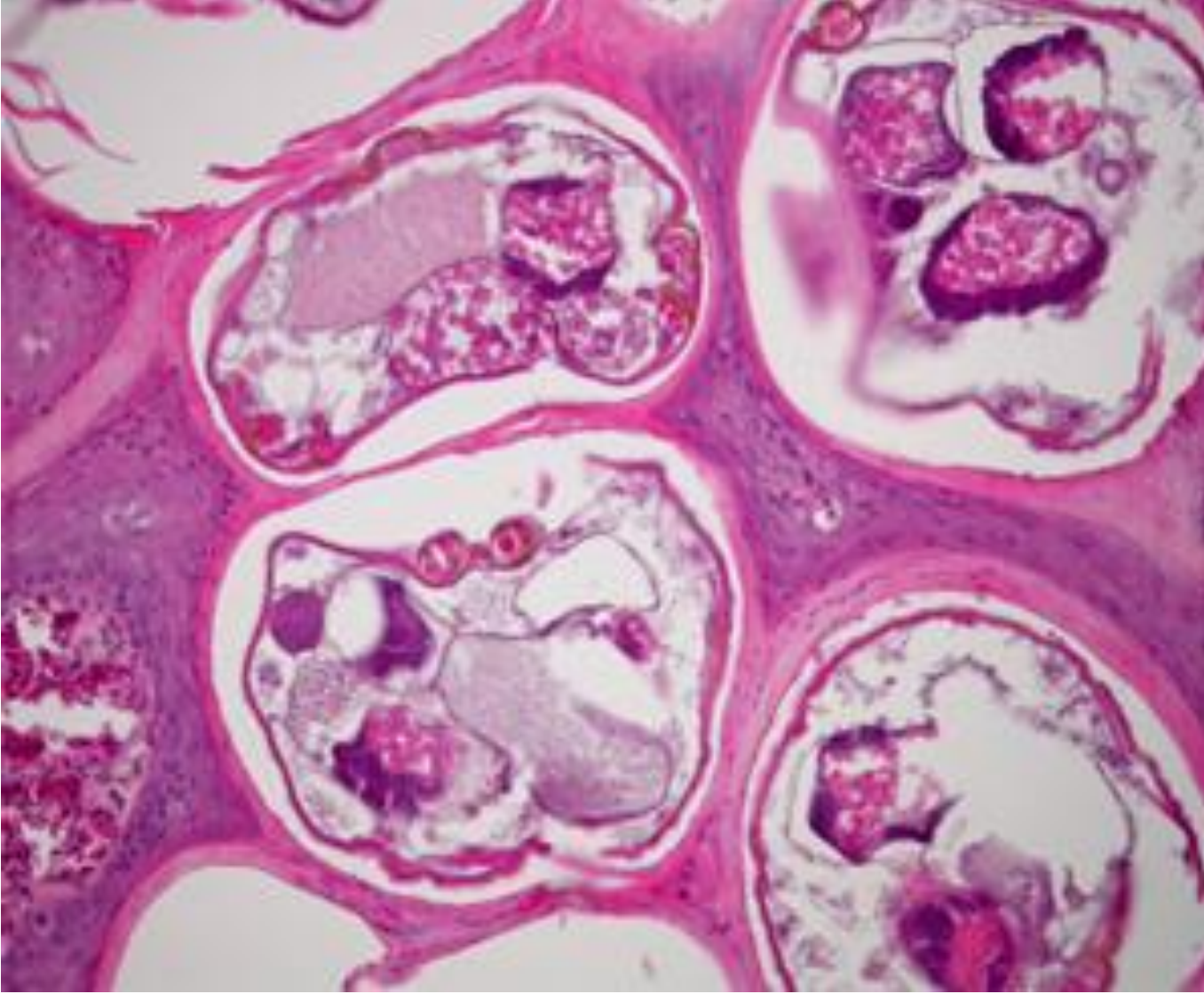


# Bilgisayarlı Patoloji

Yunus Güngör





## Patoloji Nedir?

Hastalık bilimi anlamına gelen patoloji, hastalıkların hücrelerdeki, dokulardaki ve organlardaki yapısal ve işlevsel değişikliklerin tanınması, araştırılması ve incelenmesiyle ilgilenir. Biyopsilerin incelenmesi ve teşhisin konulması patolojinin ilgi alanına girer.

# Tanı konulmasının adımları

1

Örnek Alma  
(Biyopsi)

2

İşleme

3

Görüntüleme

4

Analiz

5

Teşhis

# Tanı konulmasının adımları

## Örnek Alma (Biyopsi)

İncelenmesi istenen dokudan küçük bir kesimin ameliyatla alınması işlemidir

1

Örnek Alma  
(Biyopsi)

2

İşleme

3

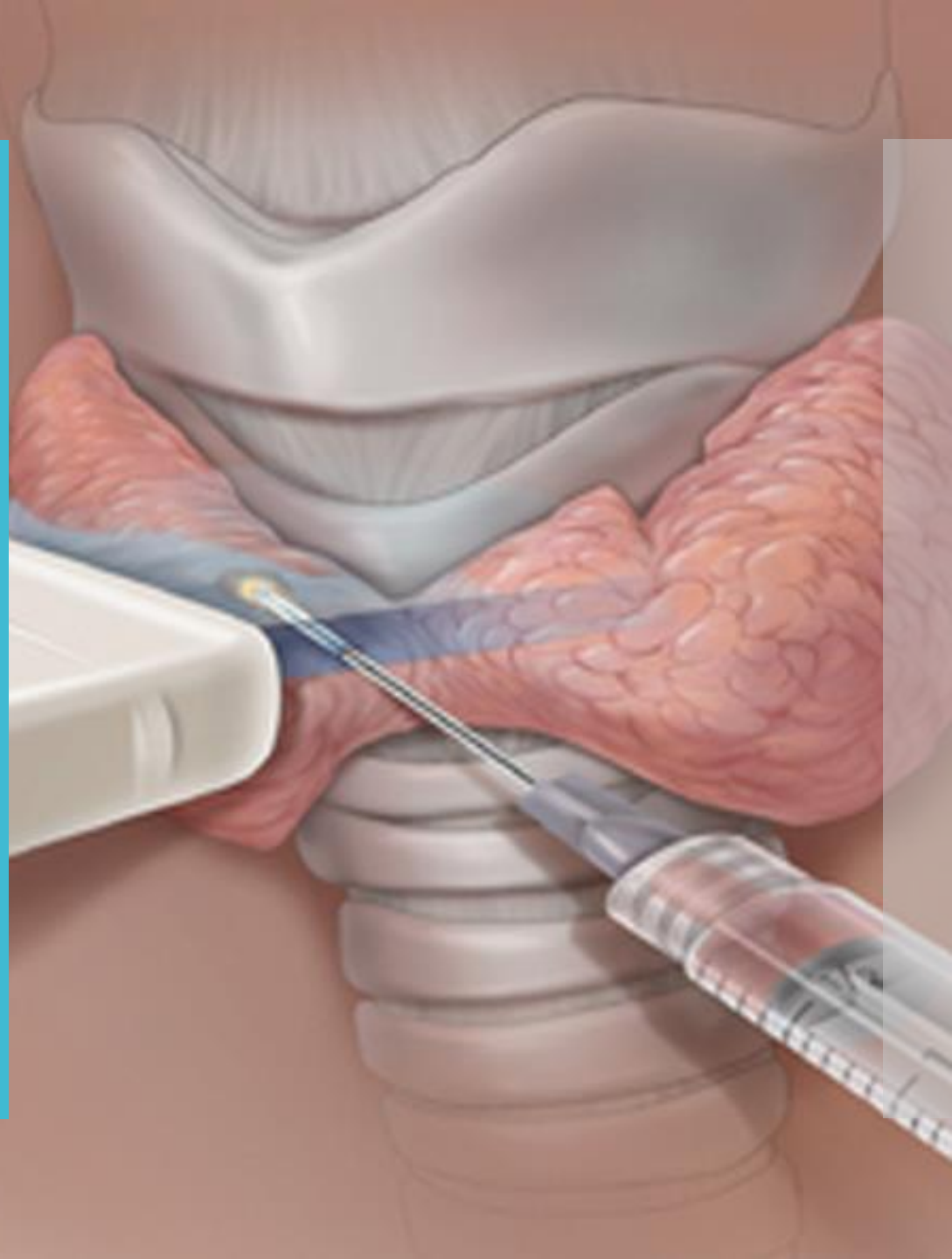
Görüntüleme

4

Analiz

5

Teşhis



# Tanı konulmasının adımları

## İşleme

Alınan örneğin bozulmaması, mikroskop altında görüntülenebilmesi ve hedeflenen alan, gen veya proteinin kimyasal olarak incelenmesi istenen alanı hedefleyen, dışardan bir etkiye tepki veren (genellikle ışığa olarak) bir madde ile işlenmesidir

Daha fazla bilgi için: <https://owlcation.com/stem/What-Happened-to-That-Biopsy-the-Doctor-Took-From-Me>

1

Örnek Alma  
(Biyopsi)

2

İşleme

3

Görüntüleme

4

Analiz

5

Teşhis

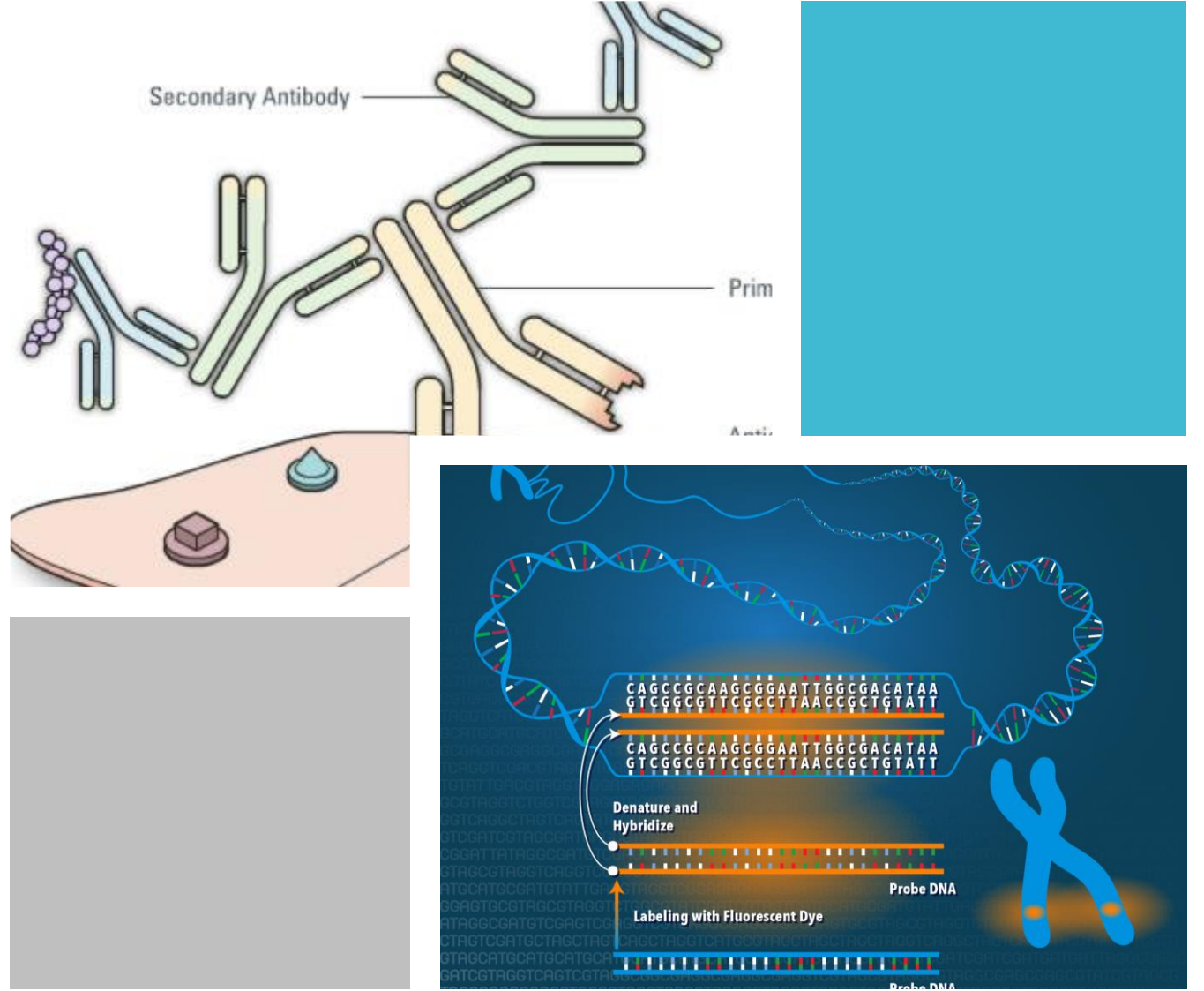




# İşleme

**FISH (Fluorescence in situ hybridization):** DNA ve RNA'nın belirli bölgelerine bağlanan moleküler sondaların yardımıyla görüntüleme yapılan tekniktir.

**IHC (Immunohistochemistry):** Antikorların antijenlere özel olması prensibini kullanarak hücredeki antijenleri tespit etmeye yönelik kimyasal bir işlemdir. Anormal hücrelerin belirlenmesinde kullanılır



# Tanı konulmasının adımları

## Görüntüleme

Hazırlanan örneğin mikroskop ile büyütülerek insan gözü veya dijital bir araçla görüntülenmesidir



# Tanı konulmasının adımları

## Analiz

İstenilen analizin (genel olarak hücrenin bir bölümünün boyutu, hücre, belirli bir protein veya gen sayısı) bir insan veya bir yazılım tarafından görüntülenen örnekte yapılmasıdır.

1

Örnek Alma  
(Biyopsi)

2

İşleme

3

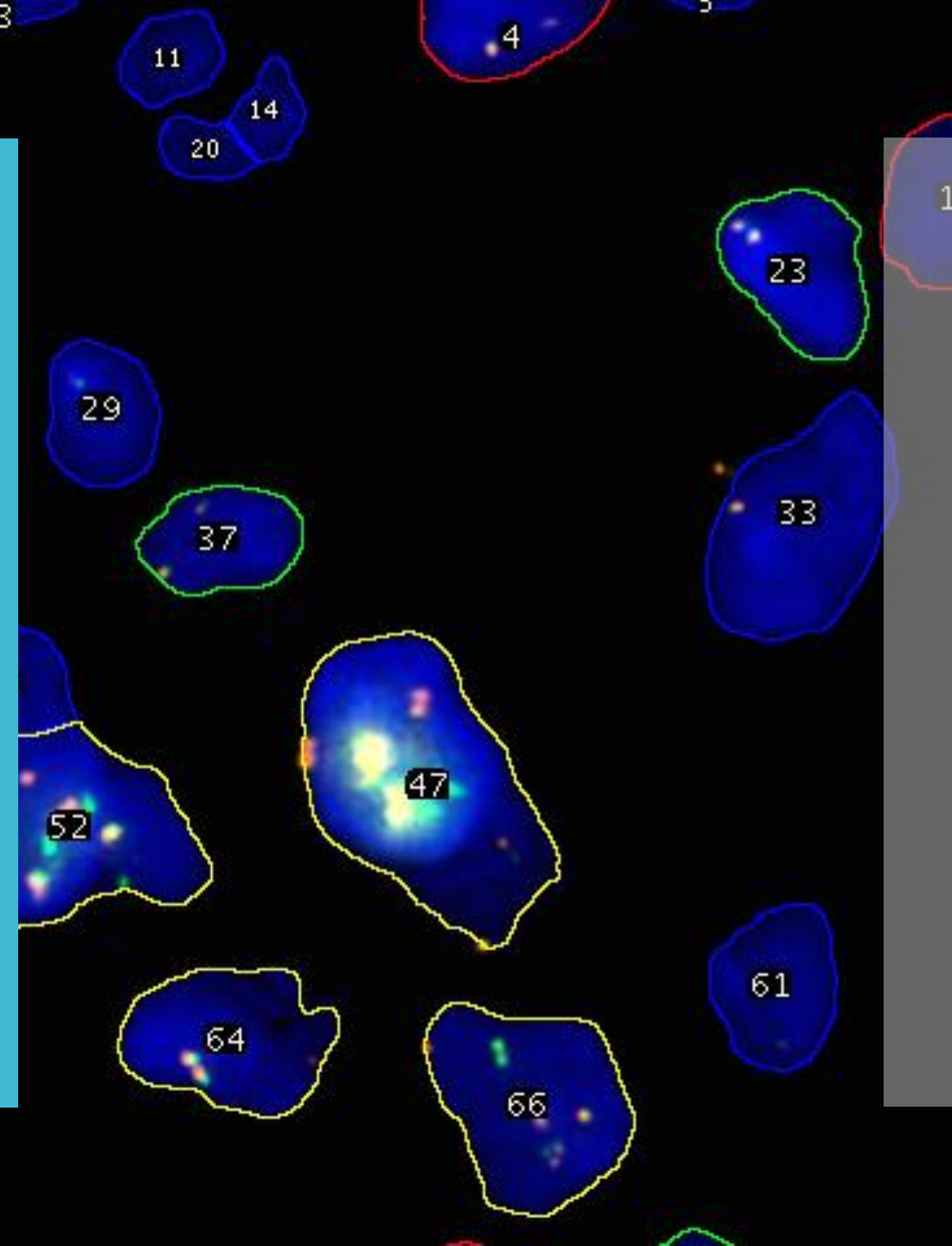
Görüntüleme

4

Analiz

5

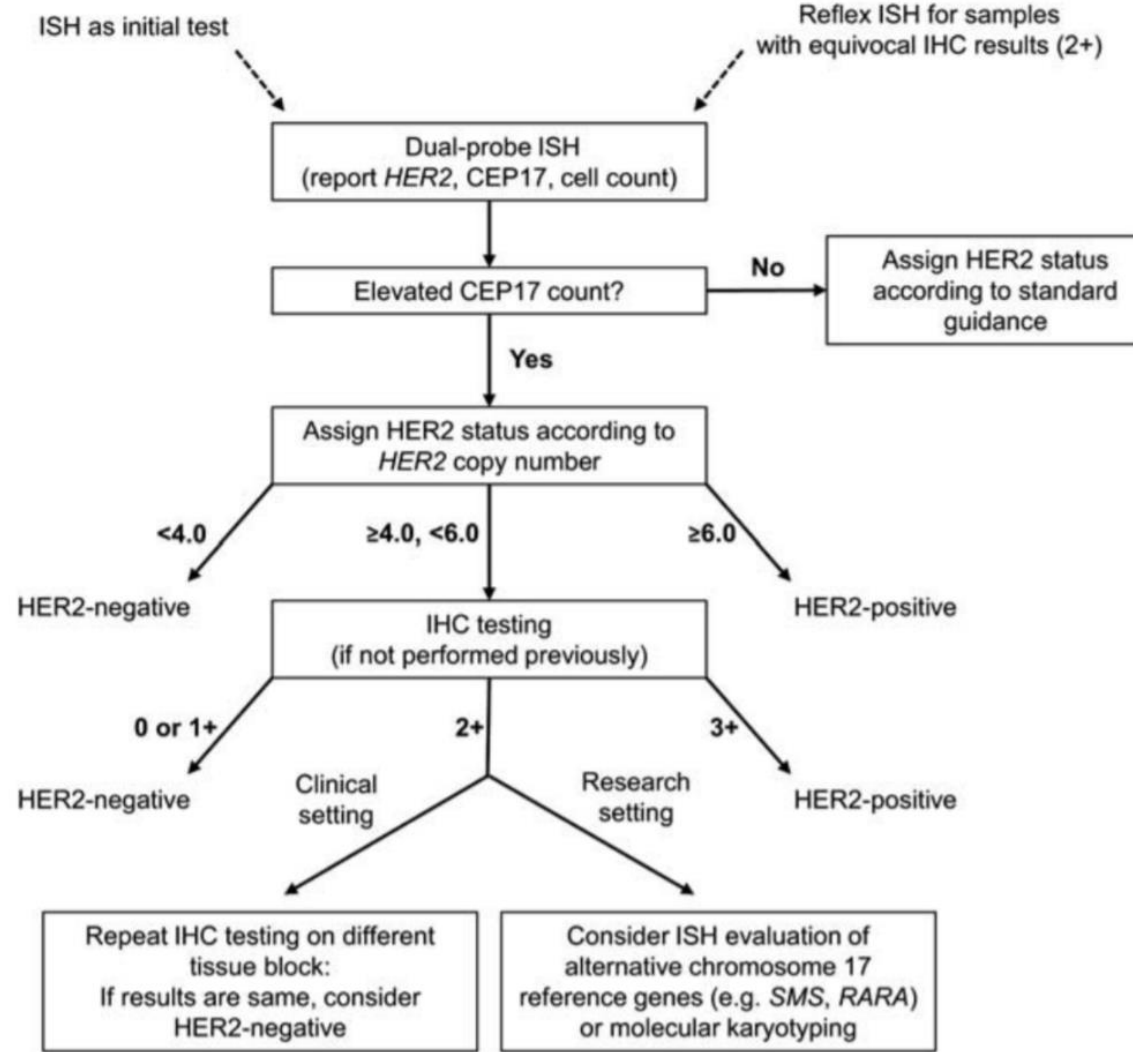
Teşhis





# Analiz

Meme kanseri belirlemede kullanılan testler ve sonuçlarına göre yapılması gereken diğer testler şekildedir. Buradaki değerlerin hesaplanması için insan gözü veya bilgisayarlı sistemler teorik olarak kullanılabilir.

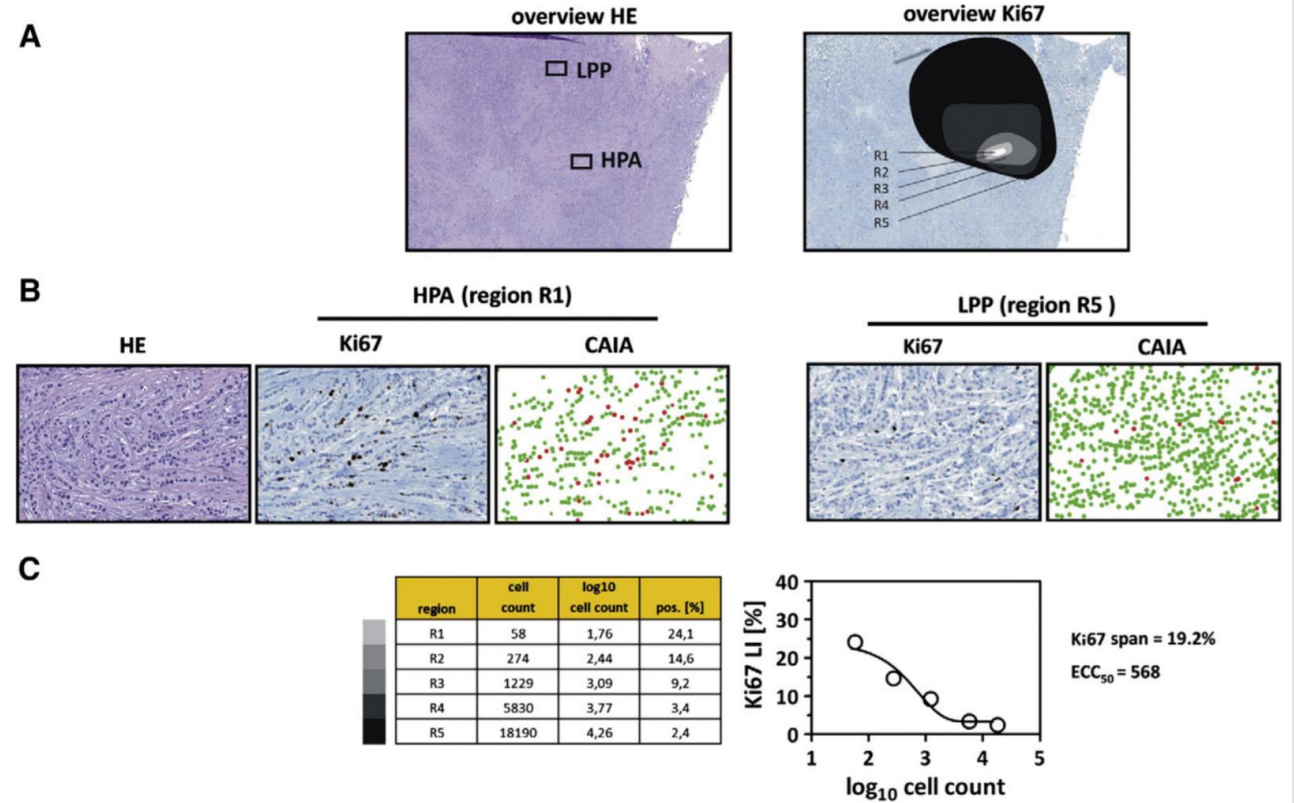


**Figure 1** Consensus algorithm for human epidermal growth factor receptor 2(HER2) status determination in breast cancer samples with apparent polysomy 17 (increased chromosome enumeration probe 17 (CEP17) count). IHC, immunohistochemistry; ISH, *in situ* hybridization.

# Görüntü İşleme ve Analiz

Tanı konulurken izlenilen yolda, analiz kısmında yapılan sayımların insan gözü (Eyeballing) ile yapılması hatalı teşhise sebebiyet verebilir.

Bu hatalı teşhislerin ortadan kaldırılması, belirli bir standartın oluşturulması, işlemlerin maliyetinin azaltılması, telepatolojinin kullanılabilmesi, ve gelecekte tamamen otomatik analiz yapan sistemlerin kurulması bilgisayarlı patolojinin asıl odak noktasıdır.



Resim Telif: The region-of-interest size impacts on Ki67 quantification by computer-assisted image analysis in breast cancer, Christgen, Ahsen, Christgen, Länger, Kreipe, 2015

# Tanı konulmasının adımları

## Teşhis

Yapılan analizlere göre, hastalığın ve izlenecek yolun bir profesyonel tarafından belirlenmesidir. Teşhis yaparken elde edilen analizlerin doğruluğu ve hassaslığı çok önemlidir.

1

Örnek Alma  
(Biyopsi)

2

İşleme

3

Görüntüleme

4

Analiz

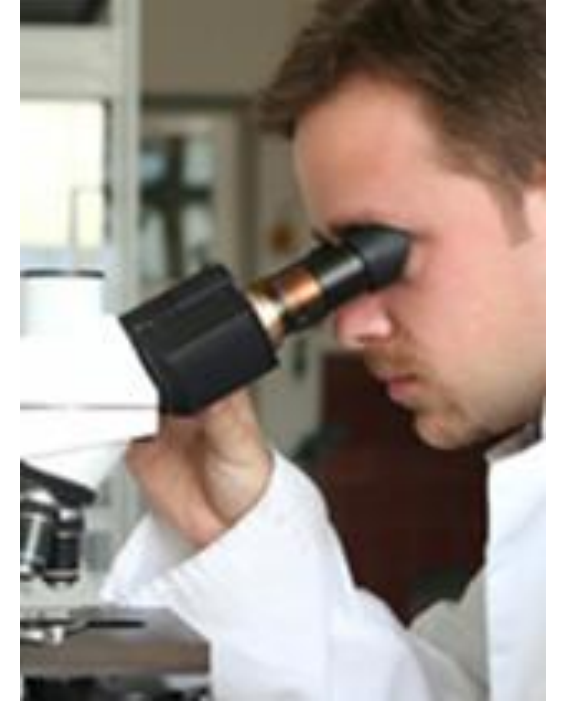
5

Teşhis

# İnsan vs Bilgisayar

Bilgisayarlı analiz sistemleri üzerine yapılan birçok çalışma, bu sistemlerin patolojistlerden daha iyi sonuç verebileceğini birçok defa kanıtlamıştır.

Ayrıca bu sistemler ile azalan iş ve zaman maliyeti bir çok açıdan yarar sağlamaktadır.



## İnsan vs Bilgisayar Diğer araştırmalardaki örnekler

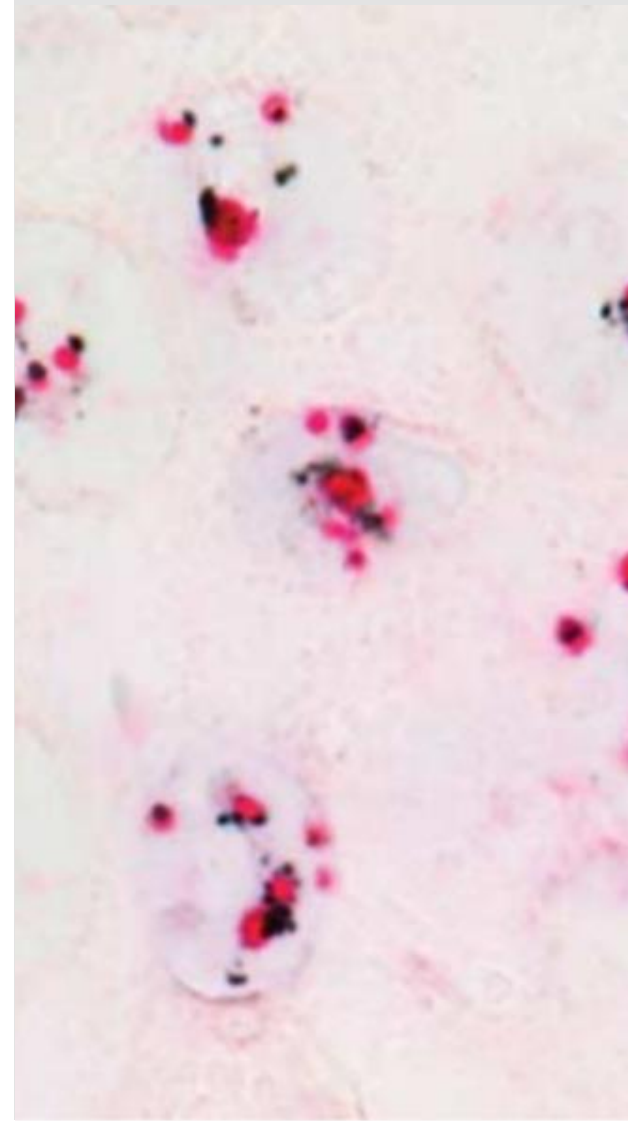
- «HER2 IHC digital image analysis based on membrane connectivity estimate, tested on early ductal carcinoma of the breast tissue microarrays, was in almost perfect agreement with the visual evaluation of the pathologist and more accurate in detection of HER2 FISH-positive patients.» (Laurinaviciene, Dasevicius, Ostapenko, Jarmalaite, Lazutka, Laurinavicius, 2011) \*
- 750 farklı örnekten, Patolojist tarafından belirsiz olarak tanımlanan 255 örnek (%34) ImmunoMembrane DIA isimli yazılımın yardımı ile 76 (%10.1) örneğe kadar azaltılmıştır. (Helin, Tuominen, Ylinen, Helin, Isola, 2016)
- Bu örnekler ve bilgisayarlı patolojinin inkar edilemez yararları düşünüldüğünde görüntü işleme ile patolojik analizin gerekliliği gözler önüne serilmektedir.

\*Terimlerin Türkçe karşılıklarının bilinmemesi sebebiyle çevrilmemiştir



# Görüntü İşleme

Bilgisayar ve matematiksel formüller kullanarak dijital resimleri analiz ederek bilgi üretme işlemine görüntü işleme denir.



Meme Kanseri hücrelerinin gümüş çift renk, situ hybridization analizi. HER2 (siyah) ve CEP17 (kırmızı) belirteçleri kullanılmıştır.

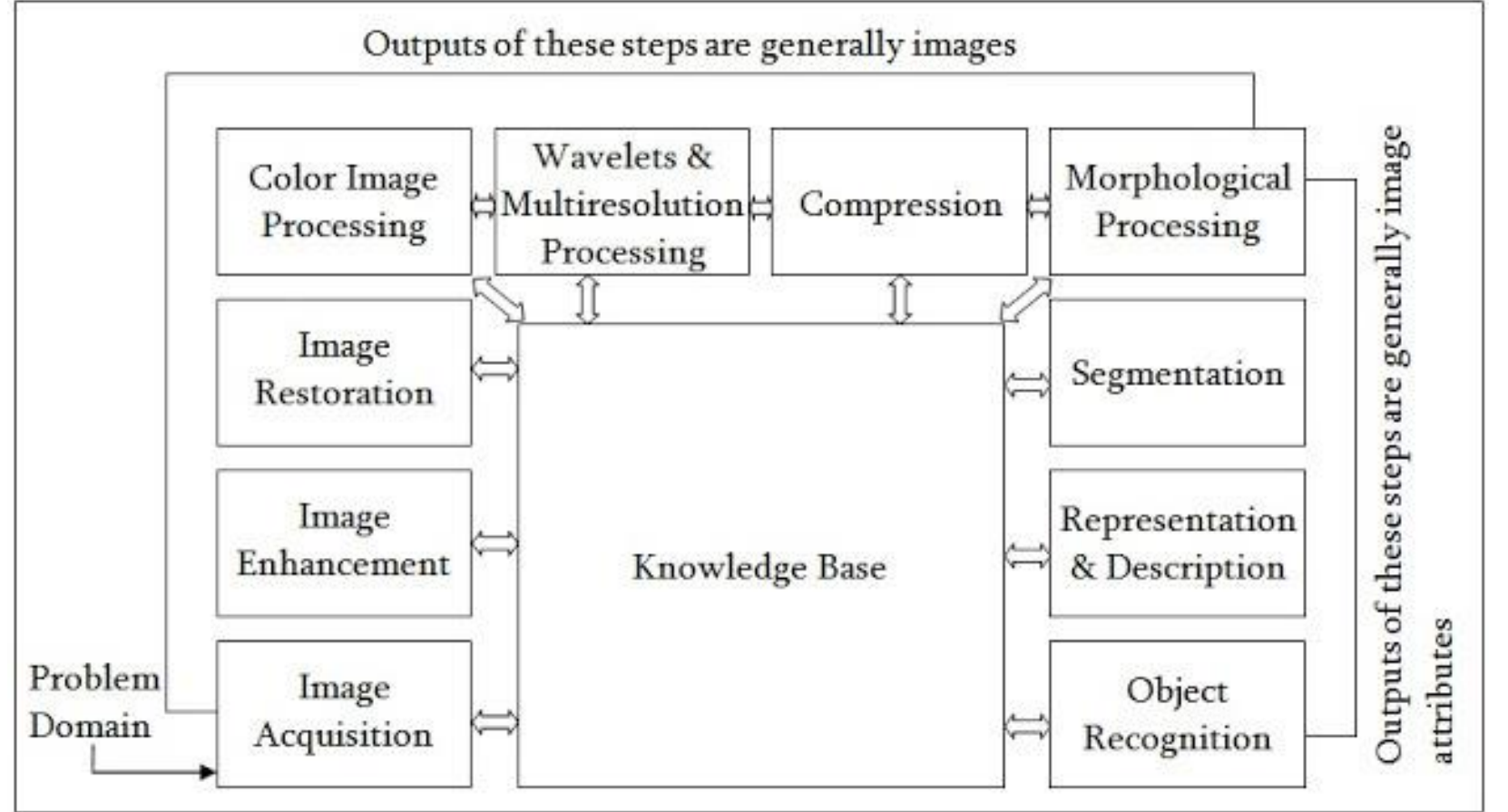
Resim telif: HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity, Hanna, Rüschhoff, Bilous, Coudry, Dowsett, Osamura, Penault-Llorca, Vijver, Viale, 2014

# Görüntü İşleme Adımları

Bilgisayarlı patolojide görüntü işleme metotları genel olarak; görüntü uzayını değiştirerek yeni veriler elde etmek veya olan verileri iyileştirmek, daha sonra bu verileri kullanarak veya başka yöntemlerle görüntüyü maskelemek ve maskelenmiş görüntüden, alan, sayı, boyut vb. gibi verileri elde etmekten oluşur. Çoğu zaman görüntü maskeleme kısmı arka plan maskelenmesini de içerir.

Elde edilen veriler belirli koşullara göre elenerek veya işlenerek son analiz hazır hale getirilir.

Şu anki birçok metot belirli bir adımda kullanıcıdan yardım almak durumundadır.



# Başlıca Görüntü İşleme Algoritmaları

- Filtreleme Algoritmaları:
  - Gaussian Filtresi
  - Top-Hat Filtresi
  - Bottom-Hat Filtresi
- Segmanlama Algoritmaları
  - Watershed Algoritması
    - İmleç Kontrollü Watershed Algoritması
  - Two-Stage Graph Cut Model
- Odak Noktası Belirleme Algoritmaları
  - Fast Radial Transformation
- Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları
  - Maximally Stable Extremal Regions
  - Scale-Invariant Keypoints

## Başlıca Görüntü İşleme Algoritmaları

# Filtreleme Algoritmaları

- Gaussian Filtresi

- Resmi düzleştirmek (resimdeki görüntüyü kaldırmak) için kullanılır. Genel hayattaki tabirle bulanıklık veya desensiz buzlu cam denebilir.
- Genel formülü şu şekildedir:

$$G(r) = \frac{1}{(2\pi\sigma^2)^{N/2}} e^{-r^2/(2\sigma^2)}$$

- 2 Boyut (N=2) için ise şu şekilde:

$$G(u, v) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-(u^2+v^2)/(2\sigma^2)}$$

- Gaus dağılımı ile piksellerin ortalamaya yaklaştırılması işlemidir.

Width = 3



Width = 7



Width = 13



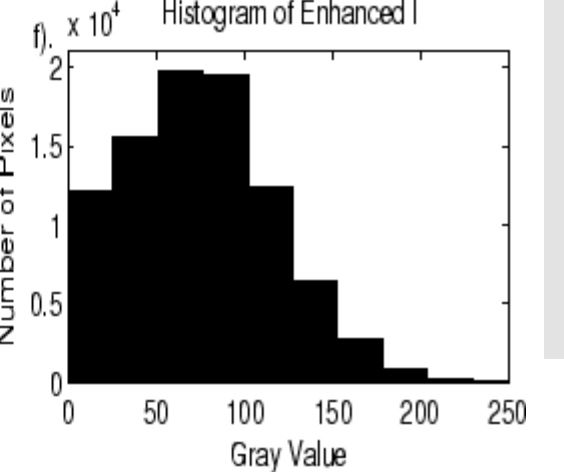
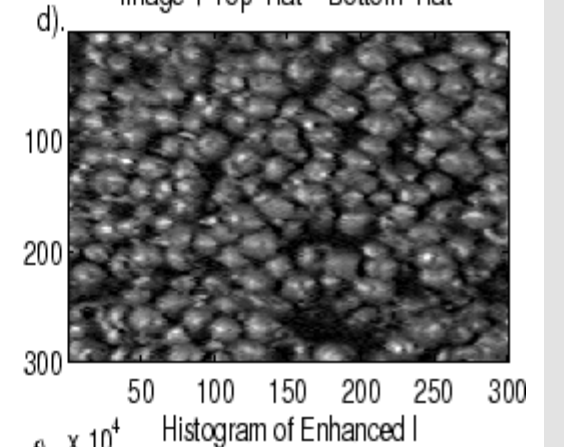
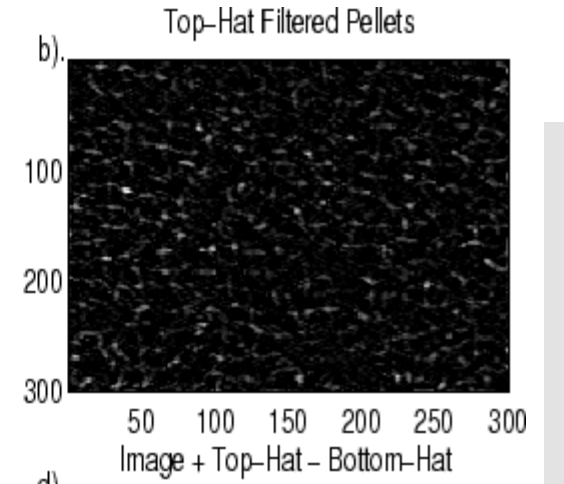
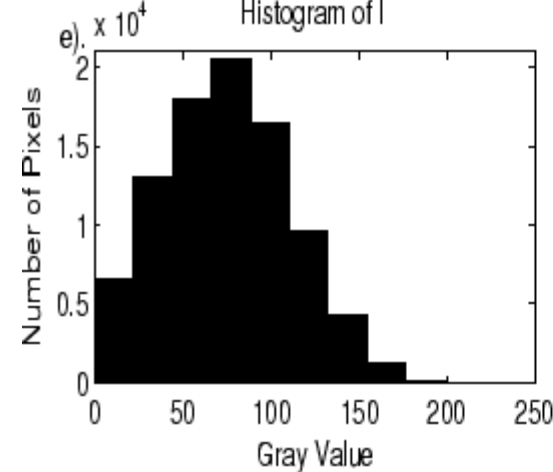
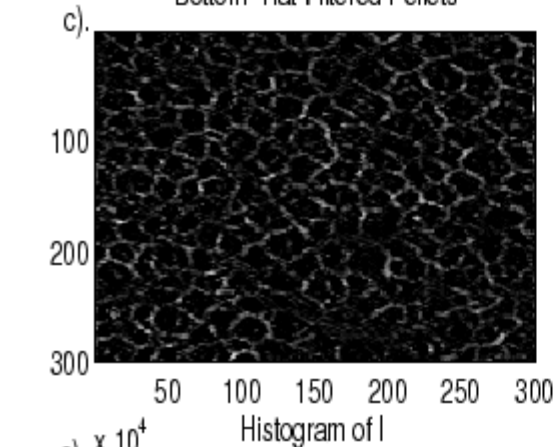
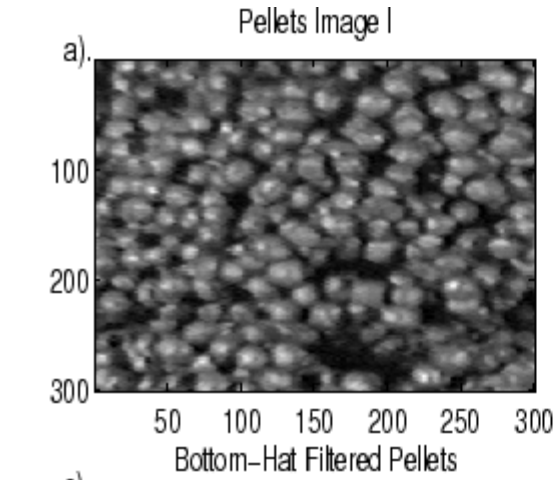
Width = 19



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Filtreleme Algoritmaları

- Top-Hat Filtresi
  - Karanlık arka plandaki parlak objelerin parlaklığını arttırmak için kullanılır
- Bottom-Hat Filtresi
  - Aydınlik arka plandaki karanlık objelerin karartılması için kullanılır





Başlıca Görüntü İşleme Algoritmaları

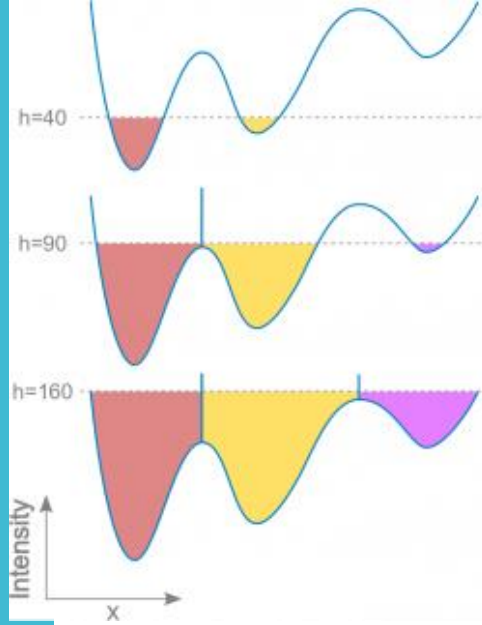
# Segmanlama Algoritmaları

## Watershed

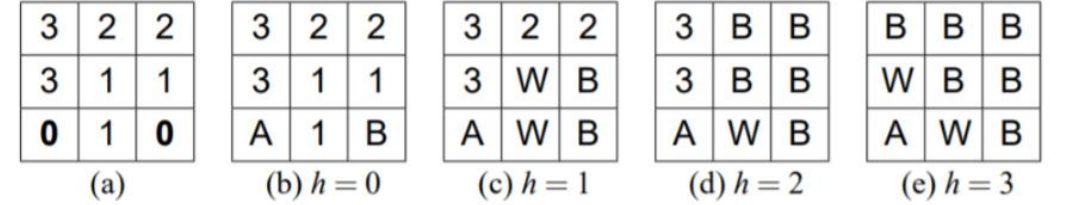
Bu algoritma sınırların kalıpları doldurmasından esinlenerek oluşturulmuştur.

## İmleç Kontrollü Watershed

Minumum veya maksimum noktalarının girdi olarak verildiği watershed algoritmasıdır.



**Figure 6.7.** Watershed transform on the square grid, for different connectivity. (a): original image (minima indicated in bold); (b-c): results according to immersion (Definition 4); (d)-(e): results according to topographical distance (Definition 3, with  $T_f$  as defined in (6.6)).



**Figure 6.13.** Watershed transform by immersion on the 4-connected grid, showing relabelling of 'watershed' pixels. (a): Original image; (b-e): labelling steps based on (6.3).

## Başlıca Görüntü İşleme Algoritmaları

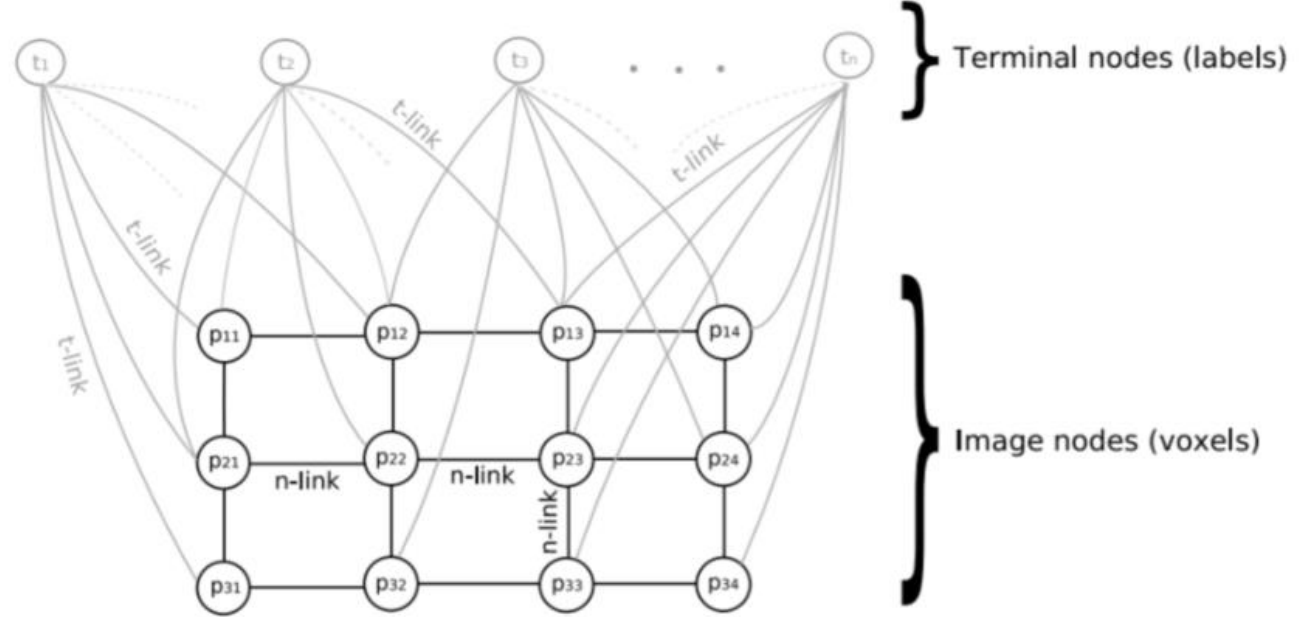
# Segmanlama Algoritmaları

### Two-Stage Graph Cut

Her bir voxele, sanal bir grafik yardımıyla bir etiket atama üzerine dayanır.

Öncelikle arka plan ve ön plan etiketlerini atayan algoritma daha sonra renk eğrilerini kullanarak objelerin ayrılmasını sağlar

Boykov ve Jolly tarafından geliştirilen «graph cut segmentation framework» voxelleri bir grafik olarak tanımlar ve her voxelin bir etikete atanması için bir maliyet fonksiyonu kullanır. Voxelin bir etikete atanma maliyeti ( $R_p(l)$ ) ve atanan yanlış etiketleri cezalandıran ( $B(p,q)$ ) değerlerin toplamını minimuma indirmeye çalışır. Bu değerleri değiştirerek iki defa çalışan «Two-Stage Graph Cut» algoritması önce arka planı daha sonra hücreleri ayırır.



**Fig. 1.** Graph construction for given 2-D image,  $\mathcal{N}_4$  neighbourhood system and set of terminals  $\{t_1, \dots, t_n\}$  (not all t-links are included for the sake of lucidity)

Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Odak Noktası Belirleme Algoritmaları

Fast Radial Transformation

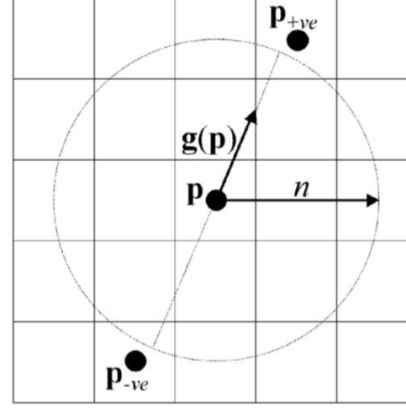
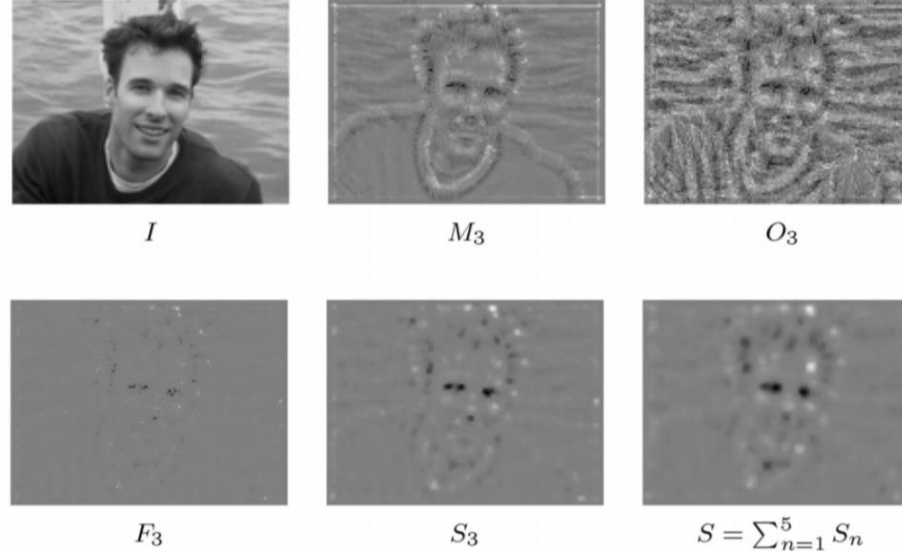


Fig. 3. The locations of pixels  $p_{+ve}(p)$  and  $p_{-ve}(p)$  affected by the gradient element  $g(p)$  for a range of  $n = 2$ . The dotted circle shows all the pixels that can be affected by the gradient at  $p$  for a radius  $n$ .



Bu algoritma daha önceden belirlenmiş sayılarda yarıçaplı daireleri her piksel üzerinde kullanarak, renk eğiminin gösterdiği pikseli ve onun karşısındaki pikselin değerini artırmasıyla çalışır.

Bu işlemi birim olarak (yalnızca bir birim arttırma) ve değer olarak (renk eğimine göre arttırma) tekrarlayan algoritma daha sonra elde edilen resimleri normalize ederek toplar, gaussian filtresi ile düzleştirilen ve değişken yarıçaplar uygulanmış resimleri toplayarak sonucu elde eder. Resimde bulunan simetrik özelliklerin belirlenmesi için kullanılır.



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

## Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

Maximally Stable Extremal  
Regions

Resimdeki tüm pikseller için belirli bir değerin üstündeki tüm pikselleri tam siyah ve altındaki tüm pikselleri tam beyaz yaptığımızı düşünelim. Belirlenen değişkenin olabilecek minimum piksel değerinden, olabilecek maksimum piksel değerine doğru değişmesi sonucu tamamen siyahtan başlayarak, tamamen beyaza giden bir değişim elde edilir. Bu değişim sırasında birbirine bağlantılı kalan noktaların tespit edip, gruplandırılması ve bir fonksiyonla temsil edilmesi sonucu «Maximally Stable Extremal Regions» elde edilir. Bu bölgelerin diğer resimlerle eşleştirilmesi ile resmin yerinin tespiti yapılabilir.



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

## Scale-Invariant Keypoints

Bu algoritma temel olarak resimdeki sabit renk eğimlerini bularak, bunları resmin yönünden bağımsız vektörlere dönüştürür ve bu vektörleri knn yöntemi ile birlikte kullanarak, geniş bir veritabanındaki objelerle resimdeki objeleri eşleştirir.

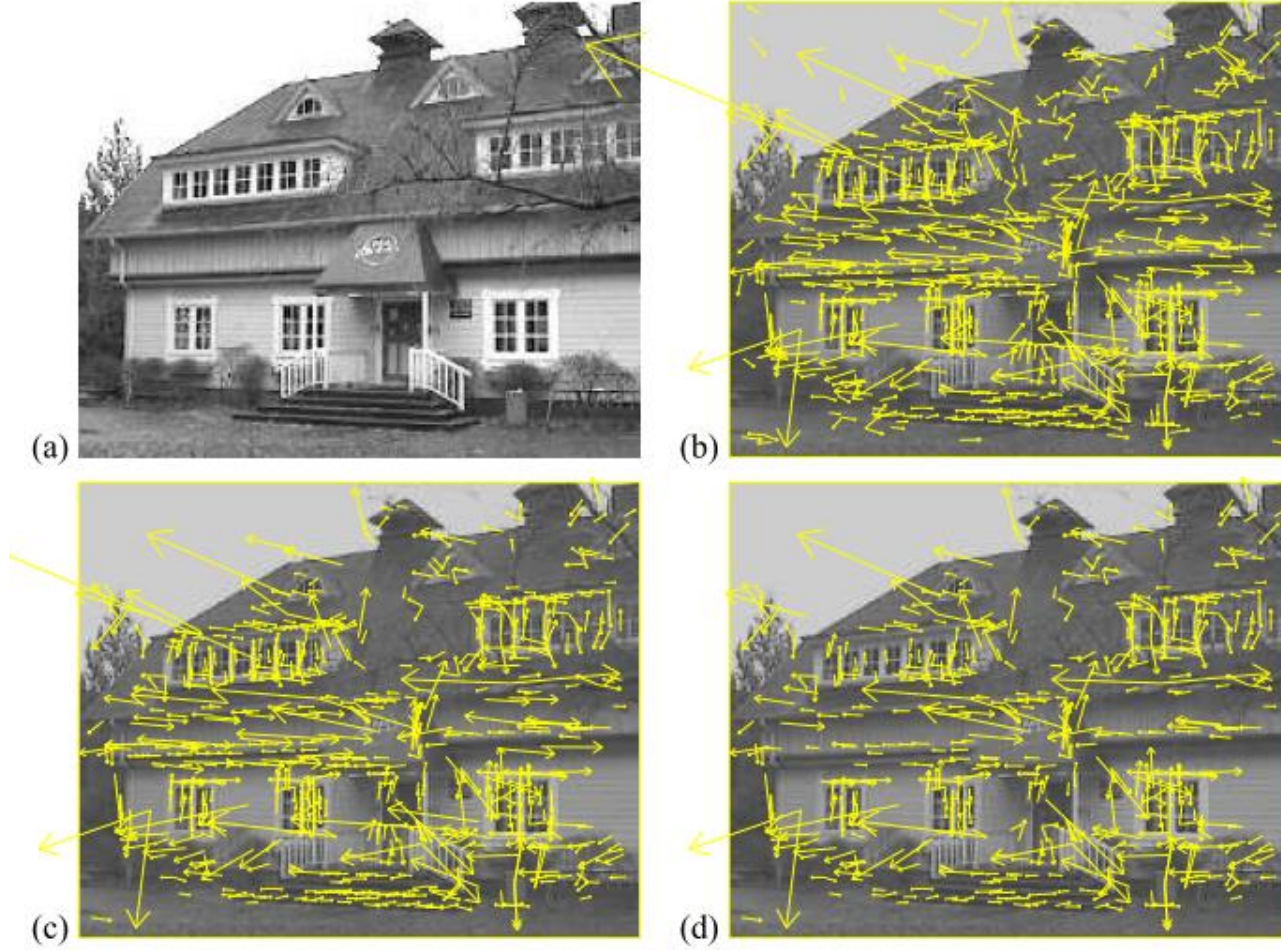


Figure 5: This figure shows the stages of keypoint selection. (a) The 233x189 pixel original image. (b) The initial 832 keypoints locations at maxima and minima of the difference-of-Gaussian function. Keypoints are displayed as vectors indicating scale, orientation, and location. (c) After applying a threshold on minimum contrast, 729 keypoints remain. (d) The final 536 keypoints that remain following an additional threshold on ratio of principal curvatures.

Algoritma 4 adımda çalışır:

Scale-space  
extrema detection



Keypoint  
localization



Orientation  
assignment



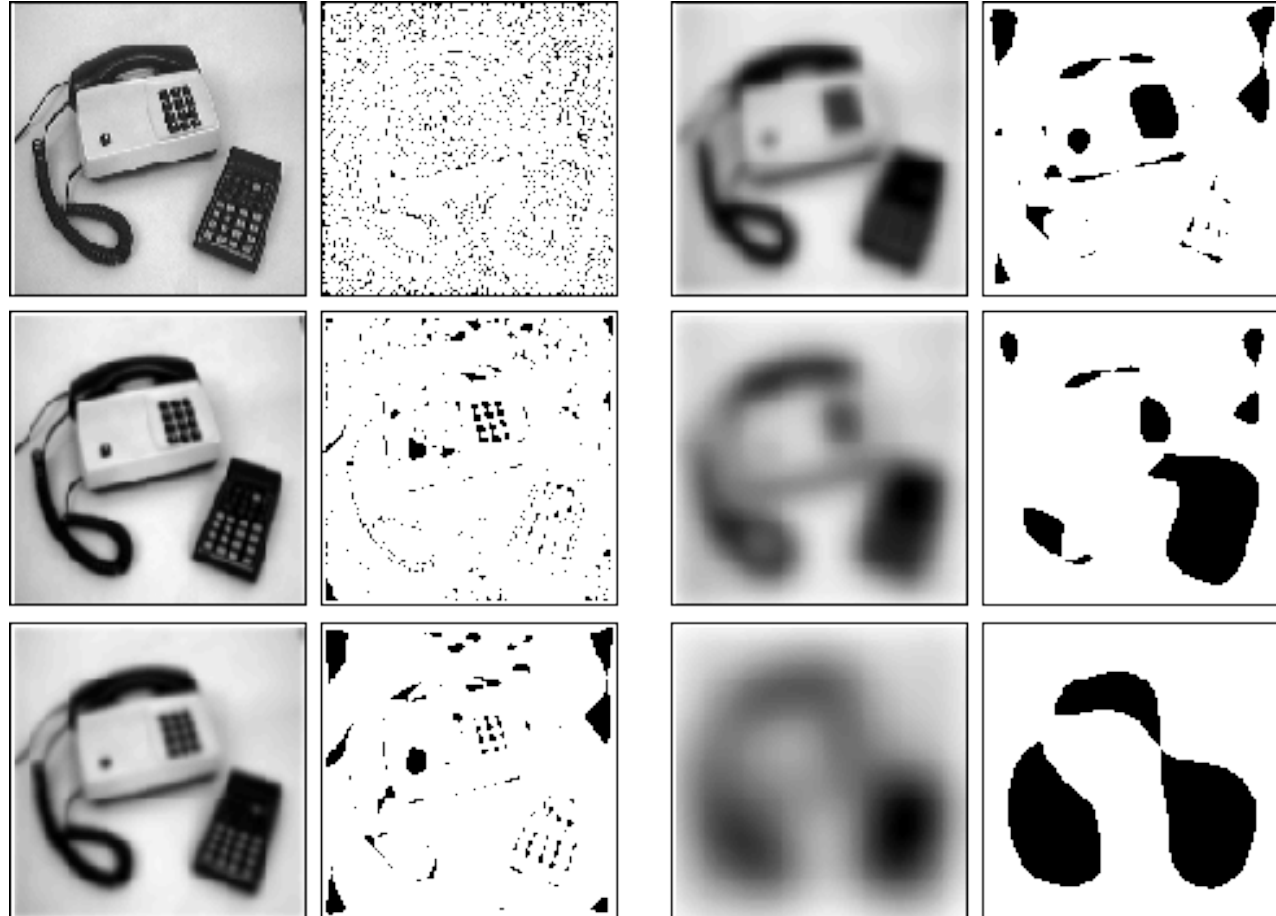
Keypoint  
descriptor



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

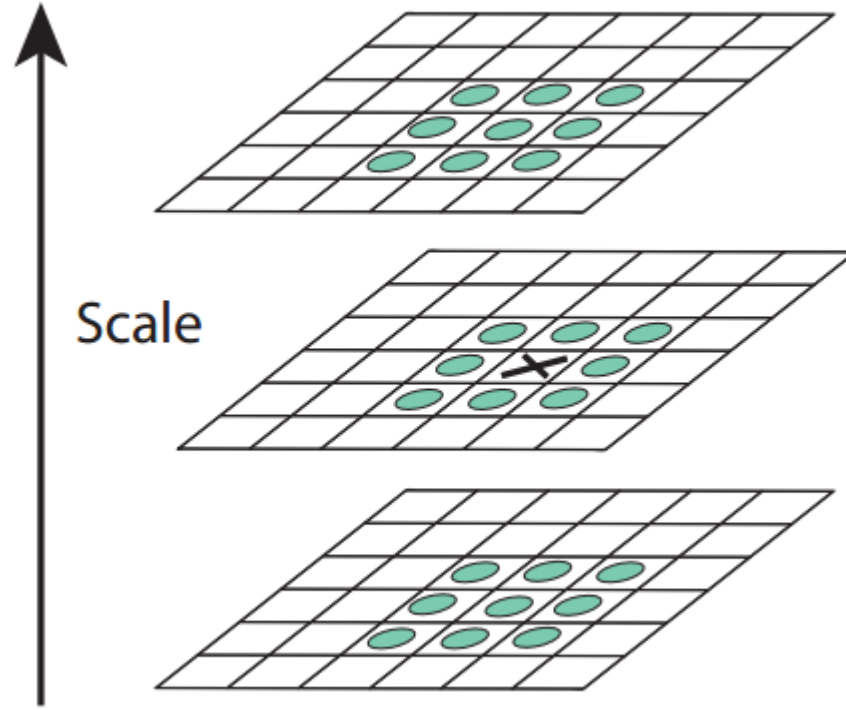
- Scale-Invariant Keypoints
  - Scale-space extrema detection: Gaussian filtresi kullanarak oluşturulan resmin farklı boyutları, görseldeki sabit noktaları bulmak için kullanılır.



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

- Scale-Invariant Keypoints
  - Keypoint localization: Görseldeki sabit noktalara lokasyon ve boyut için vektörler yerleştirilir ve stabil noktalar seçilir

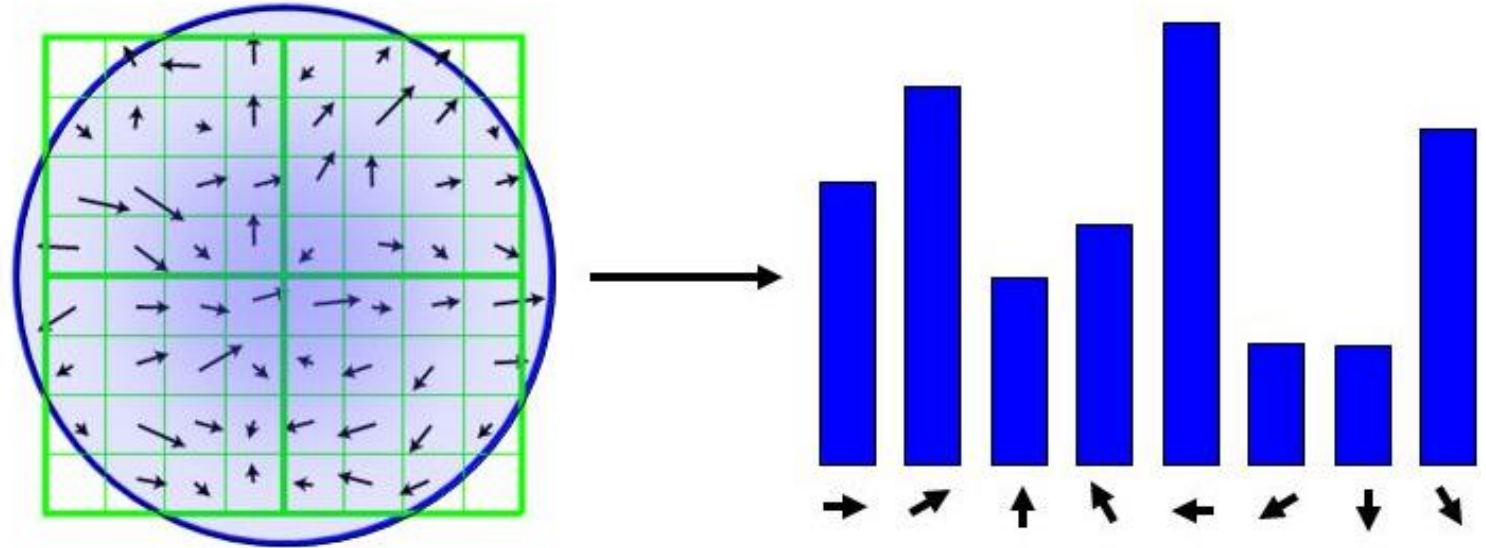


Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

- Scale-Invariant Keypoints

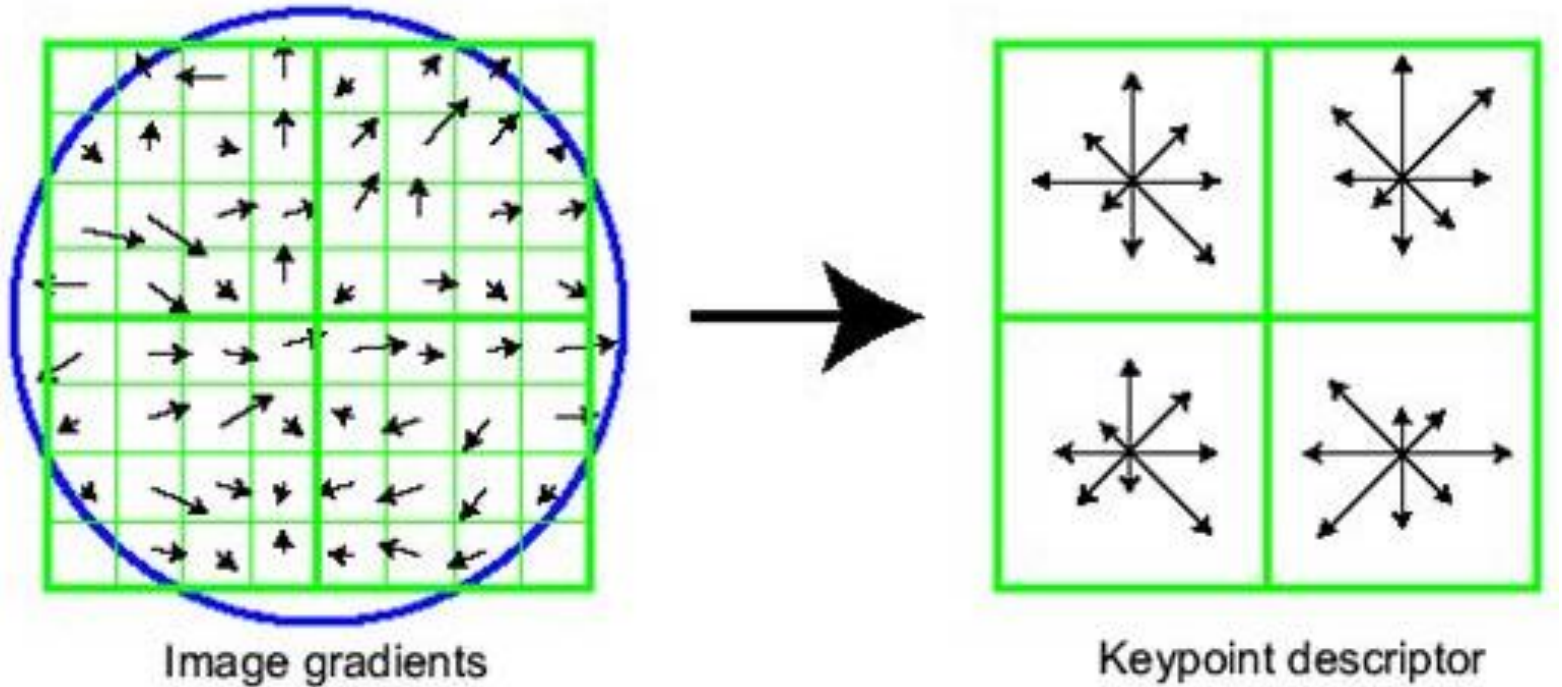
- Orientation assignment: Görseldeki bir veya birden fazla sabit noktaya, durumlarına göre yön ve konum atanır ve diğer sabit noktalara atama bu noktalara göre yapılır böylece algoritma resmin yönünden etkilenmez. Ayrıca bu adımda vektörlerin yönüne göre yerel bir histogram da oluşturulur



Başlıca Görüntü İşleme  
Algoritmaları

# Epipolar Geometri ve Nesne Tanıma Algoritmaları

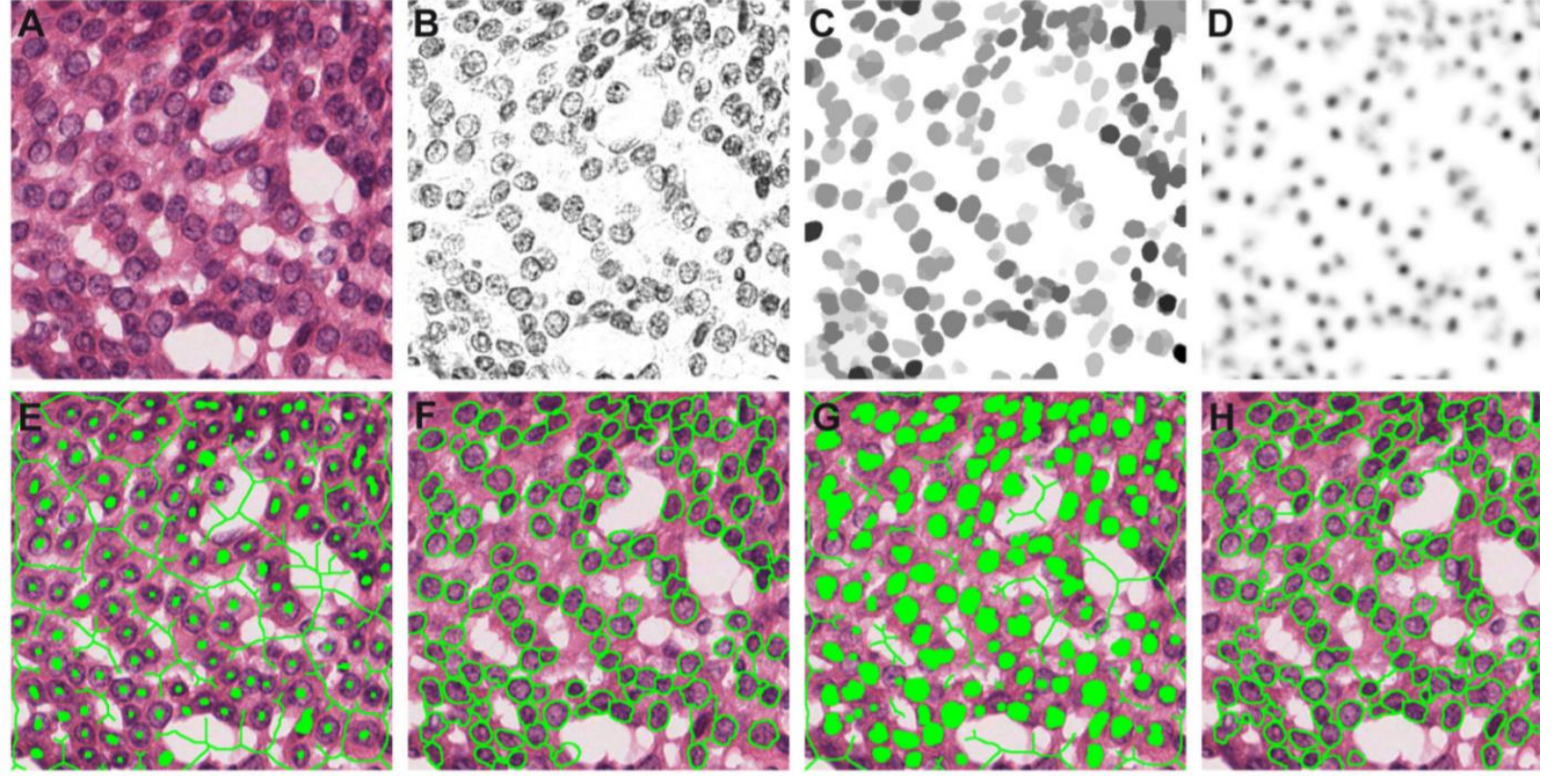
- Scale-Invariant Keypoints
  - Keypoint descriptor: Belirlenen vektörler bir önceki adımda oluşturulan histograma göre toplanır. Daha sonra oluşturulan özellik vektörleri bir veri tabanı ve knn algoritması ile eşleştirilerek obje tanımlanır





## Algoritmaların Kullanılması

Veta, Diest, Kornegoor, Huisman, Viergever, Pluim (2013) kullandığı metoda göre, önce düzleştirelen resme uygulanan fast radial transform algoritmasından elde edilen noktaları kullanarak imleç kontrollü watershed algoritması yönlendirilmiştir. Böylece dokudaki çekirdek sayımı otomatik olarak yapılabilir. Fakat bu yöntemde resmin düzleştirilmesi sırasında resme göre değişen bir katsayı alınmalıdır.



**Figure 3. Marker imposition and watershed segmentation for nuclei segmentation.** Prior to applying the FRST the image is preprocessed with color unmixing and morphological operations ( $n = 10$ ). The set of radii for the FRST is  $R = (10, 11, \dots, 20)$ . The markers and watershed ridges (given in green in the figure) were dilated by one pixel for better visualization. A) Original image. B) Hematoxylin channel. C) Pre-processed image (hematoxylin channel processed with series of morphological operations). D) Radial symmetry transform (FRST). E) FRST foreground and background markers. F) Watershed segmentation with FRST markers. G) Regional minima foreground and background markers. H) Watershed segmentation with regional minima markers.

doi: 10.1371/journal.pone.0070221.g003



# Gelecekte Olabilecekler

- Daha gelişmiş patoloji ağlarının kurulması ve telepatoloji sistemlerinin yaygınlaşması
- Hastaların bilgi güvenliğinin sağlanması
- Araştırmaların hızlandırılması için patolojik slayt simüle eden algoritmaların geliştirilmesi
- Araştırmaların hızlandırılması için anonim bir patolojik slayt veritabanı kurulması ve güvenliğinin sağlanması
- Tamamen otomatik sistemler
  - Robotik işleme üniteleri
  - Daha gelişmiş görüntüleme teknolojileri ve yeni algoritmalara duyulacak ihtiyaç

- Bu sunum bilgisayarlı patolojide kullanılan ve geliştirilmekte olan yöntemleri görüntü işlemeye ağırlık vererek inceleyerek, temel kavramların yüzeysel olarak kapsanmasını sağlamıştır. Bu sunumda bulunan bilgilere dayanılarak herhangi bir işlem yapılmadan önce verilen kaynakların incelenmesi tavsiye edilir.