

Wydział Podstawowych Problemów Techniki

**PRACA DYPLOMOWA**

**Zastosowanie sieci neuronowych do automatycznej segmentacji tkanki nowotworowej na obrazach histopatologicznych**

**Autor: Jakub Siembida nr alb. 236728**

**Opiekun: dr inż. Witold Dyrka**

Sieć neuronowa, obraz histopatologiczny, rak płuc

Aplikacja komputerowa oznaczająca miejsca obecności komórek nowotworowych płuc na obrazach histopatologicznych typu whole-slide-image przy pomocy sieci neuronowej trenowanej na zbiorze danych ACDC-Lung HP

1. Cel i zakres pracy

Nowotwory stanowią poważny problem społeczny. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowalności na te choroby. Stanowią one drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie. Najczęściej diagnozowanymi przypadkami nowotworu są raki płuc. Stanowią one około 20% wszystkich zdiagnozowanych przypadków. Wpływ na tak dużą zachorowalność mają m.in. zły stan powietrza, czy palenie tytoniu. Ze względu na trudną diagnostykę, są to również najbardziej letalne nowotwory. Powodem tak dużej śmiertelności jest również nieodpowiedni dobór terapii[1][2].

W przeciągu ostatnich lat nastąpił duży wzrost zainteresowania sztuczną inteligencją, w szczególności sieciami neuronowymi. Dzięki nim możliwa jest implementacja zadań, które dla człowieka wydają się proste, lecz dla komputera są skomplikowane, np. rozpoznawanie twarzy, głosu, gra w szachy. Dzięki wykorzystaniu algorytmu uczenia maszynowego możliwe jest poprawne analizowanie przez sieć danych, które zostały po raz pierwszy tej sieci podane[3].

Zainteresowanie analizą danych medycznych przy pomocy algorytmów sztucznej inteligencji wzrasta z roku na rok. Spowodowane jest to m.in. brakiem dostatecznej liczby specjalistów z danej dziedziny, lub czasem trwania analizy danych przez lekarza. Opracowywane są coraz to nowsze algorytmy pozwalające na uzyskanie dokładniejszej oceny obrazów medycznych, pomiarów (np. EEG, EKG), porównywalnych z oceną specjalisty w danej dziedzinie, w krótszym czasie[4].

Celem niniejszej pracy jest stworzenie oprogramowania wspomagającego ocenę obrazów histopatologicznych płuc zapisanych jako obrazy całego preparatu histopatologicznego (ang. whole slide image, WSI)[XXXXXXXXXXXXXXXXXX][YYYYYYYY], wykorzystującego konwolucyjną sieć neuronową oznaczającą tkankę nowotworową na obrazie. Jako zestaw danych został wybrany zbiór udostępniony wraz z ACDC-Lung HP challenge[5]. Wybrano ten zestaw, gdyż składa się on z całych skanów skrawków płuc, dzięki czemu nie jest narzucony wymiar obrazu. Jako język programowania wybrano język Python 3.7, który dzięki zastosowaniu zewnętrznych modułów stanowi na dzień dzisiejszy jeden z najlepszych języków programowania do implementacji sieci neuronowej.

1. Nowotwór płuc

W ostatnich latach zanotowano znaczny wzrost zapadalności na nowotwory płuc. Według statystyk WHO z 2018r. stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie. Najczęściej diagnozowanym i zarazem najbardziej śmiertelnym nowotworem jest rak płuc[1].

Rakiem płuc nazywamy nowotwór wywodzący się z tkanki nabłonkowej wyścielającej drogi oddechowe[ŹRÓDŁO]. Czynnikami sprzyjającymi powstawaniu zmian nowotworowych w płucach są m.in. palenie tytoniu, ekspozycja na duże dawki promieniowania, obecność azbestu w płucach[2]. W obrębie raka płuc wyróżnia się dwa typy: drobno- i niedrobnokomórkowy. Pierwszy z wymienionych rozwija się agresywniej, przez co wyleczenie pacjenta cierpiącego na ten rodzaj raka jest trudniejsze[6].

Nowotwór nie drobnokomórkowy płuc jest dzielony na trzy linie komórek rakowych: rak gruczołowy, płaskonabłonkowy oraz wielkokomórkowy. Pierwsza z wymienionych charakteryzuje się tworzeniem struktur podobnych do gruczołów, widocznych na obrazowaniu histopatologicznym oraz obecnością śluzu. Rak płaskonabłonkowy jest silnie związany z paleniem tytoniu, cechuje się występowaniem stanów przedrakowych, takich jak zmiana kształtu komórek i ich funkcji. Rak wielkokomórkowy kształtem przypomina komórki pozostałych dwóch linii komórek rakowych, lecz nie współdzieli ich cech. Komórki tej linii rakowej są zdecydowanie większe od komórek pozostałych dwóch linii[2].

1. Kliniczna diagnostyka raka płuc

Diagnostyka raka płuc polega na wykryciu obecności komórek nowotworowych w tkankach pacjenta. Ważną cechą diagnostyczną jest stopień rozsiania nowotworu w tkance. Aby dobrać odpowiedni typ leczenia, należy przeprowadzić badanie histopatologiczne. Jest to inwazyjna metoda polegająca na poborze tkanki i jej analizy przez lekarza histopatologa. Pozwala ona na dokładne rozpoznanie choroby nowotworowej poprzez przypisanie konkretnej linii rakowej, której obecność jest stwierdzona w próbce. Pozwala to dostosować terapię do potrzeb pacjenta zmniejszając ekspozycje na toksyczne właściwości cytostatyków[7][8][11].

Pobór tkanek do badań może odbyć się na drodze biopsji przezskórnej lub zabiegu chirurgicznego. Pierwsza z metod została zaprezentowana na rysunku 3.1. Polega ona na nakłuciu guza igłą biopsyjną i poborze tkanki. Podczas zabiegu wykonywane jest obrazowanie CT w celu umożliwienia lokalizacji guza w płucu. Druga z metod jest używana w momencie, gdy pacjent kwalifikuje się do operacji. Polega na torakotomii(otwarciu ściany klatki piersiowej) i wycięciu chorej tkanki[9].

# Diagram showing a percutaneous lung biopsy

# Rys. 3.1. Wizualizacja biopsji przezskórnej guza płuc. Źródło: [9]

Świeżo pobrane tkanki należy wybarwić przed analizą histopatologiczną. Zastosowanie barwienia ma za zadanie ułatwić lekarzowi rozpoznawanie struktur komórkowych, bądź całych komórek. Najczęściej stosowanym barwieniem jest barwienie hematoksyliną i eozyną. Pierwszy z wymienionych związków chemicznych jest utleniany przy pomocy tlenu z powietrza przy obecności światła (hematoksylina Boehmera), lub tlenku rtęci(II)(hematoksylina Harrisa) do hemateiny. Barwi ona w obecności jonów glinu jądro komórkowe i siateczkę śródplazmatyczną szorstką na kolor niebieski. Eozyna natomiast wybarwia cytoplazmę i włókna kolagenowe na kolor czerwony[10][11].

1. Sieci neuronowe
   1. Sieć neuronowa a mózg ludzki

W ostatnich latach można dostrzec duże zainteresowanie dziedziną sztucznej inteligencji. Jest to spowodowane chęcią automatyzacji procesów, mające na celu wspomaganie pracy człowieka, osiągnięcie powtarzalności wyników i zaoszczędzenie czasu. Jednym z działów sztucznej inteligencji są sieci neuronowe, które swoją strukturą niekiedy przypominają system połączeń neuronów i przesyłanie sygnału w mózgu ludzkim[12].

Na rysunku 4.1.1. przedstawiono porównanie komórki nerwowej z modelem matematycznym stanowiącym podstawową jednostkę sieci neuronowej. Każda ze struktur otrzymuje sygnały wejściowe od dendrytów (będących danymi wejściowymi do sieci lub wzmocnieniami neuronów z poprzedniej warstwy) i tworzy sygnał wyjściowy wysyłany aksonem. W modelu matematycznym każdy dendryt ma przypisaną do siebie wagę *wx*, powodującą wzmocnienie (*wx > 0*) lub osłabienie (*wx < 0*) sygnału. Sygnały od poszczególnych dendrytów są łączone wybraną operacją matematyczną. Wartość sygnału wyjściowego zależy od funkcji aktywacji, mapującej liczby z dziedziny liczb rzeczywistych na oczekiwany przedział (najczęściej [0, ∞) lub [0, 1])[12].

# 

# Rys. 4.1.1. Porównanie komórki nerwowej człowieka z modelem matematycznym neuronu sieci neuronowej. [12]

* 1. Zasada działania sieci

Aby zrozumieć jak działa sieć neuronowa, należy zastanowić się jak wygląda przesyłanie informacji między warstwami oraz algorytm nauki sieci.

Poprzez naukę sieci rozumie się ustawienie parametrów sieci (np. wag) na podstawie przekazywanych do sieci danych wejściowych oraz danych wzorcowych[12][13]. W celu nauki modelu tworzy się zestaw danych składający się z dwóch podzbiorów – zbiór danych do nauczania (na których sieć jest uczona), oraz zbiór danych testowych (na których przeprowadzana jest walidacja). Każdy ze zbiorów zawiera pary dane wejściowe – dane wzorcowe, reprezentujące oczekiwany wynik. Celem nauczania sieci jest ustawienie jej parametrów w taki sposób, aby podobieństwo między predykcją sieci, a danymi wzorcowymi było jak największe, oraz aby dla nigdy nie przetwarzanych przez sieć danych uzyskać jak najdokładniejsza, zgodną z rzeczywistością predykcję[3][12][13].

Pierwsza warstwa neuronów, na podstawie otrzymanych danych wejściowych, wytwarza sygnały (na podstawie algorytmu opisanego w rozdziale 5.1.), które są przekazywane do kolejnej warstwy jako sygnał wejściowy. Proces jest powtarzany do momentu osiągnięcia ostatniej warstwy. W tym miejscu predykcja sieci jest porównywana z danymi wzorcowymi przy pomocy określonej funkcji. Wynik porównania jest mnożony przez współczynnik uczenia, będący liczbą z zakresu [0, 1], determinującą szybkość zmian. Wyznaczana jest pochodna powyższego iloczynu jest dodawana do wag warstwy wcześniejszej. Powyższy proces jest powtarzany dla całego zestawu danych[3].

4.3. Rodzaje sieci neuronowych

Sieci neuronowe można klasyfikować na wiele sposobów. Najpopularniejszymi podziałami są podział ze względu na kierunkowość przepływu danych, rodzaj dokonywanych operacji[13]. W powyższym podrozdziale zostaną opisane trzy główne typy sieci- wielowarstwowy perceptron, sieć konwolucyjna i sieć rekurencyjna.

Najprostszym typem sieci jest wielowarstwowy perceptron. Składa się on z warstwy wejściowej, warstwy wyjściowej i przynajmniej jednej warstwy ukrytej (znajdującej się pomiędzy warstwą wejściową, a warstwą wyjściową). Neurony sąsiadujących warstw są połączone na zasadzie każdy z każdym, tzn. neuron *ai* należący do warstwy A jest połączony   
z każdym neuronem z warstwy B, natomiast każdy neuron *bj* należący B otrzymuje sygnał od każdego neuronu z warstwy A (Rys. 4.3.1.)[13].

# 

# Rys. 4.3.1. Dwa modele sieci typu wielowarstwowy perceptron- z jedną ukrytą warstwą (po lewej), z dwiema ukrytymi warstwami (po prawej). [13]

Zasadniczą wadą wielowarstwowego perceptronu jest ignorowanie wzajemnego położenia danych, które często jest istotnym czynnikiem definiującym dane wejściowe (np. podczas analizy funkcji matematycznych, obrazu). W takich sytuacjach zdecydowanie lepszym wyborem jest konwolucyjny model sieci neuronowej. Zasada przejścia danych z jednej warstwy do drugiej opiera się na operacji splotu – z tego powodu sąsiadujące warstwy nie są w pełni połączone- tylko pewien region warstwy A jest połączony z neuronem warstwy B (Rys. 4.3.2.)[13]. Funkcja splotu osiąga lokalne maksimum w sytuacji, gdy dane wejściowe są podobne do struktury wag (wektora w przypadku funkcji, macierzy w przypadku obrazu)[3][13]. W tym typie sieci wykorzystywana jest tez operacja poolingu, polegająca na mapowaniu grupy wzmocnień neuronów warstwy A na wzmocnienie jednego neuronu warstwy B. Najczęściej stosowanym typem poolingu jest pooling maksymalny, który jako wzmocnienie neuronu następnej warstwy wybiera wartość maksymalną z grupy wzmocnień z warstwy aktualnej[3][13][14].

# 

# Rys. 4.3.2. Operacja splotu macierzą 3x3 na macierzy 4x4.[14]

Oba omówione wcześniej modele nie są najlepszym wyborem w przypadku danych, gdzie informacja o poprzedniku jest niezbędna do poprawnej predykcji danych następcy. W takich sytuacjach najlepiej sprawdza się rekurencyjna sieć neuronowa, która poprzez pętlę sprzężenia zwrotnego w swojej architekturze przechowuje informację o poprzednim przejściu danych przez sieć (Rys. 4.3.3.).

# 3. Graph of a recurrent neural network.Â

# Rys. 4.3.3. Przykładowy model sieci rekurencyjnej.[15]

1. zbiór danych

Zbiorem danych wykorzystanych w niniejszej pracy jest zbiór udostępniony wraz z konkursem „ACDC- Lung HP” na stronie www.grand-challenges.org. Celem konkursu było stworzenie algorytmu lub sieci segmentującej skrawki histologiczne płuc[<https://acdc-lunghp.grand-challenge.org/>]. [TODO też trochę o pochodzeni datasetu : [https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1803 /1803.05471.pdf](https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1803%20/1803.05471.pdf)]

* 1. Opis ilościowy zbioru danych

Dane zostały udostępnione jako 150 skanów skrawków do uczenia, oraz 50 skrawków do walidacji. Na każdy skrawek zbioru służącego do nauki składają się dwa pliki: o rozszerzeniu .tif (ang. tagged image file)[źródło: wikipedia] zawierające całe skany histologiczne oraz .xml (ang. extensible markup language)[źródło: wikipedia] zawierające oznaczenia miejsc występowania tkanki nowotworowej na obrazie. Zbiór do walidacji zawierał jedynie obrazy skrawków histologicznych. Skany zostały zapisane przy użyciu zautomatyzowanego mikroskopu Olympus VS120[[https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1803 /1803.05471.pdf](https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1803%20/1803.05471.pdf)].

Każdy skan histologiczny składa się z około 80 000 pomniejszych skanów[<https://acdc-lunghp.grand-challenge.org/>dataset], które ułożone w kolejności zapisu oddają rzeczywistą geometrię próbki. Dzięki zastosowaniu formatu .tif, umożliwiającego na zapis kilku przybliżeń próbki w jednym pliku[ŹRÓDŁO], dostarczone obraz można wyświetlić w rzeczywistej skali, jak i w skali komórkowej.

* 1. Opis jakościowy zbioru danych

# czy to zamieszczać?

##Wśród obrazów preparatów histologicznych można wyróżnić dwie grupy: zawierającą jeden duży skrawek oraz zawierającą kilka skanów tej samej tkanki. W drugiej grupie kluczowym jest wybranie tylko tego skanu, który został oznaczony. W przeciwnym razie dany fragment zostanie wycięty tylokrotnie, ile takich samych skanów jest obecnych na obrazie. W efekcie otrzymamy kilka obrazów tego samego fragmentu wycinka, lecz tylko jeden z nich będzie poprawnie oznaczony. Zaistnienie takiej sytuacji może realnie wpłynąć na jakość predykcji sieci. ##

Kolejnym aspektem jest stosunek powierzchni tkanki do powierzchni całego obrazu. W pierwszej grupie tkanka wypełnia obraz w dużym procencie, co przekłada się na dużą liczbę danych do uczenia sieci pozyskanych z jednego slajdu. W drugiej grupie procent tkanki na obrazie jest zdecydowanie mniejszy- większość obrazu wypełnia białe tło. Powoduje to mniejsza ilość pozyskanych danych w porównaniu do grupy pierwszej. [TODO warto pokazać]

Slajdy preparatów histologicznych zawierają liczne zabrudzenia, czy artefakty. Wśród nich wymienić można m.in. plamy mieszaniny barwiącej w miejscach, gdzie nie znajduje się tkanka, makroskopowe oznaczenia na obrazach, liczne, drobne fragmenty tkanek, czy nachodzenie na siebie dwóch warstw preparatu. Są to typowe artefakty powstające podczas pracy przy preparatach histologicznych. Istotną kwestią jest, aby predykcja sieci neuronowej nie obejmowała obszarów ich występowania[ŹRÓDŁO]. [może pokazać?]

1. Narzędzia
   1. Język programowania Python

Jako wiodący język programowania projektu został wybrany Python w wersji 3.7.3. Jest to język obiektowy, zajmujący czwarte miejsce w rankingu najczęściej używanych języków programowania oraz drugie miejsce w rankingu najbardziej lubianych języków przez programistów[<https://insights.stackoverflow.com/survey/2019>].

Główną przewagą Pythona nad innymi wysokopoziomowymi językami, takimi jak Java, C#, jest fakt, iż programy o identycznej funkcjonalności napisane w innych językach statystycznie zawierają więcej linii kodu źródłowego. Powoduje to, iż utrzymanie programu napisanego w Pythonie jest łatwiejsze od oprogramowania napisanego np. w Javie[ŹRÓDŁO]. Kolejną zaletą tego języka jest obecność dobrze przetestowanych, intuicyjnych w użyciu zewnętrznych modułów do m.in. analizy danych, obróbki zdjęć, czy uczenia maszynowego[<https://www.python.org/about/apps/>].

* 1. ASAP- Automated Slide Analysis Platform

Wraz z zestawem danych dołączone zostało oprogramowanie napisane w języku C++, w którym histopatolodzy oznaczali zmiany nowotworowe – Automated Slide Analysis Platform[<https://github.com/computationalpathologygroup/ASAP>]. Pozwala ono na otwarcie slajdów preparatów histologicznych oraz wczytanie i nałożenie na obraz oznaczeń. Dostarczono również fasadę API w/w programu w języku Python pozwalającą na odczyt slajdu, fragmentu slajdu, czy adnotacji w kodzie Pythona oraz na generowanie masek prawdy na podstawie adnotacji[<https://acdc-lunghp.grand-challenge.org/>]. Pozwala to na dowolność przy doborze wielkości analizowanych obrazów i zastosowanie własnej obróbki danych.

Literatura

[1] https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer (dostęp z dnia 20.05.2019)

[2] http://onkologia.org.pl/nowotwory-pluca-oplucnej-tchawicy/ (dostęp z dnia 20.05.2019)

[3] François Chollet - Deep Learning with Python (2018)

[4] https://grand-challenge.org/ (dostęp z dnia 05.06.2019)

[XXXXXXXXXXXXXXXX] <http://www.script.home.pl/pbkom/roczniki/pdf2011/pbk%2011-3/s475-490.pdf>

[YYYYYYYYYYYYYYYY] <https://docplayer.pl/25857891-Statystyczna-analiza-obrazow-morfologicznych-i-jej-mozliwosci-zastosowania-w-mikroskopii-wirtualnej.html>

[5] https://acdc-lunghp.grand-challenge.org/ (dostęp z dnia 05.06.2019)

[6]https://www.cancer.org/cancer/lung-cancer/prevention-and-early-detection/risk-factors.html (dostęp z dnia 20.05.2019)

[7] https://www.researchgate.net/profile/Lauren\_Collins2/publication/6576120\_Lung\_Cancer  
\_Diagnosis\_and\_Management/links/00b4952d3f9c7b8434000000/Lung-Cancer-Diagnosis-and-Management.pdf (dostęp z dnia 24.05.2019)

[8] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2797332/ (dostęp z dnia 24.05.2019)

[9] https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/lung-cancer/getting-diagnosed/tests-diagnose/biopsy-through-skin (dostęp z dnia 25.05.2019)

[10] http://www.kolchem.pl/instrukcje/he\_instrukcja.pdf (dostęp z dnia 01.06.2019)

[11] https://www.histology.leeds.ac.uk/what-is-histology/H\_and\_E.php?fbclid=IwAR1yA3pw0\_M\_yTGU9SjaXdOLclvIPC5j1gh6D7b2B903tyPk5fKDAOtBrww (dostęp z dnia 01.06.2019)

[12] http://cs231n.github.io/neural-networks-1/ (dostęp z dnia 20.05.2019)

[13] Nikhil Ketkar - Deep Learning with Python - A Hands-on Introduction - 1E (2017)

[14] Vincent Dumoulin, Francesco Visin - A guide to convolution arithmetic for deep learning (2018)

[15]https://www.researchgate.net/figure/Graph-of-a-recurrent-neural-network\_fig3\_234055140 (dostęp z dnia 21.05.2019)