

Переносной аппаратно-программный комплекс и возможности его применения в гистологических исследованиях

Ю.М. Ирьянов, Т.А. Силантьева, Е.Н. Горбач, Т.Ю. Ирьянова

A portable device-and-program complex and the possibilities of its use for histological studies

Y.M. Irianov, T.A. Silantiyeva, E.N. Gorbach, T.Y. Irianova

Государственное учреждение

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Разработан и смонтирован недорогой портативный аппаратно-программный комплекс для оцифровывания и компьютерного анализа изображений гистологических препаратов, который обладает компактными размерами и может быть смонтирован на базе любого персонального компьютера, оснащенного USB-разъемом. Описана монтажная схема и методика работы с прибором.

Ключевые слова: морфометрия, гистохимия, компьютерный анализ изображений, цифровая мини-фотокамера.

An inexpensive portable device-and-program complex was worked out and mounted for numbering and computer analysis of histological preparation images; the complex is compact and can be mounted on the basis of any personal computer, equipped with USB-joint. The mounting process is described as well as the technique of the device use.

Keywords: morphometry, histochemistry, computer analysis of images, digital mini-camera.

В современных морфологических исследованиях широко применяются методы автоматизированного компьютерного анализа [1-4]. Для ввода изображений полей зрения, получаемых при микроскопировании гистологических препаратов, в память компьютера применяют видеокамеры, цифровые фотокамеры, соединяемые с микроскопами различных конструкций при помощи специальных устройств — адаптеров. Их поставляют отечественные и зарубежные фирмы «ДИАМОПФ», «ВИДЕОТЕСТ», «Axioplan 2MOT», «Quantimet 520» и пр. как по отдельности, так и в виде аппаратно-программных комплексов. Однако их массовое приобретение связано со значительными расходами в связи с высокой стоимостью [2].

В отделе морфологических исследований РНЦ «ВТО» применяется малогабаритный переносной комплекс для оцифровывания микроскопических изображений (рис. 1). В его комплект входят: персональный компьютер, оснащенный USB-разъемом; монокулярный лабораторно-исследовательский микроскоп «Cole Parmer», модель 138; цифровая фотокамера «Mustek G Smart Mini 3».



Рис. 1. Аппаратно-программный комплекс для оцифровывания микроскопических изображений

Соединение микроскопа с фотокамерой осуществляется следующим образом. Окулярную насадку микроскопа вынимают, ослабив фиксирующий болт, переворачивают отверстием кверху и крепят к тубусу обратной стороной. В данном случае перевернутая трубка окуляра фиксирует вставленный в нее объектив фотокамеры. Соединение между ними уплотняется мягкой шайбой. При этом общее микроскопное увеличение не изменяется, поскольку линза окуляра имеет двояковыпуклую форму. Затем фотокамеру дополнительно фиксируют к

тубусу микроскопа, не закрывая рабочих кнопок и разъёма для кабеля. Для просмотра и переноса оцифрованных изображений на магнитные носители используют программное обеспечение, поставляемое фирмой-производителем с фотокамерой.

Порядок работы с оборудованием в составе комплекса:

1. Включить микроскоп и персональный компьютер.
2. Соединить компьютер и цифровую фотокамеру USB-кабелем.
3. Поместить гистологический препарат на предметный столик микроскопа.
4. Запустить программу «Атсар» для вывода изображения препарата на экран компьютера в режиме видеосъемки.
5. В меню «Options» выбрать пункт «Preview» (настройка сохраняется при последующих запусках программы).
6. Выбрать нужное поле зрения и настроить яркость и резкость изображения, отслеживая перемещение препарата на экране монитора.
7. Отсоединить кабель от цифровой камеры.
8. Включить питание фотокамеры от аккумулятора (кнопкой на панели).
9. Выбрать нужное разрешение для фото-съемки и сделать снимок.
10. Вставить USB-кабель в разъём фотокамеры.
11. Чтобы сделать следующий снимок, процедуру повторить с п. 4 по п. 10.
12. Сделав необходимое (или максимальное для заданного разрешения) количество снимков, перенести их на выбранный носитель (жесткий или гибкий диск) при помощи программы «Viewer».

Данный комплекс позволяет получать полноцветные оцифрованные изображения с расширением .jpg, объемом до 2 Мб и максимальным разрешением 2048×1536 пикселей (рис. 2). Высокое качество изображений позволяет использовать их как в качестве иллюстративного материала, так и для проведения автоматизированного морфометрического анализа.

Большинство параметров количественной оценки гистологических структур (площадь, объем, диаметр, интенсивность окрашивания) можно оценить при помощи стандартных программных продуктов – графических редакторов. В наших исследованиях мы применяем ПО «Adobe Photoshop 3.0». Возможности редактора позволяют провести предварительную подготовку изображений для анализа путем изменения их размера, оптимизации цветовых и яркостных характеристик, выделения исследуемых структур.

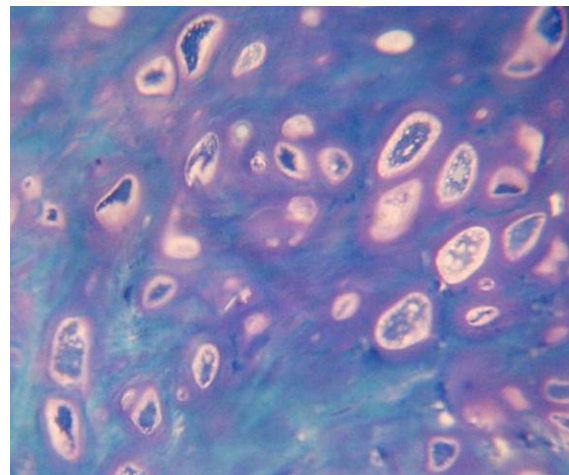


Рис. 2. Микроскопическое изображение гистологического препарата волокнистого хряща, полученное при помощи аппаратно-программного комплекса

Измерения площадей выполняют на оцифрованных изображениях гистологических препаратов. Произвольно либо с использованием известных приемов формирования выборки выделяют область интереса на исследуемом изображении. Для этого пользуются соответствующими инструментами меню («область выделения», «lasso», «перо» и т.д.) либо выделением на основе цвета в заданном диапазоне. В меню «Изображение» активируют окно «Гистограмма» и определяют количество пикселей внутри площади, занимаемой на изображении выделенным фрагментом. Диаметры исследуемых структур определяют в пикселях, используя инструмент «линейка». Если необходимо определить абсолютное значение измеряемого параметра, предварительно выполняют калибровку, отсняв объект-микрометр при том же увеличении, что и исследуемый препарат.

Для количественной оценки содержания гистохимически выявляемых соединений определяют интенсивность окрашивания препаратов (I), которую оценивают как яркость изображения в уровнях серого от 0 до 255 (канал «Серый» или «Яркость»). Таким же образом оценивают яркость фоновое окрашивание препарата (I_0). Оптическую плотность исследуемой области рассчитывают в условных единицах по формуле $D = \lg(I_0/I)$ [4, 5]. Преимуществом способа является возможность варьирования площади и формы анализируемой области, простота процедуры измерения. Кроме того, оценка интенсивности окрашивания в уровнях серого позволяет избежать ошибок, связанных с возможным искажением цветопередачи при фотосъемке.

Применение используемого нами аппаратно-программного комплекса позволяет в десятки раз снизить затраты на приобретение оборудования и программного обеспечения и получить при этом хорошее качество оцифрованных изображений гистологических препаратов. Данные гистоморфометрии, полученные при анализе

изображений в программе «Adobe Photoshop 3.0», использованы в научных публикациях сотрудников отдела [6-10]. Кроме того, комплекс

обладает компактными размерами и может быть смонтирован на базе любого ПК, оснащенного USB-разъемом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Проценко, В.Д. Автоматизированная морфометрия на базе микро-ЭВМ / В.Д. Проценко, О.П. Лапеч, А.К. Богданов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1989. - Т. ХСVI, №3. - С. 73 – 74.
2. Черток, В.М. Применение автоматизированной системы анализа изображений Allegro-МС для морфометрических исследований / В.М. Черток, А.А. Афанасьев, А.Е. Коцюба // Морфология. – 2003. – Т. 124, № 4. – С. 88 – 93.
3. Янченко, Н.В. Компьютерная графическая реконструкция ранних стадий развития почки у человека / Н.В. Янченко, С.В. Кукулин, А.С. Леонтьук // Морфология. – 2000. – Т. 117, №3. – С. 144.
4. Ташкэ, К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию / К. Ташкэ. - Бухарест, 1980. – 191 с.
5. Агроскин, Л.С. Цитотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению /Л.С. Агроскин, Г.В. Папаян. - Л.: Наука, 1977. – 294 с.
6. Горбач, Е.Н., Использование метода компьютерного анализа для оценки состояния кровоснабжения периоста диафизов большеберцовых костей в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза / Е.Н. Горбач, Е.В. Осипова // Гомеостаз и инфекционный процесс: Тез. докл. III Общеросс. конф. с междунар. участием. - Сочи, 2002. – С. 30.
7. Ирьянов, Ю.М. Гистоморфометрическая характеристика надкостницы большеберцовых костей собак на различных этапах удлинения голени методом чрескостного остеосинтеза / Ю.М. Ирьянов, Е.Н. Горбач, Н.В. Петровская // Морфология. – 2003. – Т. 124, № 5. – С. 50.
8. Способ гистоморфометрического исследования дистракционного остеогенеза на оцифрованных изображениях с использованием аппаратно-программного комплекса «Диаморф» / Т.А. Силантьева, А.М. Чиркова, С.А. Ерофеев, В.Н. Тимофеев // Современные информационные технологии в диагностических исследованиях: Сб. докл. Междунар. науч.-практ. конф. - Днепропетровск, 2002. – С. 185-189.
9. Ирьянов, Ю.М. Гистоморфометрическая оценка репаративной регенерации при заживлении переломов в ацетабулярной области без фиксации и в условиях внешней фиксации аппаратом спицестержневого типа / Ю.М. Ирьянов, Т.А. Силантьева // Морфология. – 2003. – Т. 124, № 5. – С. 50.
10. Применение компьютерных программ для анализа изображений в морфологических исследованиях / Ю.М. Ирьянов, Т.А. Силантьева, Е.Н. Горбач и др. // Информационные технологии и кибернетика на службе здравоохранения: Сб. докл. Междун. науч.-практ. конф. – Днепропетровск, 2003. – С. 55-58.

Рукопись поступила 06.08.04.