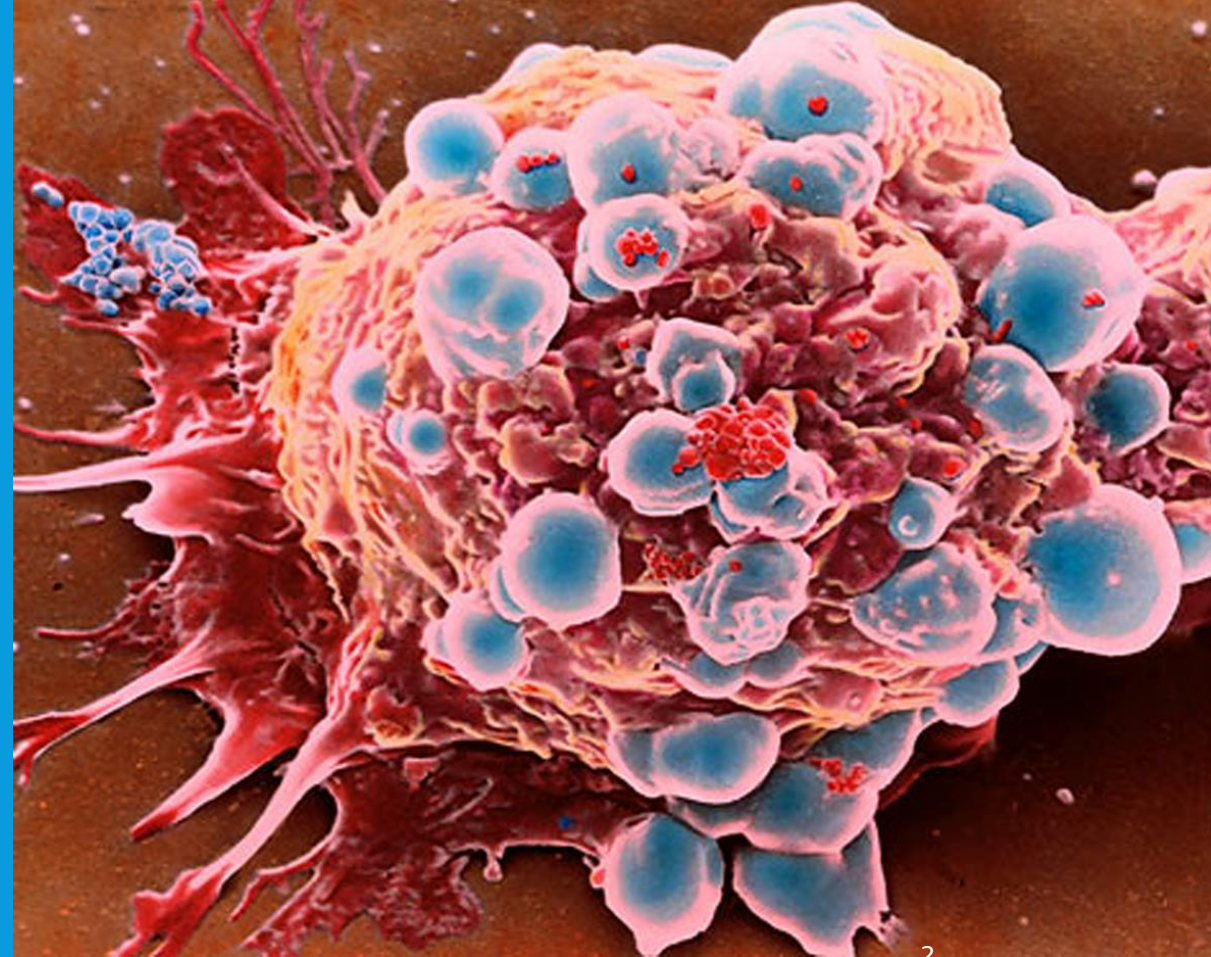


KANSER NEDİR ?

KANSER NEDİR ?

Kelime anlamı olarak kanser, bir organ veya dokudaki hücrelerin düzensiz olarak bölünüp çoğalmasıyla beliren kötü urlara denir. Genel anlamda ise kanser vücudumuzun çeşitli bölgelerindeki hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan 100'den fazla hastalık grubudur. Çok çeşitli kanser tipleri olmasına rağmen, hepsi anormal hücrelerin kontrol dışı çoğalması ile başlar. Tedavi edilmez ise ciddi rahatsızlıklara, hatta ölüme dahi neden olabilir. Fakat gittikçe gelişen tanı yöntemleri ile erken teşhis edilen kanser hastalarının çoğu tedavi olup hayatlarına kontrollü bir şekilde devam edebiliyorlar.



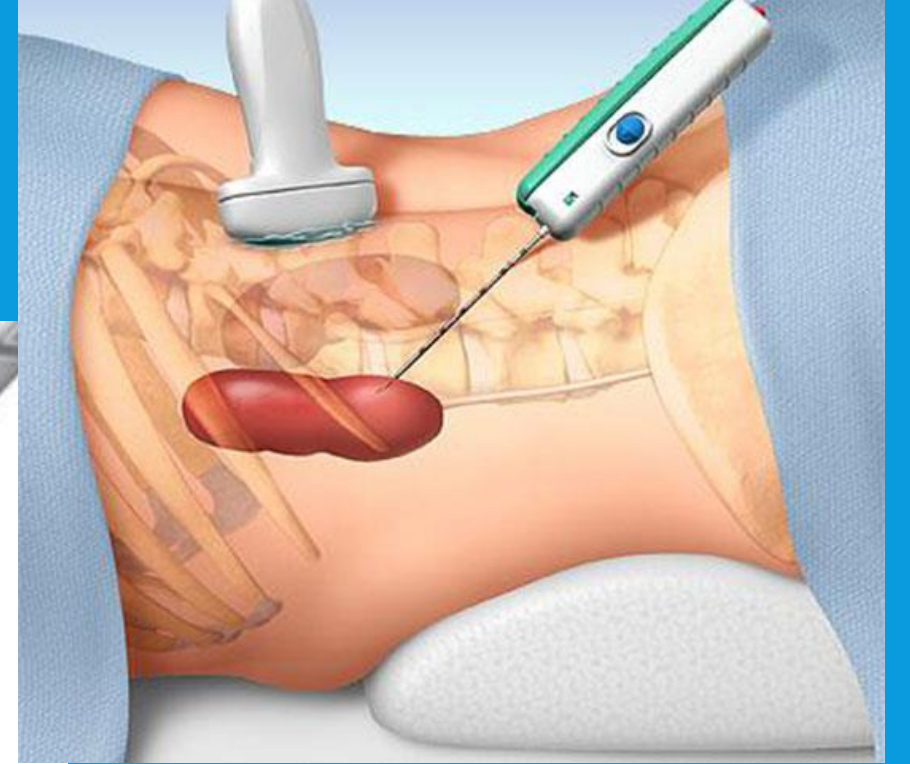
KANSERİN TEŞHİS VE TANI SÜRECİ



Konumuz gereğince otopsi, kan alımı ve lam hazırlanması ile ilgili detaylar konu dışında olduğundan üzerlerinden yüzeysel bir şekilde anlatılıp geçilecektir.

BIYOPSI

Biyopsi, şüpheli dokulardan örnek alınması ve alınan dokuların laboratuvar ortamında çeşitli yöntemler ile incelenmesi işlemidir. Biyopsi için gereken doku örneği çeşitli şekillerde alınabilir ama modern zamanda yapılan biyopsilerde vakumlu iğne sayesinde şüphe duyulan dokudan çevresine zara vermeden ve vücutta iz bırakmadan doku örneği alınmaktadır.



LAM, LAMEL VE PROB HAZIRLAMA

Çeşitli yöntemler çeşitli lam hazırlama ve işaretleyici gerektirse de çoğu yöntem dokunun kalınlığının yaklaşık olarak 3μ - 5μ arasında olması gerekmektedir. Bu sunumda FISH, IHC ve benzeri bir iki benzeri testi inceleyeceğim.

Lamel Hazırlanması

- Alkol ile temizlediğimiz lamel üzerine kuruduktan sonra numunemizden damlatılır.
- Etanol serisinde (%70, %85, %100) her birinde 2 dakika RT'de geçirilir.

Prob Hazırlanması

- Prob ve hibridizasyon solüsyonu -20°C 'deki dondurucudan çıkartılarak oda sıcaklığında ısınmaya bırakılır.
- 2 μl probtan 8 μl hibridizasyon solüsyonundan ependorfun içine alınır. İyice pipetaj

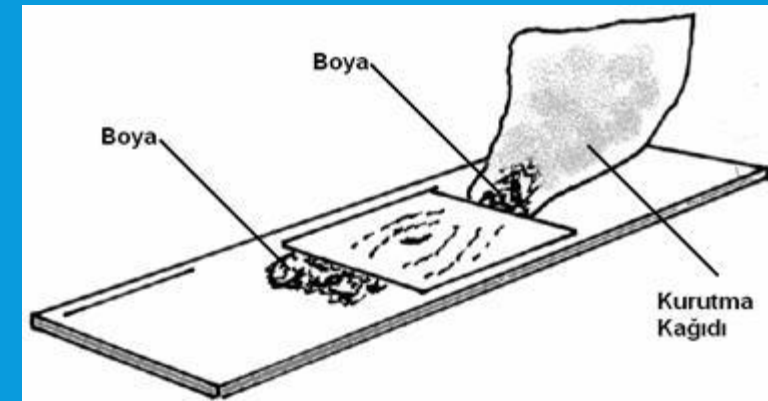
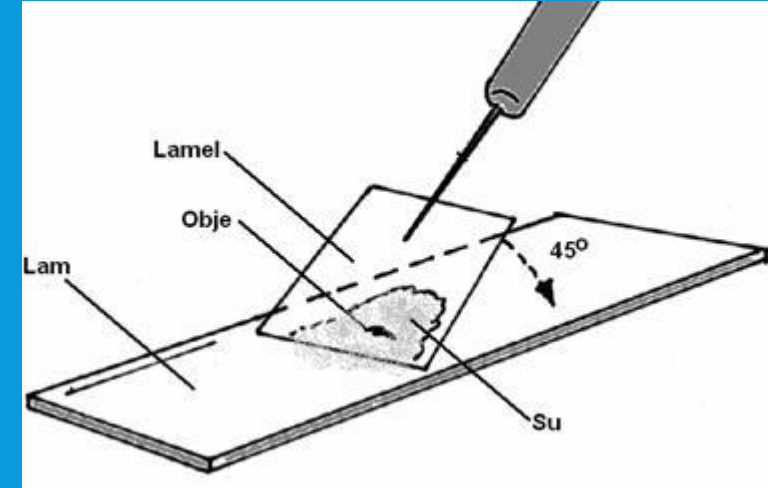
yapılarak karıştırılır.

Denatürasyon

- 10 μl prob karışımı numune üzerine dikkatlice damlatılır ve 24 x 24 mm lamel ile kapatılır.
- Hibridizasyon cihazında 75°C 'de (artı/eksi 1°C) ısıtılarak 2 dakika denature edilir.

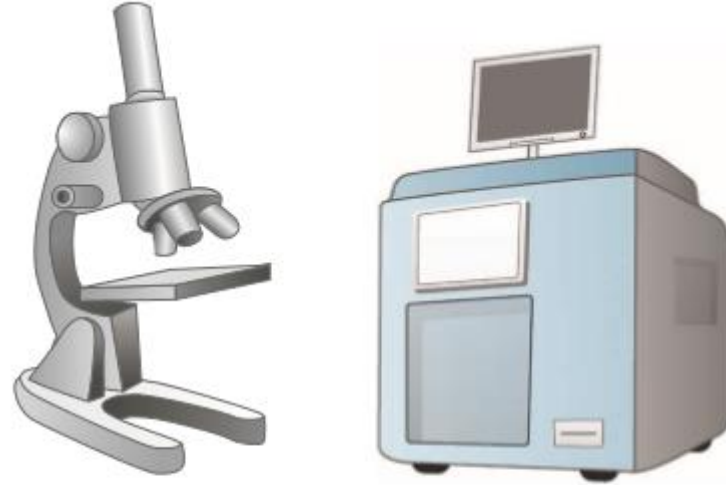
Hibridizasyon

- Hibridizasyon cihazında 37°C 'de (artı/eksi 1°C) bir gece süresince inkübe edilir.



TEST AŞAMASI

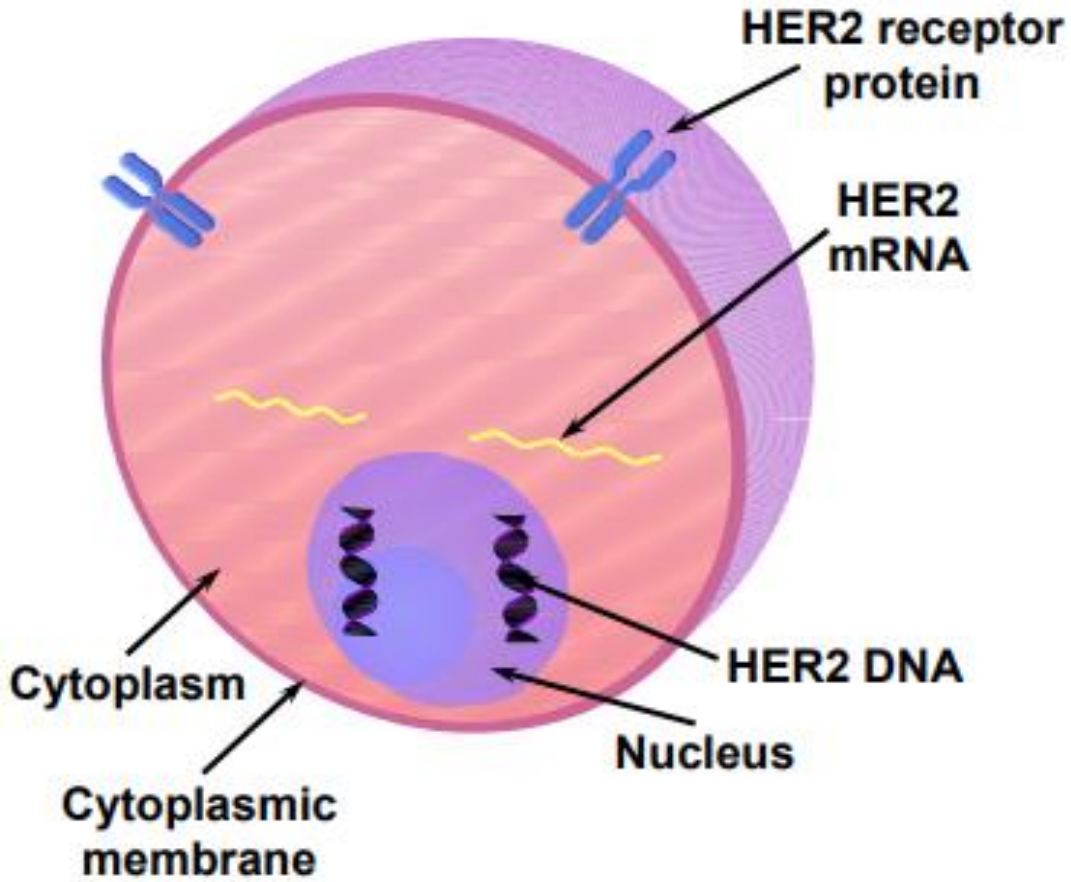
Test aşaması protokol ve yapılan teste göre değişse de sonuçlar hücrenin biyomark ile ne kadar güçlü bir boyanma yaşadığı ve boyanan hücre sayısı ile doğru orantılı olarak değişmektedir.



- Manual or automated acquisition
- Single time point or time series
- Single focal plane or three-dimensional stack
- Single channel, multiple channels or hyperspectral
- Acquisition protocol is predefined or determined on the fly based on analysis of image data

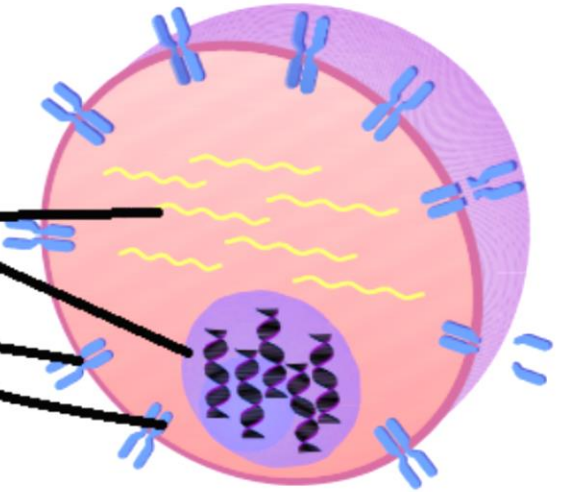


TANI KOYMAKTA KULLANILAN BAZI YÖNTEMLER:



YÖNTEMLER

- FISH (DNA)
- RT-PCR (mRNA)
- IHC (protein)

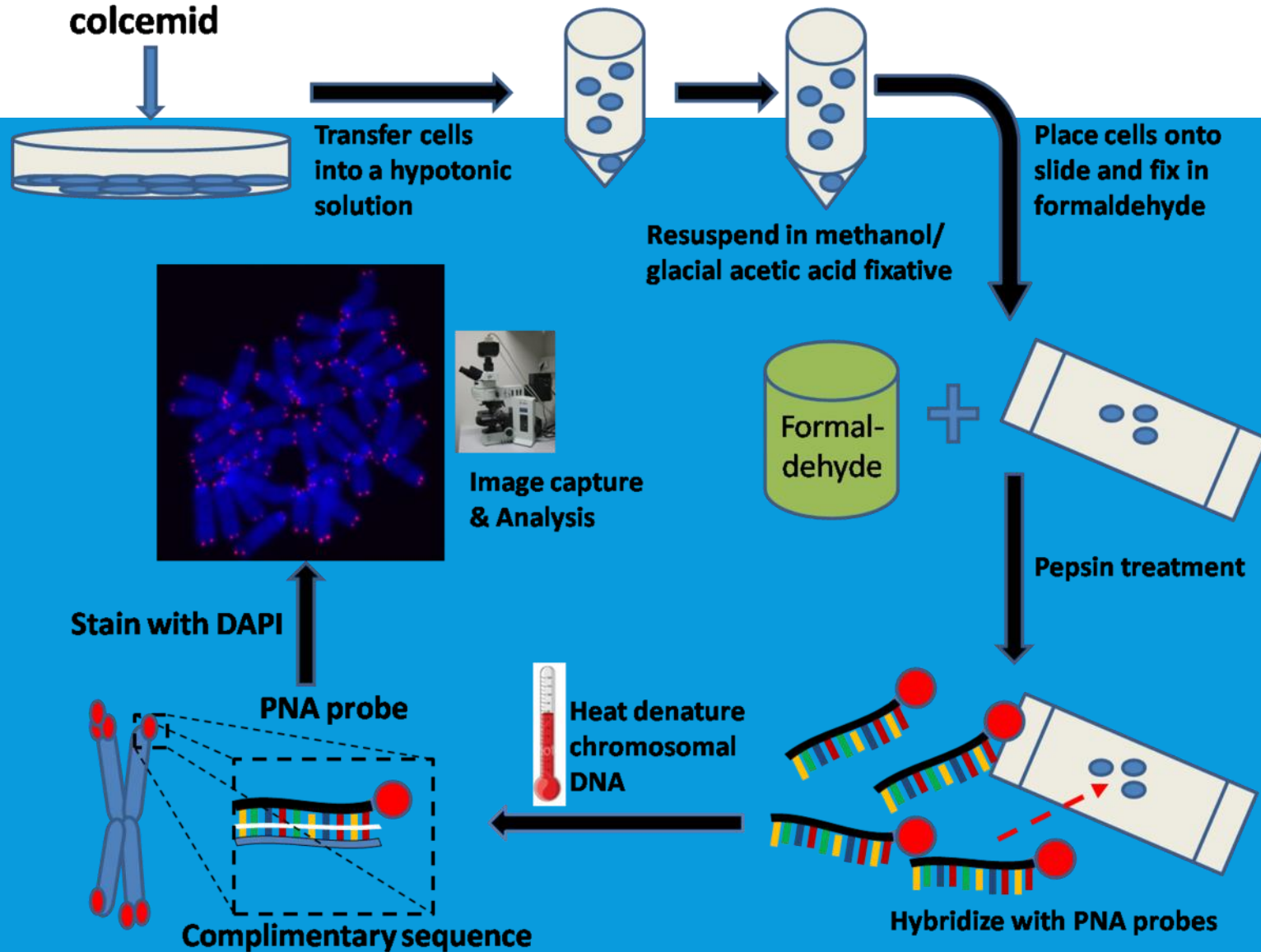


TESTLERİN GÜVENİLİRLİĞİ VE TEKRARLANA BİLİRLİĞİ

Bilimsel deney ve testlerde önemli olan testlerin aynı ortamda ve şartlarda tekrarlandığında daha önce yapılmış olan deneyler ile aynı ve ya çok yakın sonuçlar vermesi gerekmektedir. Fakat hücre sayımı, boyaların yayılmışlık derecesi gibi deneyi gerçekleştiren insana bağlı olduğundan testin sonucu lamı inceleyen doktordan doktora azımsanamayacak bir farklılık gösteriyordu. Testlerde ortaya çıkan farklı yorumlama ve tekrarlanamamayı ortadan kaldırabilmek için testlerin makineler ile tarafsız bir şekilde yorumlanması gerekiyor. Makineleşmenin getirdiği yararlarından biri ise test yapılan lam resimlerinin saklanması ve korunmasını kolaylaştırdığıdır. Bu nedenlerden ötürü her geçen gün tanı testlerinin yorumlanması ve kategorize edilmesi bilgisayarlara emanet edilmektedir.



FISH(FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION)



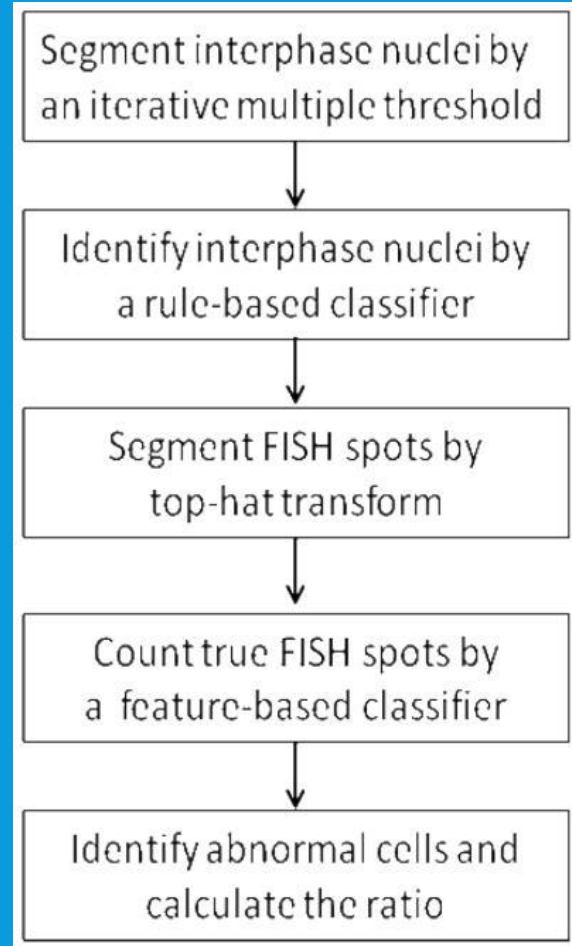
FISH yönteminde kromozomlar boyanarak fluorescence mikroskopu ile HER2 geni ve CEP17 geni sayılır. Bu iki genin oranlarına bakılıp eğer HER2 geni +2 seviyesinde yani HER2 geninin CEP17 genine oranı +2'den yüksek ise HER2 geni amplifikasyonunu belirtir ve hastaya HER2 bastırıcı tedavi uygulanmaya başlanabilir.

BILGISAYARLI FISH TESTİ

Fish testi için bilgisayarlı otomasyon algoritması dört aşamada gerçekleştirilebilir:

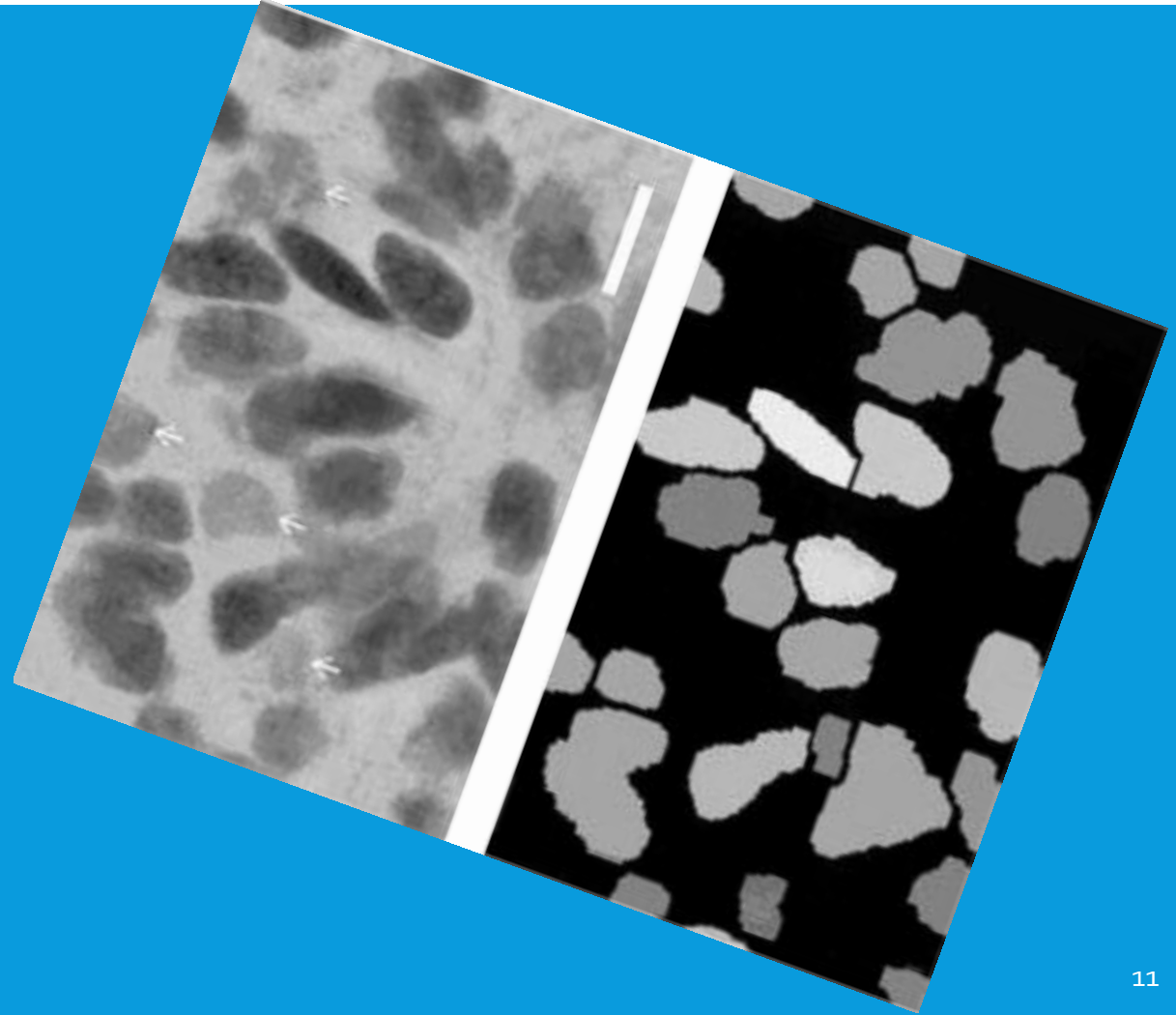
1. Hücreyi bul ve işaretle.
2. Hücre içinde çekirdeği bul.
3. Çekirdek içindeki noktaları bul.
4. Bulunan noktaları say ve nokta histogramını tüm lam için güncelle.

Kulağa kolay gelse de bu aşamalar nasıl gerçekleştiriliyor ?



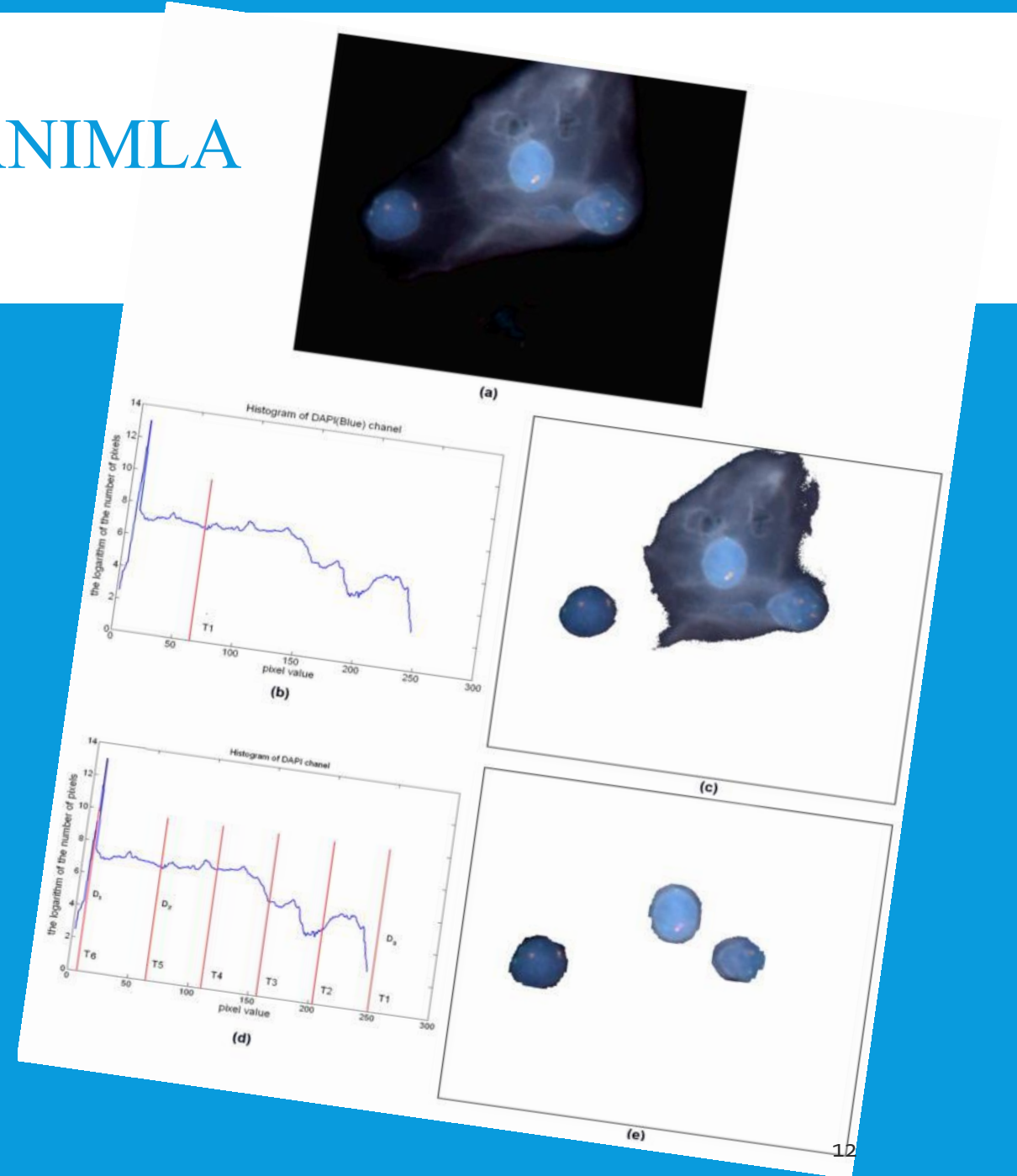
1. HÜCRELERİ BULMAK

Hücreleri bulmak için ilk önce resimde bulunan sesten kurtulmak için bazı filtreler uygulanıyor. Daha sonra resim morfolojik operasyonlar ile ilgi dışı küçük boyutlu objeleri ve üst üste gelen çekirdekler ayrılır.



2. ÇEKİRDEĞİ BUL VE TANIMLA

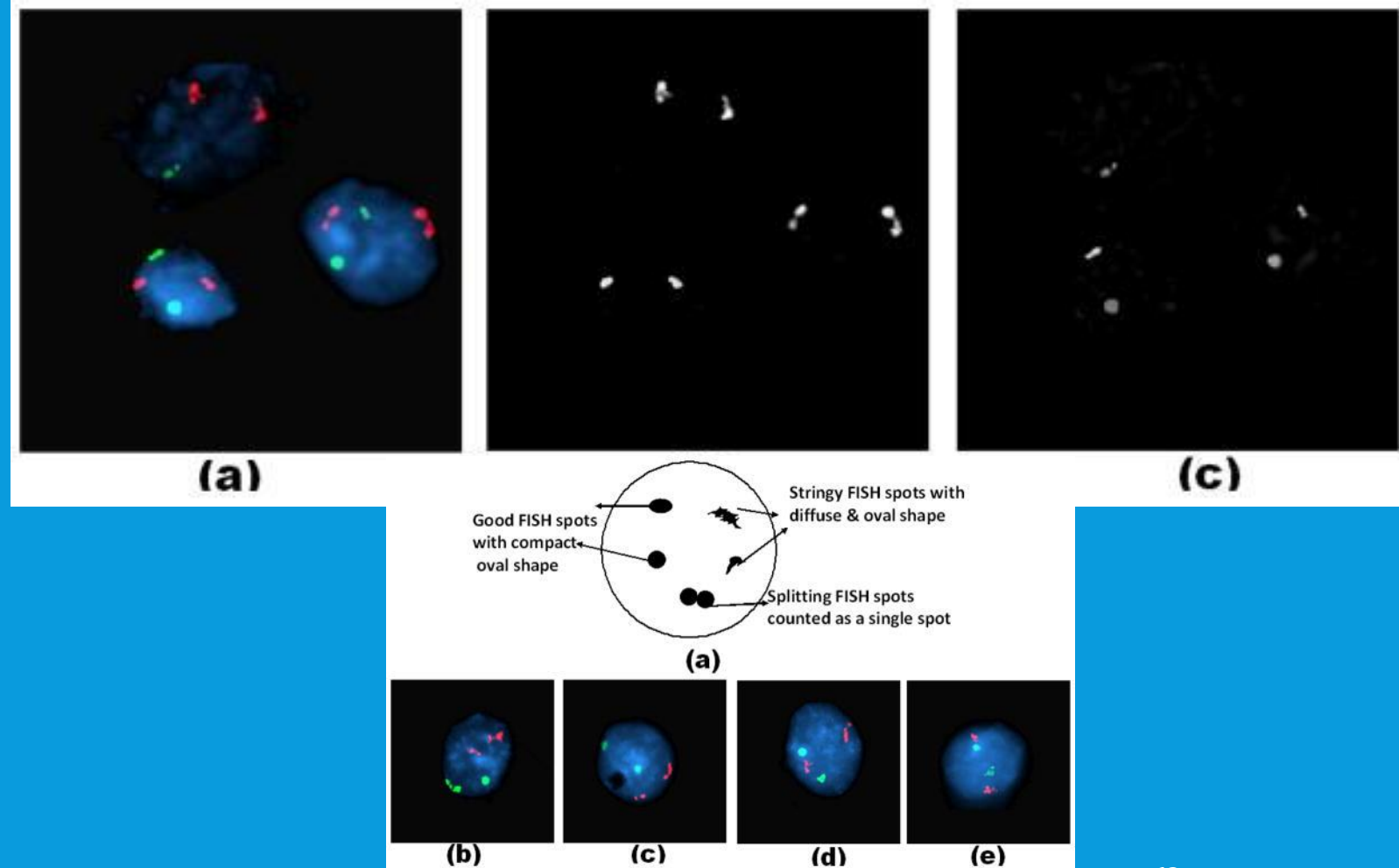
Bir önceki adımdan sonra , resimde bulunan objelerin büyüklükleri, şekilleri ve yoğunluğuna göre sıralanır ve hücre içinde bulunan çekirdek ve atıklar ve daha küçük olan objeler ayırt edilir ve bizim için önemli olan çekirdek seçilir.



3.ÇEKİRDEK İÇİNDEKİ NOKTALARI BUL

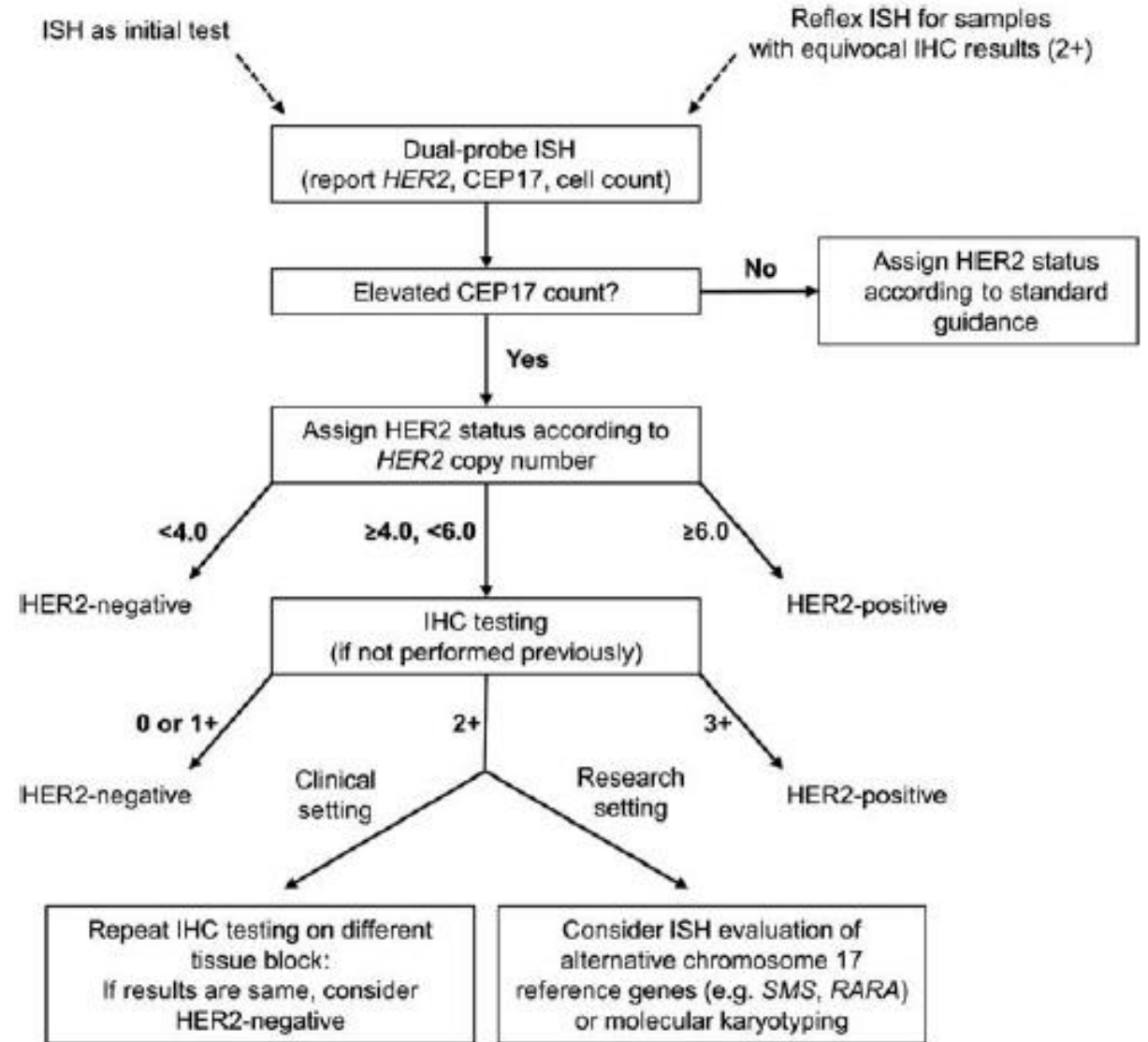
4.NOKTALARI SAY VE HISTOGRAMI GÜNCELLE

Çekirdek içindeki önemli noktaları bulmak ve sayabilmek için ilk önce top-hat algoritması uygulanır böylece arka plan ve gereksiz ögeler resimden çıkartılarak önemli olan noktaları bırakır. Ve kalan noktalar rahatça sayılır ve histogram modeli kolaylıkla güncellenebilir hale gelir.



Peki ISH yöntemlerinden birisi olan FISH testi yetersiz kalırsa ?

O zaman da IHC(immunohistochemistry) testi kesin tanı koymak için uygulanır.



IHC(IMMUNOHISTOCHEMISTRY)

HER2 geni kanser sürecinin tanısı ve gelecek planlaması üzerinde büyük etki yaratmaktadır. Eğer HER2 geni amplifike olmuş ise tedavi ve gen baskılanma yöntemi ile kanser tedavisi desteklenebilir. IHC tekniğinde hücre üzerinde bulunan reseptörler boyanır ve hücrelerin boyanma seviyesi ve boyanan hücre sayısına göre tanı yapıp teşhis konulur.



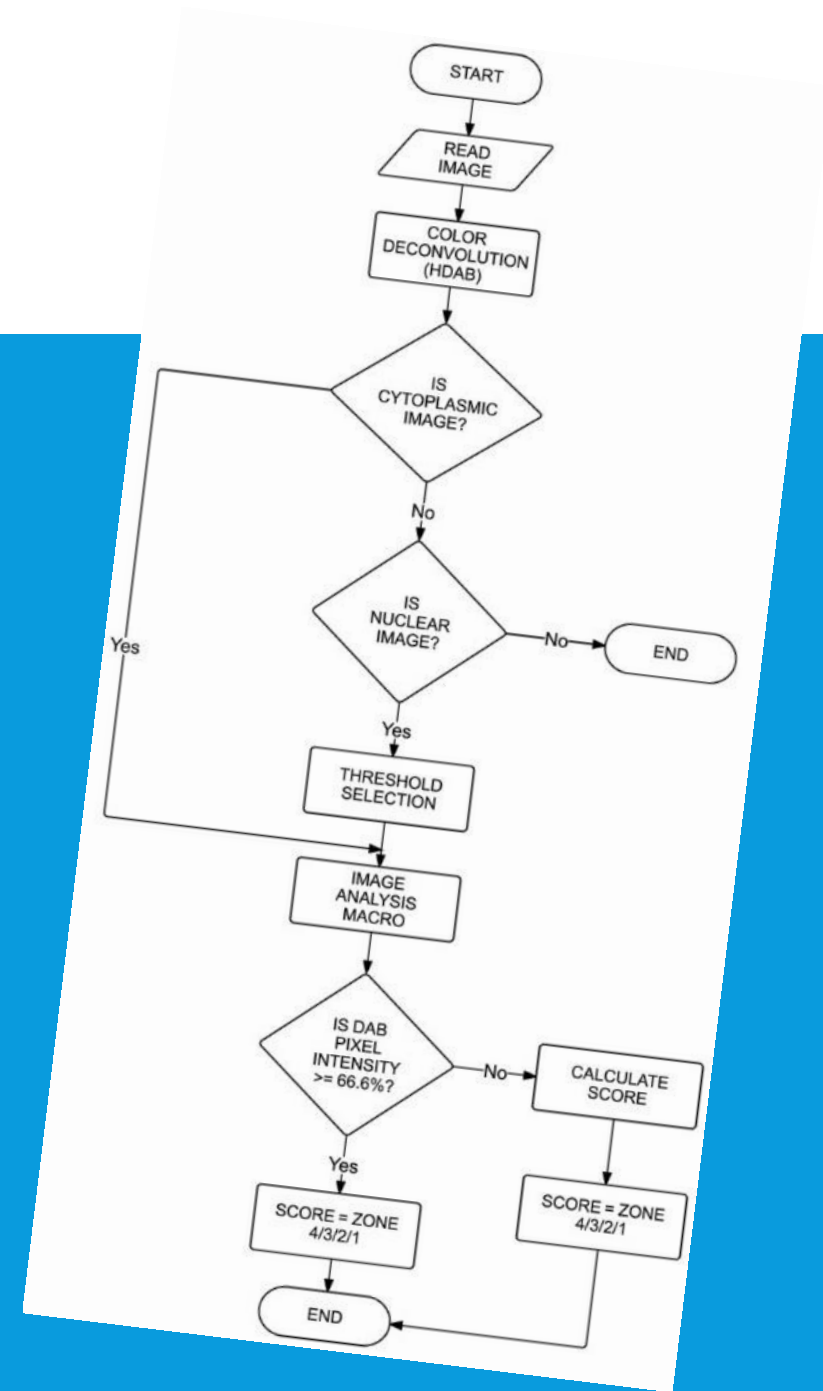
IHC TEST AŞAMALARI

IHC testinin gerçekleştirilmesi ve tanının koyulması ISH testlerine göre daha kolaydır. Lam boyandıktan sonra uzman lam üzerinde hücrelerin bulunduğu bölgeyi seçip inceler ve hücrelerin durumunu sağdaki rehberine göre belirler. Fakat bu test de uzman görüşü ve yorumu gerektirdiğinden uzmandan uzmana testin sonucu değişmektedir.

	<i>IHC</i>	
	<i>FDA</i>	<i>ASCO/CAP</i>
Negative Equivocal	0–1 + —	0–1 + 2 + (nonuniform or weak complete membrane staining in $\geq 10\%$ tumor cells, or intense, complete membrane staining in $\leq 30\%$ invasive tumor cells)
Positive	2+ (weak-to-moderate complete membrane staining in $>10\%$ of tumor cells), 3+ (strong complete membrane staining in $>10\%$ of tumor cells). Patients with IHC 2+/ISH – tumors are not eligible for trastuzumab treatment to date	3+ (uniform intense membrane staining of $>30\%$ invasive tumor cells)

BILGISAYARLI IHC TESTİ

IHC testi FISH testine göre bilgisayarlar tarafından daha az işlem gücü ve adım gerektirmektedir. Bu algoritmanın akış grafiği sağ tarafta gösterilmiştir. Resim okunduktan sonra tipi belirlenir. Arka plan ortadan kaldırılır. Daha sonra hücrelerin bulunduğu alanın boyanma miktarına bakılarak bilgisayar tarafından puanlanır.



İNSAN VE BILGISAYAR

Peki neden otomatik test ? İnsanlar bir çok alanda bilgisayarlardan daha üstün olsa da bilgisayarlar insanlardan daha adil ve tarafsızlardır günden güne o günkü hislerine göre fikirlerini ve ya değerlendirme yöntemlerini değıştirmezler. Bu nedenle tanı koymada bilgisayarlar insanlara göre daha stabildir.

Comparison chart showing automated vs. manual scoring.

Total number of high positive (3+) cases	312
Total number of positive (2+) cases	481
Total number of low positive (1+) cases	572
Total number of negative (0+) cases	338
Total number of cases studied	1703
Number of cases where inter-observer score does not match	383
Number of cases where inter-observer scores match but differ from automated analysis	150
Number of cases where automated scores and manual scores differ due to higher stroma to tumor ratio	124
Percentage match between manual and automated scoring before stroma to tumor ratio corrections by higher magnification	77.5%
Percentage match between manual and automated scoring after stroma to tumor ratio corrections by higher magnification	88.6%

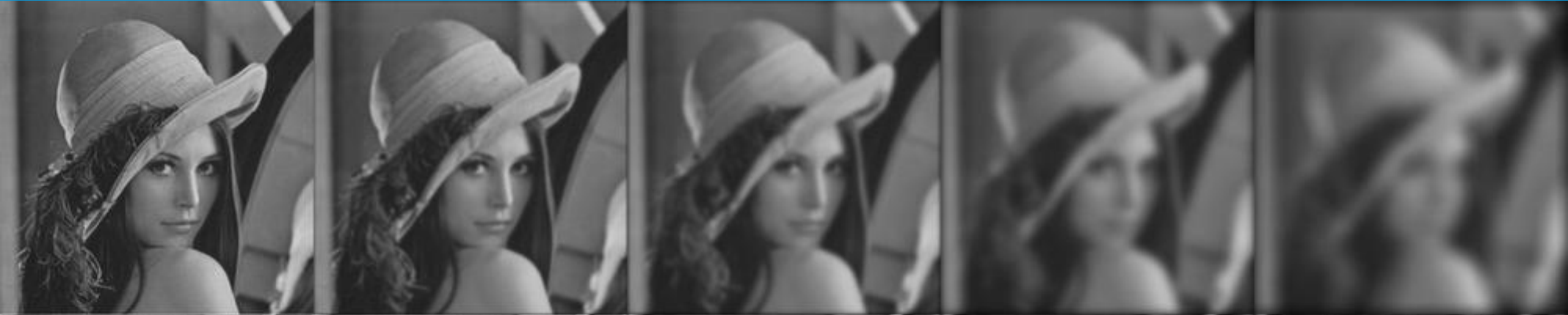
GÖRÜNTÜ İŞLEMEDE KULLANILAN BAZI YÖNTEMLER

- Gauss filtresi
- Top-hat filtresi
- Laplas filtresi(Keskinleştirme Filtresi)
- Medyan filtresi
- Morfolojik Operasyonlar
- Watershed algoritması

GAUS FİLTRESİ

Gaus filtresine ve sigma değerine göre üretilen matris resim ile convol edilir bu sayede resim pürüzsüzleştirilir.

Bu filtre ile gürültünün azaltılması ve resmin daha kesin incelenmesi amaçlanır.



Sigma 2

4

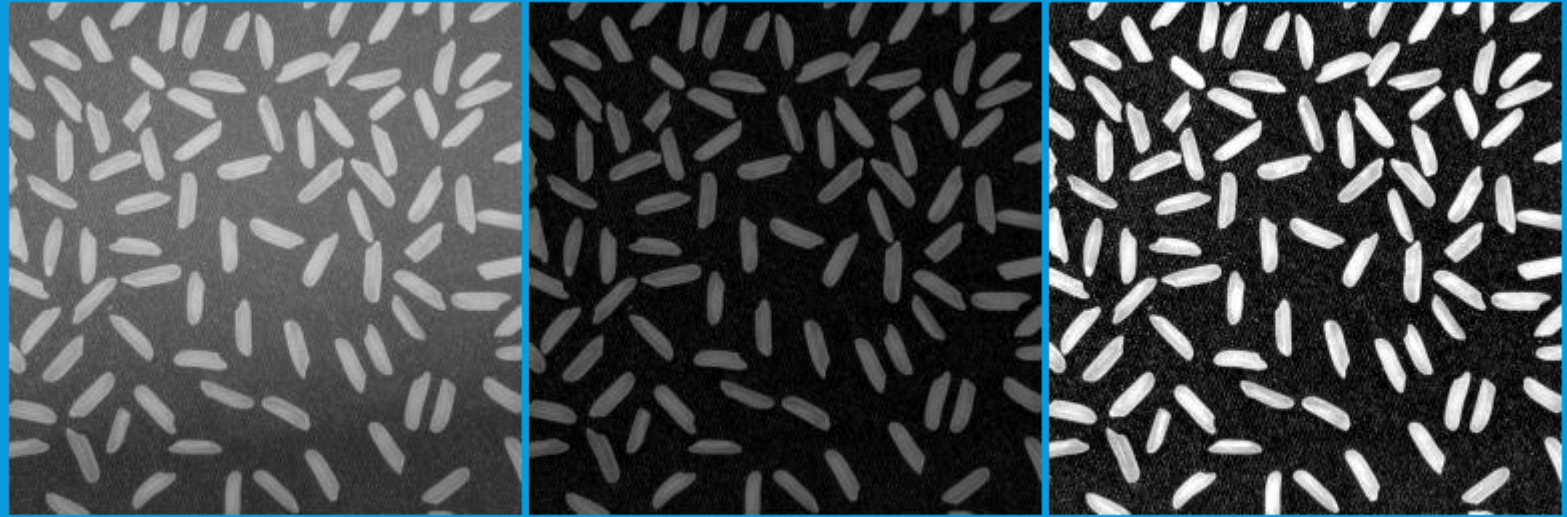
8

16

32

TOP-HAT FİLTRESİ

Top hat filtresi uzun şapka modellerine benzediği için bu ismi almıştır. Bu filtre resimdeki baskın özellikleri ve tepeleri korur.



Önce

Filtreden
Sonra

Keskinlik
Düzeltilimi

ORTALAMA FILTRE

Ortalama filtresi denmesinin nedeni bir pikselin etrafındaki belli sayıda piksel ile ortalaması alınarak seçilen resim yumuşatılır.



original image



1px median filter



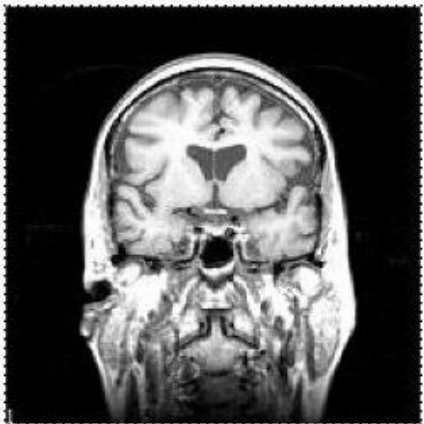
3px median filter



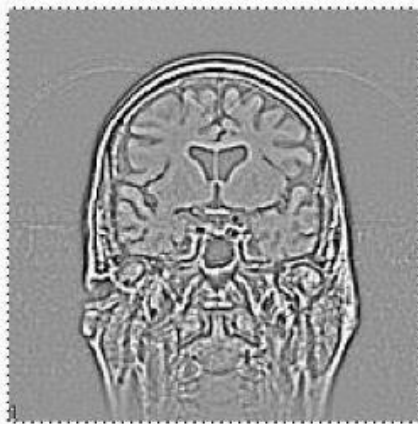
10px median filter

LAPLAS FİLTRESİ(KESKİNLEŞTİRME FİLTRESİ)

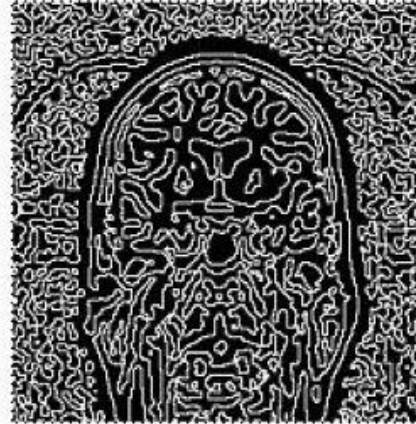
Laplas filtresi resimlerde kenar hatlarını belirlemek için kullanılır. Kenar hatları ise resmin arkaplandan ayıran ani renk değişimleri olarak açıklanabilir.



(A) Original MR image



(B) Laplacian results



(C) Extraction of the zero crossing of the Laplacian (object edges)

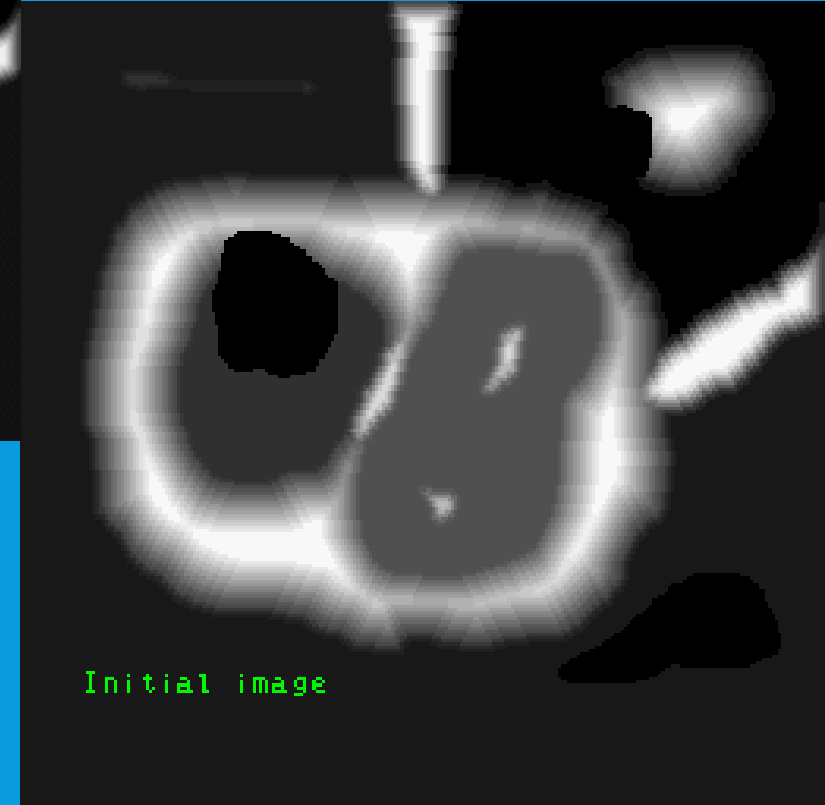
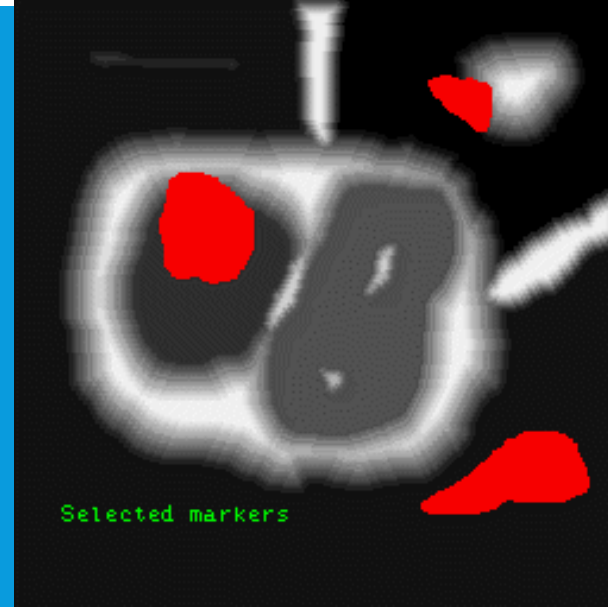


WATERSHED ALGORITMASI

Watershed algoritması birbirine dokunan objelerin gri değerler ile ayrılmasına denir. Göğüs kanseri tanısında çokça kullanılan bir tekniktir.

Aşamalar

1. Segmentasyon fonksiyonunu hesapla
2. Birbirine bağlı olan pikselleri bul.
3. Arka plan yani bir şeye bağlı olmayan pikselleri bul.
4. Segmantasyon fonksiyonunu modifiye et sadece arkaplan ve ön plandaki yerel minimumları marker olarak kullansın.
5. Watershed dönüşümünü segmentasyon fonksiyonunu kullanarak hesapla.



MORFOLOJİK OPERASYONLAR

1.Aşındırma

2.Yayma

3.Açma

4.Kapama

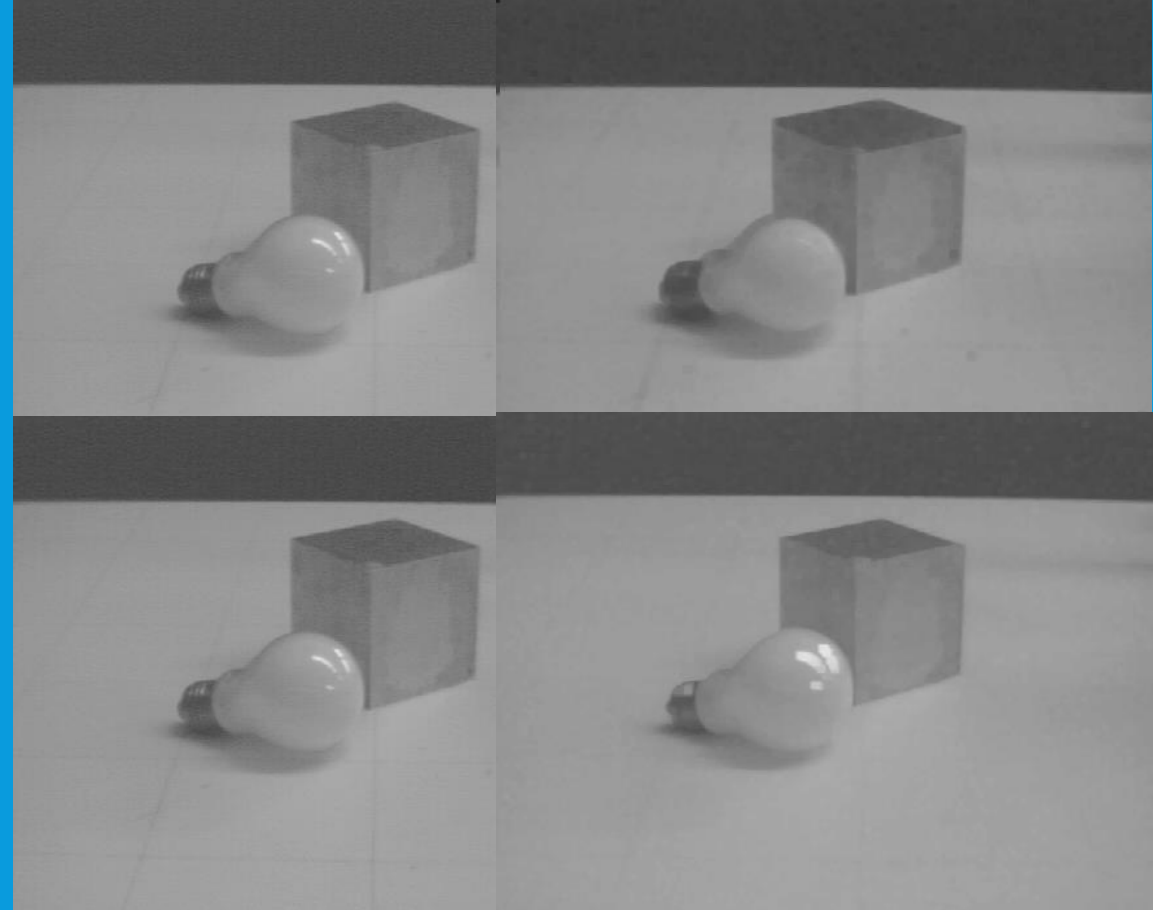
Resimlerin düzenlenmesi ve daha kullanışlı hale getirilmesinde kullanılan bazı operasyonlardır.

1.Aşındırma

Resmin başka bir resim ve ya matris ile birleştirilerek uygulanan ve resimden matrisin boyutuna bağlı olarak resimdeki gereksiz detayları ve sesin giderilmesini sağlar.

2.Yayma

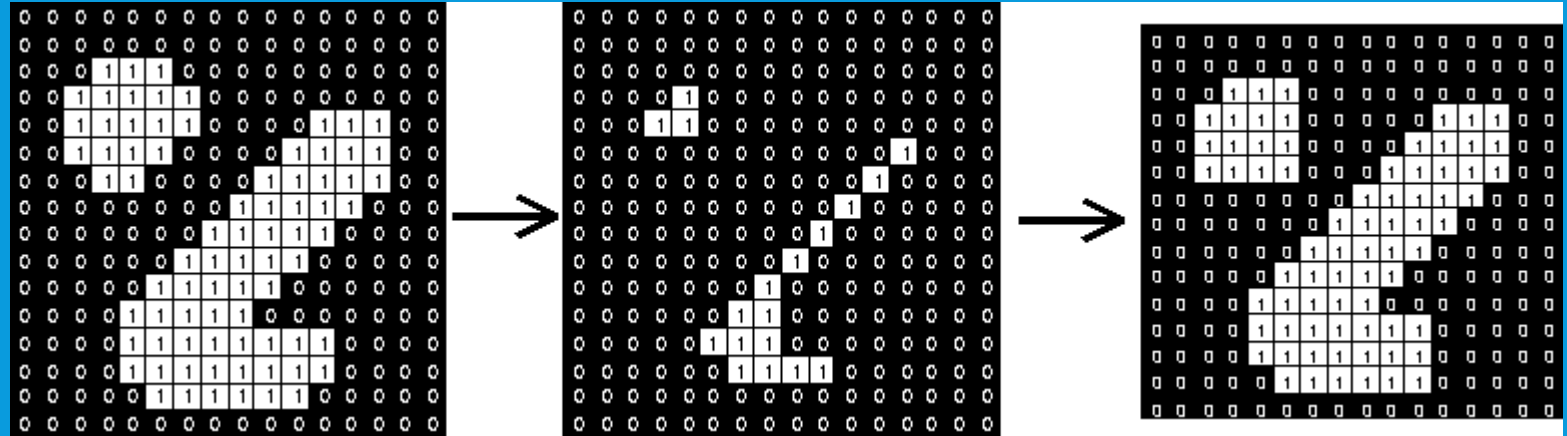
Yaymada yapılan ana olay aşındırmanın aksine ön plandaki elementlerin çerçevelerin büyütülmesi ve ön planda bulunan elementlerin içindeki boşlukların küçültülmesidir.



MORFOLOJİK OPERASYONLAR-DEVAM

3.Açma

Açma yöntemi basitçe resme ilk olarak aşındırma daha sonra yayma uygulanması olarak açıklanabilir.



4.Kapama

Açmanın tam tersine resme ilk olarak yayma sonrada aşındırma uygulanır. Böylece küçük olan delikler kapanır fakat resmin geneli aynı kalır.

