с морфометрией миокарда.

2. Многократное ускорение проведения морфометрического исследования позволит увеличить количество обследованных пациентов, что создает возможность составления индивидуального прогноза ремоделирования ЛЖ.

ЛИТЕРАТУРА



- 1.** *Moreira L.F., Stolf N.A., Higuchi M.L. et al.* Current perspectives of partial left ventriculectomy in the treatment of dilated cardiomyopathy//Eur J Cardio-thorac. Surg. — 2001. — Vol. 19. — P. 54–60.
- 2.** *Walter T., Shattuck D.W., Baldock R. et al.* Visualization of image data from cells to organisms//Nature. — Vol. 7. — № 3. — P. 26–41.
- 3.** URL: <http://www.who.int> (Дата обращения: 19.02.2011).
- 4.** URL: http://www.fototest.ru/processing/p2051_articleid/181 (Дата обращения: 19.02.2011).
- 5.** *Автандилов Г.Г.* Современные требования к системе автоматизированного цитологического и гистологического исследования//В кн. Автоматизация цитологических исследований. — Киев: Наукова думка, 1990. — С. 6–9.
- 6.** *Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У.* Дисфункции миокарда и сердечная хирургия: классификация, диагностика, хирургическое лечение. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 320 с.
- 7.** *Кривошеков Е.В.* Клинико-функциональные аспекты хирургического лечения ишемической кардиомиопатии//Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Томск, 2010.
- 8.** *Шипулин В.М., Казаков В.А., Лежнев А.А., Павлюкова Е.Н., Суходоло И.В.* Морфологические предикторы и молекулярные маркеры прогрессивного послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией//Болезни сердца и сосудов. — 2010. — №4. — С. 31–38.
- 9.** *Шипулин В.М., Козлов Б.Н., Кривошеков Е.В.* Морфофункциональная характеристика миокарда пациентов с постинфарктным ремоделированием как возможная причина неблагоприятных результатов оперативного лечения//Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. — 2009. — № 5. — С. 37–41.
- 10.** *Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л., Черемисина О.В., Шишкин Д.А.* Особенности системы матричных металлопротеиназ сыворотки крови у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи//Бюллетень сибирской медицины. 2011. — № 1. — С. 55–58.
- 11.** *Сиротина О.В.* Особенности ремоделирования миокарда у больных с ишемической болезнью сердца при кардиохирургическом лечении//Автореферат дис. ... канд. мед. наук. — Оренбург, 2011.
- 12.** *Шипулин В.М., Казаков В.А., Суходоло И.В., Кривошеков Е.В. и др.* Патент № 2310372 «Способ прогнозирования послеоперационного ремоделирования сердца у больных ишемической кардиомиопатией». — Томск, 2007.