

Digitalna patologija

Plavetić, Andrija

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:206999>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-03**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Andrija Plavetić

Digitalna patologija

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Gorane Aralice i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

Kratice

ANN Artificial neural network.

CNN Convolutional neural network.

FDA Food and drug agency.

GB Gigabajt.

JPEG Joint photographic experts group.

ROI Region of interest.

TIFF Tagged image file format.

USD United States Dollar.

WHO World health organisation.

WSI Whole slide images.

Sadržaj

Sažetak	v
Summary	vi
1 Uvod	1
1.1 Zašto digitalizirati patologiju	2
2 Digitalni preparat	3
2.1 <i>Whole slide imaging</i> (WSI)	3
2.1.1 Sklopovlje (eng. <i>hardware</i>)	4
2.1.1.1 Razvoj WSI	6
2.1.2 Programska podrška (eng. <i>software</i>)	6
2.1.2.1 Kompresija i pohrana virtualnih preparata	7
2.1.2.2 Vizualizacija preparata	7
3 Strojno učenje	9
3.1 Primjeri algoritama strojnog učenja	10
3.1.1 Regresija	10
3.1.2 Klasifikacija	10
3.1.3 Nenadzirano učenje	10
3.1.4 Duboko učenje	11

4	Metode primjene algoritama strojnog učenja u patologiji	14
4.1	Detekcija, segmentacija i analiza staničnih elemenata	15
4.2	Analiza tkiva i predviđanje	16
4.3	Normalizacija bojenja, računalno bojenje i proširivanje skupa podataka	16
5	Digitalna patologija u primjeni	17
5.1	Dijagnostika i određivanje stadija bolesti	18
5.2	Edukacija	19
5.3	Telepatologija	20
5.4	Multidisciplinarni tim za tumore	21
6	Zaključak	22
	Zahvale	23
	Literatura	27
	Životopis	28

Sažetak

Digitalna patologija

Andrija Plavetić

Napredak tehnologije, pojava računala i interneta doveli su do promjene paradigme mnogih znanstvenih disciplina pa tako i patologije. Mogućnost pohrane fizičkog preparata tkiva na elektronički medij dovela je do revolucije u obradi i analizi patohistoloških preparata. Lakoća manipulacije digitalnim preparatima pridonijela je poboljšanju u postavljanju dijagnoza i traženju drugog mišljenja (konzultaciji), omogućila razvoj telepatologije te unaprijedila reevaluaciju, arhiviranje, dijeljenje i edukaciju. Također, digitalni preparat podložan je automatskoj softverskoj analizi temeljenoj na metodama strojnog učenja, grani umjetne inteligencije koja se bavi oblikovanjem algoritama koji svoju učinkovitost poboljšavaju na temelju empirijskih podataka. Takvi sustavi olakšavaju posao patologa, a potencijalno mogu i prepoznati uzorke u preparatima koje čovjek ne može uočiti. Digitalna patologija omogućila je dijeljenje preparata i konzultaciju s patolozima s drugog kraja svijeta u gotovo realnom vremenu. Uvođenjem računala i internetske mreže u slabije razvijene dijelove svijeta otvara se mogućnost dijagnostici u kojoj mogu sudjelovati stručnjaci iz udobnosti svojih domova.

Ključne riječi: digitalna patologija, strojno učenje

Summary

Digital pathology

Andrija Plavetić

Advances in technology, the advent of computers and the Internet have led to a paradigm shift in many scientific disciplines, including pathology. The ability to store a physical tissue preparation on an electronic medium has led to a revolution in processing and analysis of pathohistological slides. The ease of manipulation of virtual slides helped in improving the diagnostic process and seeking a second opinion (consultation), enabled rapid development of telepathology and simplified re-evaluation, archiving, sharing and education. Also, virtual slides are subject to automatic software analysis based on machine learning, a branch of artificial intelligence that deals with designing algorithms that improve their efficiency based on empirical data. Such systems facilitate the workflow of the pathologist, and can potentially recognize patterns in pathologic specimens that a human cannot detect. Digital pathology has made it possible to share slides online and consult with pathologists from all over the world in real time. The introduction of computers and the Internet in less developed countries opens the possibility of high quality diagnostics, which experts can participate in from the comfort of their homes.

Ključne riječi: digital pathology, machine learning

1. Uvod

Ne postoji specifičan događaj u povijesti koji bi označavao početak patologije kao paradigme koja nastanak bolesti, njezin izgled i tijek, promatra kroz promjene u tkivima i stanicama (1). Korpus znanja, stvaran kroz stoljeća, temeljen je na makroskopski vidljivim morfološkim promjenama tkiva i organa, koje su imale određenu prediktivnu vrijednost u zbrinjavanju istih, ali patologija kakvu poznajemo danas počela se strelovito razvijati u prvoj polovici devetnaestog stoljeća (1). Iako je mikroskop izumljen više od stoljeća ranije, tek je svojom povećanom dostupnošću, kvalitetnijom izradom optike i nižom cijenom početkom 19. stoljeća naglo pogurao razvoj patologije u smjeru istraživanja celularnih teorija nastanka bolesti (1). Do početka 20. stoljeća on postaje temeljni alat u radu patologa (1). Tempo istraživanja u domeni patologije rase, a broj otkrića povećava se eksponencijalno.

Nove spoznaje u znanosti omogućavaju razvoj nove tehnologije, koja zauzvrat pruža alate za još opsežnije i učinkovitije testiranje hipoteza te akumulaciju novih saznanja. Razvoj teorije informacija, računarske znanosti, digitalna revolucija i pojava interneta otvorili su velika vrata u gotovo svim znanstvenim disciplinama, omogućavajući nove, brže načine za prikupljanje i obradu prikupljenih informacija, ali i bržu komunikaciju među znanstvenicima. Dakako, to se odrazilo i na medicinske znanosti i patologiju.

1.1 Zašto digitalizirati patologiju

Digitalizacija mikroskopskih preparata znači pretvorbu slike, koja nastaje odbijanjem određenih valnih duljina svjetlosti od pojedinih elemenata preparata te podraživanjem mrežnice oka, u skup jedinica i nula koji se mogu skladištiti na digitalnim medijima. Taj prijelaz iz analognog u digitalno je ono što omogućava potpuno novi pristup patologiji te njezinu integraciju s nagorastućim digitalnim svijetom i njegovim alatima.

Digitalni snimci patohistoloških preparata mogu se koristiti za postavljanje dijagnoza, traženje drugog mišljenja (konzultaciju), telepatologiju, reevaluaciju, arhiviranje, dijeljenje, edukaciju, analizu pomoću računala i dr. (2). Stoga nije neobično da područje digitalne patologije privlači stručnjake raznih znanstvenih područja kao što su medicina, matematika, računarstvo, strojarstvo itd.

Danas, pretraga javnodostupne baze podataka PubMed (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov) na pojam "digital pathology" pronalazi preko 25,000 publikacija. Unazad nekoliko godina, broj godišnjih publikacija prešao je 1,500 i nastavlja rasti.

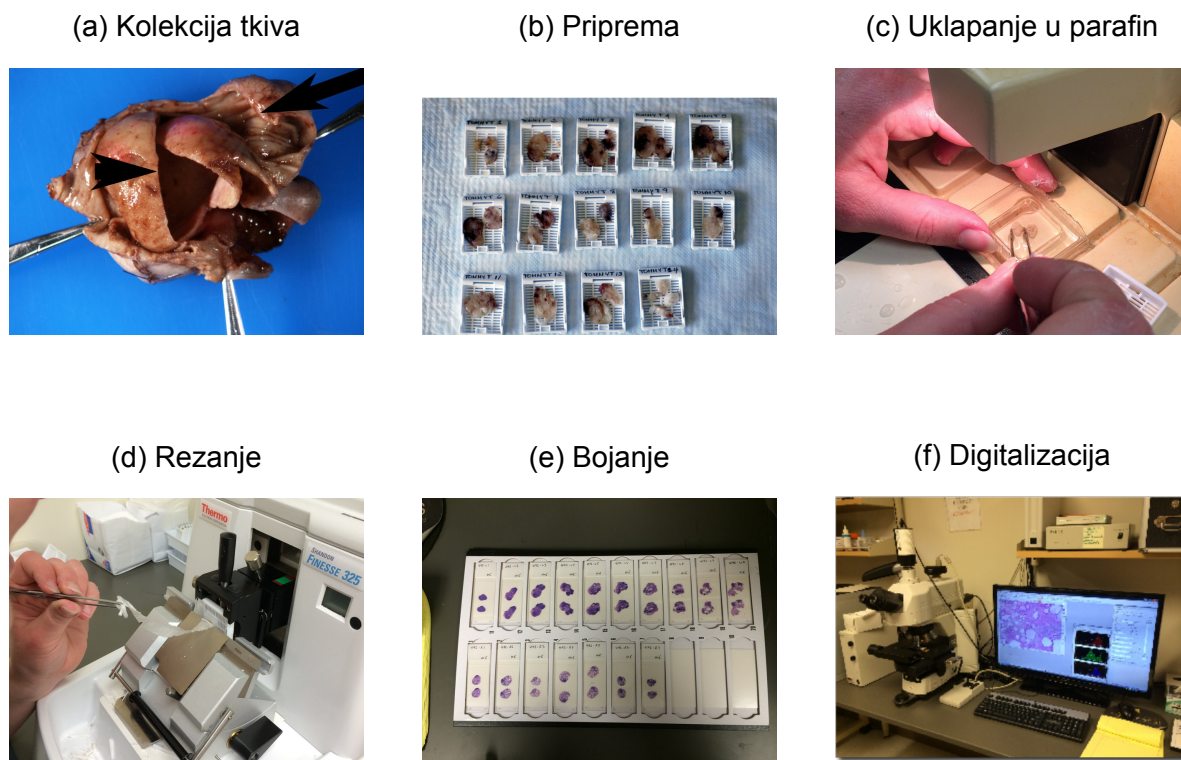
2. Digitalni preparat

Za dobivanje digitaliziranih patohistoloških preparata potrebna je sprega hardverskih i softverskih komponenti koje će, nakon primjerene pripreme i fiksacije samog preparata, isti pohraniti u digitalnom obliku. Koraci su prikazani na slici 2.1. Postupak pretvorbe fizičkog preparata u virtualni preparat, tj. sliku, složen je proces i u svakom koraku pripreme može doći do neželjenih deformacija koje rezultiraju neadekvatnom reprezentacijom stvarnog tkiva.

Najjednostavnija metoda digitalizacije, korištena prije izuma WSI tehnologije, postavljanje je obične digitalne kamere na mjesto okulara te spajanje iste s računalom. Vidno polje objektiva mikroskopa prikazano je na zaslonu monitora (4). Takve, statičke, slike bile su ograničenog kliničkog značaja jer su prikazivale samo jednu, manju regiju preparata (4). Ukoliko želimo cijeli preparat skenirati i snimiti u datoteku kojoj ćemo moći pristupiti i kad maknemo fizički preparat ispod mikroskopa, morat ćemo upotrijebiti sofisticiranije metode.

2.1 *Whole slide imaging (WSI)*

Pojmom *whole slide imaging* zamijenjen je stari naziv virtualna mikroskopija (eng. *virtual microscopy*), a obuhvaća skeniranje cjelovitih fizičkih, a menadžment i zbrinjavanje digitalnih preparata (5, 6).

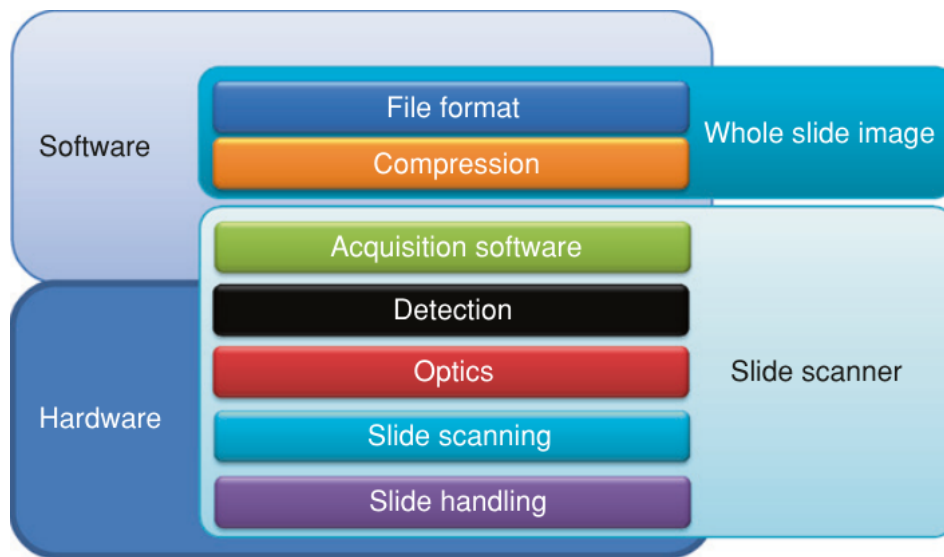


Slika 2.1: Koraci u dobivanju digitalnih preparata. Fotografije preuzete iz (3).

2.1.1 Sklopovlje (eng. *hardware*)

Uređaji za skeniranje (eng. *whole slide scanners*) su zapravo sofisticirani optički mikroskopi čijim kretanjem po preparatu upravlja robotska ruka pod nadzorom računala (8). U te mikroskope ugrađena je specijalizirana kamera s naprednim optičkim sensorima koji isporučuju sliku rezolucije 0.23-0.25 μ po pikselu uz povećanje objektiva od 40 puta (9).

U klasičnoj patologiji, uvećanje se izražava kao umnožak magnifikacije objektiva (4x, 10x, 20x, 40x) i okulara (najčešće 10x). Ovaj koncept nije primjenjiv na digitalnu patologiju, s obzirom na to da se virtualni preparati mogu prikazati na ekranima razne veličine na kojima se onda naknadno može uvećavati ili smanjivati slika (8). Rezo-



Slika 2.2: Razine obrade u digitalnoj patologiji. Preuzeto iz (7).

Lucija virtualnih preparata ovisna je o objektivu kojim je preparat sniman i digitalnom senzoru te se izražava u mikrometrima po pikselu (8).

Esencijalne komponente koje skener mora sadržavati su: 1) mikroskop, 2) izvor svjetlosti, 3) robotska ruka koja će mijenjati stakalca i objektivne te namještati fokus 4) digitalna kamera, 5) računalo, 6) programska podrška za manipulaciju prikupljenim slikama (4).



Slika 2.3: Moderni skener s integriranim mikroskopom i kamerom (10).

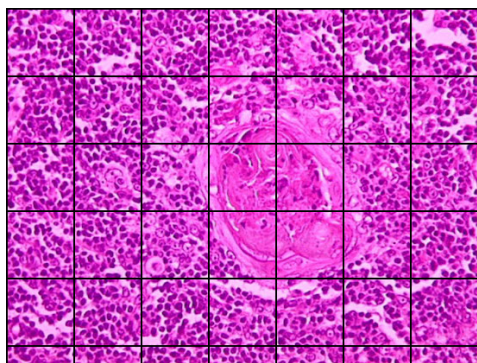
2.1.1.1 Razvoj WSI

Prvi komercijalni skener, nazvan BLISS (*Bacus Laboratories Inc., Slide Scanner*) dizajnirao je James Bacus 1994. godine, u vrijeme najintenzivnijeg širenja interneta svijetom (6, 7). Sljedećih nekoliko godina grupa *Bacus* razvijala je i patentirala metode i uređaje za provođenje automatiziranih eseja na biološkim uzorcima, mjerenje debljine tkiva, bilježenje proširenosti neoplazmi (6). Također su razvijali sustave za daljinsko upravljanje mikroskopima, kreiranje virtualnih preparata i programe za pregledavanje i razmjenjivanje istih. Zbog uspješnog postavljanja na tržištu, kupila ih je tvrtka *Olympus* 2006. godine (7). Godine 1997., Ferreira i sur. (11) kreirali su sustav koji je mogao uslikati velike dijelove preparata koristeći pomicanje stakalca preko robota kojim je koordiniralo računalo (4). Ta sprega omogućila je precizno spajanje mozaika manjih dijelova preparata u potpune virtualne preparate, no nedostatak tog ranog sustava bila je količina vremena potrebna da se skenira jedan preparat (4). Tvrtka *Interscope Technologies* proizvela je sustav sposoban za digitalizaciju čitavih preparata u razumnom vremenu i s manjom cijenom (4). Time su omogućili dolazak *whole slide scanner*-a na komercijalno tržište. Većina današnjih skenera može preparat digitalizirati u manje od 60 sekundi (4).

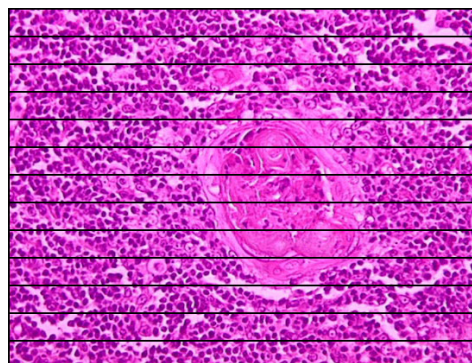
2.1.2 Programska podrška (eng. software)

S obzirom na to da preparat nije moguće obuhvatiti odjednom zbog ograničenja vidnog polja i željene rezolucije, potrebno je slikati dio po dio te ih naknadno spojiti, pritom pazeći da prijelazi budu bespriječni kako se ne bi narušila kvaliteta slike na tim dijelovima. Na slici 2.4 prikazana su 2 najčešća načina skeniranja i sklapanja dijelova u veću cjelinu (4).

(a) Skeniranje po kvadratima



(b) Skeniranje po linijama



Slika 2.4: Načini skeniranja preparata. Skeniranje po kvadratima (eng. *tile scanning*) podrazumjeva sklapanje regija slike po više rubova nego skeniranje po linijama (eng. *line scanning*) što potencijalno rezultira brojnijim deformacijama na tim mjestima. Reproducirano iz (12)

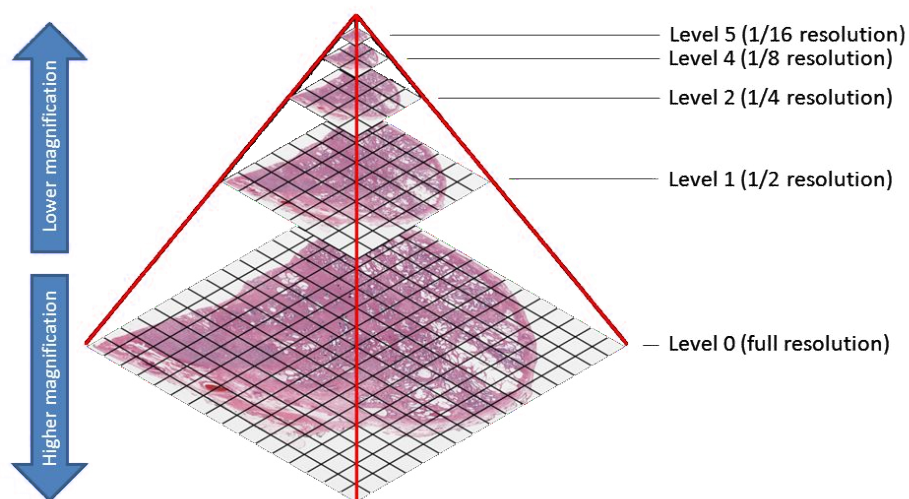
2.1.2.1 Kompresija i pohrana virtualnih preparata

Tako dobiveni virtualni preparati u svom nativnom, nekomprimiranom obliku mogu dosegnuti 5 GB memorije, što ih čini nepraktičnima za daljnju manipulaciju (4). Na svakom je proizvođaču skenera da odluči kojim algoritmom će komprimirati dobivene slike te u koji će ih format spremiti (7). Najčešće korištene metode kompresije su JPEG2000 koja uzrokuje određeni gubitak informacija (eng. *lossy compression*) i TIFF koja nema taj nedostatak (eng. *lossless compression*) (4). Uz dobro odabrane algoritme kompresije, moguće je znatno smanjiti veličinu datoteke, čak do 170 puta, a pritom očuvati dovoljnu kvalitetu za korištenje u dijagnostici (13).

2.1.2.2 Vizualizacija preparata

Bez obzira na metodu kompresije i format pohrane, većina virtualnih preparata prikazuje se na zaslonu računala prema istoj paradigmi - strukturi piramide - prikazanoj

na slici 2.5. Svrha takve organizacije skeniranih dijelova preparata je optimizacija čitanja sa medija na kojem je slika spremljena. Naime, kada želimo prikazati određeni dio preparata, računalo reducira rad i vrijeme potrebno za prikaz tako što dohvaća samo one dijelove koje trenutno imamo u vidnom polju.



Slika 2.5: Princip piramidne strukture WSI datoteke. Reproducirano iz (14)

3. Strojno učenje

Strelovit razvoj tehnologije doveo je do iznimno velikog prometa informacija i njihove pohrane. U današnje vrijeme, život većine ljudi postao je čvrsto vezan uz digitalni svijet: društveni mediji, pretraživači, komunikacije i razni drugi servisi dnevno generiraju enormnu količinu podataka. *Big data* je područje koje se bavi analizom i pronalženjem znanja u velikim skupovima podataka koji su preveliki ili prekompleksni za tradicionalan softver za obradu podataka (15).

Uzmimo za primjer neki veliki trgovački lanac koji u više stotina poslovnica diljem Hrvatske prodaje tisuće artikala milijunima kupaca. Detalji svake transakcije pohranjuju se u centralnu bazu podataka: datum, vrsta i količina kupljene robe, cijene... Na taj način, dnevno se može prikupiti nekoliko gigabajta podataka, ali te informacije postaju korisne tek nakon adekvatne obrade i analize koje nam omogućuju da napravimo neke predikcije. Kupci ne kupuju artikle nasumično već postoje neki uzorci - uz pivo često se kupuju grickalice; sladoled se češće kupuje ljeti, a začini za kuhano vino zimi. Takovih uzoraka, većinom kompleksnijih, ima mnogo, i iako ne možemo točno identificirati podliježeće procese koji ih generiraju, možemo napraviti dovoljno dobru aproksimaciju koja će nam omogućiti da grupiramo proizvode u prodavaonici tako da maksimiziramo prodaju određenih artikala. Takav zadatak, pronalaženja uzoraka u mnoštvu podataka, ulazi u domenu strojnog učenja (16).

Američki znanstvenik Tom Mitchell formalno je definirao vrstu algoritma koje proučava strojno učenje: "Kažemo da računalni program uči iz iskustva E s obzirom

na neku grupu zadataka T i mjerom uspješnosti P ako se njegove performanse na zadatku T izmjerene s P poboljšavaju iskustvom E " (17).

3.1 Primjeri algoritama strojnog učenja

3.1.1 Regresija

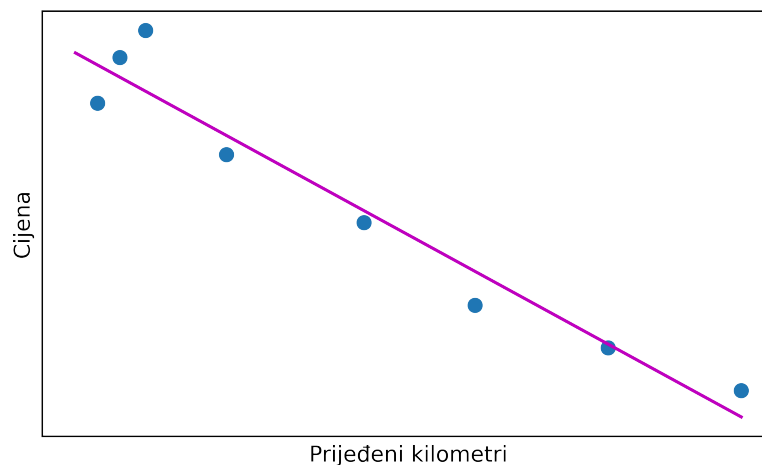
Regresijski problem je predviđanje neke kontinuirane varijable, npr. cijene auta. Ulazni podaci su primjerice proizvođač, godina proizvodnje, prijeđeni kilometri, snaga motora, a izlazni podatak je predviđena cijena automobila. Označimo li s X matricu u kojoj su vektori pojedini auti s gore navedenim atributima, a s Y cijenu auta, cilj nam je pronaći funkciju koja preslikava ulazne vrijednosti u izlazne (cijenu auta) (16).

3.1.2 Klasifikacija

U klasifikacijskim problemima cilj je neki entitet svrstati u neku kategoriju. Imamo skup podataka s prihodima i ušteđevinom neke populacije. Želimo odrediti je li neka osoba, na temelju prihoda i ušteđevine, visoko ili nisko rizična za izdaju kredita. Nakon treniranja na bazi podataka od 20 osoba za koje znamo prihod, ušteđevinu i jesu li uspješni vratiti kredit, dobivamo funkciju koja nam omogućava da za još neviđenu osobu predvidimo kreditni rejting (16).

3.1.3 Nenadzirano učenje

U nadziranom učenju (npr. regresija ili klasifikacija) cilj je pronaći funkciju koja što bolje mapira ulazne podatke (prijeđeni kilometri, prihod, ušteđevina) u izlazne podatke (cijena, kreditni rejting). Kod nenadziranog učenja dani su samo ulazni podaci u kojima treba naći pravilnosti.



Slika 3.1: Primjer jednostavnog regresijskog problema. Skupina podataka sastoji se od 8 automobila s njihovim kilometražama i cijenom. Ljubičasta linija funkcija je dobivena linearnom regresijom koja na temelju prijeđenih kilometara predviđa cijenu automobila.

Jedna metoda je grupiranje (eng. *clustering*) gdje je cilj naći agregate među ulaznim podacima. Mnoge kronične bolesti imaju genetsku etiologiju, progresiju, kliničku prezentaciju i odgovor na terapiju koji znatno variraju među oboljelima. Nenadzirani algoritmi strojnog učenja su pogodni za pronalaženje bitnih karakteristika u razvoju takvih bolesti i grupiranje pacijenata u svrhu davanja personalizirane terapije (18).

3.1.4 Duboko učenje

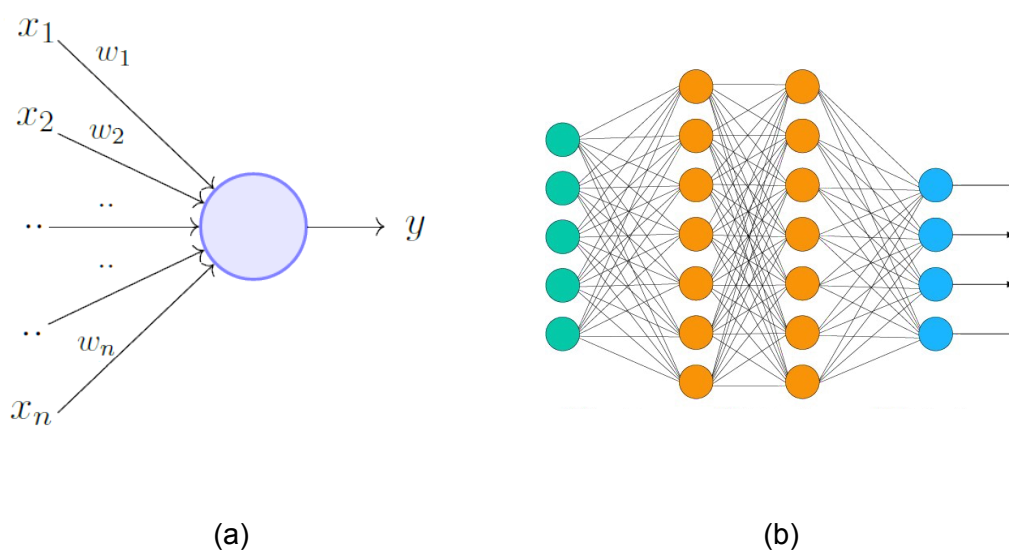
Duboko učenje skupina je algoritama unutar strojnog učenja, a karakterizira ih analogija s mehanizmom funkcioniranja neurona u mozgu pa se strukture kojima se duboko učenje bavi nazivaju neuralne mreže - ANN (eng. *Artificial neural network*).



Slika 3.2: Primjer klasifikacijskog problema. Na temelju prihoda i ušteđevina 15 osoba te njihovog poznatog kreditnog rejtinga, istrenirali smo model koji tražitelje kredita svrstava u visokorizičnu (crveno područje) ili niskorizičnu (sivo područje) skupinu. Formalna definicija modela glasila bi: AKO je prihod $> \phi_x$ I ušteđevina $> \phi_y$ ONDA niski rizik INAČE visoki rizik. Reproducirano iz (16)

ANN se zasniva na skupini međusobno povezanih čvorova koje nazivamo neuronima jer su djelomično modelirani prema neuronima ljudskog mozga. Neuron u ANN prima informacije iz više susjednih neurona, obrađuje ih te šalje sljedećim neuronima.

Algoritmi dubokog učenja, konkretno konvolucijske neuronske mreže (eng. *convolutional neural network*), metoda su izbora u analizi slika u medicini, tj. patologiji. Omogućavaju klasifikaciju slika, detekciju specifičnih elemenata, segmentaciju (20).



Slika 3.3: (a) Shema pojedinog neurona koji prima n ulaznih podataka (x_1, \dots, x_n) i daje jedan izlaz - y . (b) Shema potpuno povezane neuronske mreže s 2 skrivena sloja (narančasto). Ova mreža prima 5 ulaza (zeleno) i daje 4 izlaza (plavo). U stvarnim neuralnim mrežama nalazimo više neurona po slojevima nego što je ovdje prikazano. Reproducirano iz (19)

4. Metode primjene algoritama strojnog učenja u patologiji

Do nedavno, medicina se oslanjala uglavnom na heurističke metode stjecanja znanja kroz učenje iz iskustva (21). Porast znanja o bolestima i razumijevanje njihova tijeka povezano je s porastom dostupnih informacija i podataka, uvelike prikupljenim alatima koji nam daju kvalitativne i kvantitativne podatke fizioloških parametara (21). Takvo tlo pogodno je za primjenu strojnog učenja te kreiranja platforme koja će prikupljati informacije iz više izvora i predavati ih sustavu koji značajno pripomaže dijagnostičkom postupku (21).

Tradicionalni model dijagnosticiranja bolesti proučavanjem patohistoloških preparata smatra se zlatnim standardom, a sastoji se od patologa koji pod mikroskopom promatra specifične karakteristike tkiva, npr. atipiju jezgara ili stanica, prisutnost upalnih stanica, zastupljenost nekroze i sl (7). Taj proces ograničen je manjkom objektivnosti i reproducibilnosti, malim brojem morfoloških karakteristika tkiva koje patolog može uočiti u ograničenom vremenskom periodu i varijabilnosti koja se javlja među patolozima (7).

Strojno učenje znatno umanjuje te nedostatke, a strelovito se integrira u razna područja zdravstvene djelatnosti, od pomoći u dijagnostici i prognozi do razvoja lijekova i epidemiologije (21), a u digitalnoj patologiji, dobro trenirani modeli mogu doseći točnost dijagnoze koja se može mjeriti s točnosti kliničkih eksperata (22).

Prema Pantanowitz et al. (6), tradicionalni pristup automatiziranoj analizi WSI je ekstrakcija pojedinih značajki pomoću algoritama. Značajke mogu biti na razini piksela, objekta ili semantike. (6) Najniže na hijerarhijskoj strukturi su značajke piksela i one uključuju matematičke karakteristike boje, teksture i prostornih uzoraka. (6) Značajke objekata su hijerarhijski više i opisuju karakteristike substaničnih elemenata, npr. jezgre, jezgrice, mitoze ili kompleksnije strukture kao što su kripte, duktusi, krvne žile. (6) Semantičke značajke su pridjeljivanje bioloških klasifikacija substaničnim strukturama ili regijama preparata. (6) Te značajke opisuju koncepte kao što su vrsta stanice (npr. endotel ili epitel), prisutnost i stupanj displazije, prisutnost limfocita i nekroze. Metode dubokog učenja intenzivno utječu na digitalnu patologiju, omogućavajući identifikaciju i prepoznavanje objekta, WSI regija ili klasifikaciju cijele WSI. (6)

4.1 Detekcija, segmentacija i analiza staničnih elemenata

Važan preduvjet za dijagnosticiranje patohistoloških preparata je prepoznavanje i analiza zasebnih stanica i staničnih elemenata, npr. jezgre, mitotskih fenomena i sl. Kvantitativna analiza morfologije stanica i jezgre mjerenjem parametara kao što su veličina, oblik i tekstura daje nam objektivne pokazatelje abnormalnosti (8).

Izazovi koji se javljaju u detekciji staničnih elemenata brojni su, a uključuju deformacije stanica zbog pripreme preparata, varijabilnost u bojanju zbog različitih metoda, prirodne anatomske varijacije i sl (8).

Segmentacija je konturiranje granica određenih staničnih elemenata što omogućuje ekstrakciju specifičnih morfoloških karakteristika, a kod detekcije je cilj identificirati centar staničnog elementa, ne obazirući se na njegove granice (23).

4.2 Analiza tkiva i predviđanje

Svrha analiziranja stanica i staničnih elemenata kao što su brojanje mitozna, kvantifikacija upalnih stanica, analiza morfoloških karakteristika žljezdanih struktura je u konačnici predikcija ishoda pacijentova stanja (8). Postavlja se pitanje je li moguće zaobići te međukorake, koji unose šum i smanjuju kvalitetu podataka, i trenirati model koji će učiti dijagnostički relevantne podatke direktno iz neobrađenog virtualnog preparata (8). Različiti modeli su testirani s ishodom pacijenta kao ciljanim izlaznom vrijednošću (8). Tako trenirana neuronska mreža mogla bi otkriti skrivene uzorke u različitim oblicima iste bolesti (23).

4.3 Normalizacija bojenja, računalno bojenje i proširivanje skupa podataka

Patološki preparati se zbog različitih metoda pripreme i rukovanja različito boje istim bojilima, na što su algoritmi dubokog učenja vrlo senzitivni (8), tj. razlike u bojenju preparata utječu na to koliko točno algoritam prepoznaje zadani problem. Duboko učenje i tu je pronašlo primjenu čime se nastoje normalizirati bojenja u skupu podataka (8).

5. Digitalna patologija u primjeni

Očito je da digitalna patologija i analiza WSI poprimaju sve veću važnost u istraživanju bolesti, međutim, sve veću primjenu imaju i u kliničkoj praksi. Više radova pokazalo je usporedive rezultate tradicionalne svjetlosne mikroskopije i automatizirane analize WSI.

Jedno takvo istraživanje pokazalo je da automatizirana analiza preparata doseže točnost u prepoznavanju astrocitičnih tumora niskog stupnja (WHO stadij II) od 95%, 91% u identificiranju viših stupnjeva astrocitoma (WHO stadij III i IV) i 83% u identifikaciji intermedijarnih lezija (WHO stadij II/III) (7, 24).

Ho et al. (25) proveli su retrospektivnu studiju kontrole kvalitete kod automatiziranih WSI sistema korištenih u genitourinarnoj kirurgiji. 24 slučaja koji su uključivali 47 uzoraka tkiva i 391 preparat analizirani su tradicionalnom mikroskopijom i automatiziranim digitalnim metodama. Patolozi uključeni u studiju složili su se da je automatizirana analiza WSI dovoljno dobra za kontrolu kvalitete u kirurškoj patologiji. Najveći otežavajući čimbenici u implementaciji takvih sustava vezani su uz raspolaganje slikama, npr. upravljačko sučelje patologa, umreženost bolnice i integraciju s laboratorijskim sustavom (25).

U još nekoliko manjih studija pokazano je da su tradicionalna mikroskopija i automatizirana analiza WSI metode usporedive kvalitete za detekciju određenih stanja i bolesti (7).

5.1 Dijagnostika i određivanje stadija bolesti

Koncept personalizirane medicine velika je okretnica u onkologiji, ispitivanju lijekova, dijagnostici raka i patologiji (7). Poznato je da kemoterapija ima vrlo nisku učinkovitost, a analiza biomarkera jedan je od obećavajućih pristupa tom problemu. Naime, biomarkeri su proteini specifični za neku bolest i na temelju njihove ekspresije u pojedinog pacijenta moguće je uporabom algoritama strojnog učenja predvidjeti odgovor na određenu vrstu terapije (7).

U SAD-u je dostupan softver za automatsku analizu preparata koji kvantificira ekspresiju jezgrinih markera kao što je HER2/neu i dobio je dopuštenje od FDA za uporabu u kliničkoj praksi te ga sve više laboratorija inkorporira u svoj rad (26). Analiza jednog takvog sistema pokazala je da semiautomatizirana kvantitativna analiza HER2 receptora smanjuje varijabilnost između patologa, ali ima nepovoljan udio lažno pozitivnih rezultata (26).

Jednostavnije dijagnostičke zadatke kao što je kvantitativna analiza masnoće u jetri, koja je inače vrlo podložna subjektivnoj procjeni, softver analizira pouzdano i točno te se smatra da je vrijeme manualne dijagnostike steatoze jetre prošlo (26).

Prema Sucaet i Waelput (7), citologija bi također mogla prosperirati implementacijom digitalnih tehnologija. Naime, citološki uzorci lakše se dobivaju od onih bioptičkih i resekcijskih. Također, navodi da su citološki uzorci jedinstveni te gubitak fizičkog preparata znači potrebu za ponovnim uzorkovanjem, što bi se moglo izbjeći digitalizacijom preparata. No postoje i otegotne okolnosti specifične za digitalnu analizu citoloških preparata. Naime, oni su inherentno trodimenzionalni zbog agregiranja stanica, dok se kod pripreme bioptata uklapanjem u parafin i rezanjem dobiva preparat male i uniformne debljine (7). Ta varijabilnost u debljini citoloških preparata stvara probleme s izoštravanjem slike, bojenjem i ostalim koracima pripreme. Druga specifičnost je relativno mali broj stanica prikupljen citološkim uzorkovanjem koji je

raširen po cijelom stakalcu (7). Istrenirani patolog odmah pronalazi skupinu stanica od značaja koju treba izoštriti, dok digitalni skener pohranjuje cijeli preparat pritom ne znajući je li dio preparata na kojemu temeljimo dijagnozu adekvatno izoštren (7).

Malo je vjerojatno da će automatska analiza preparata potpuno zamijeniti mogućnosti patologa u skorije vrijeme, ali ta tehnologija mogla bi biti alat koji bi patologu pomogla u dijagnostičkom postupku (26).

5.2 Edukacija

WSI se sve više uspješno integrira kao edukacijsko sredstvo na medicinskim, stomatološkim i veterinarskim fakultetima kao i u edukaciji specijalizanata patologije, u citotehnologiji, na konzilijima i dr. (7, 27).

Prema Sucaet i Waelput (7), edukacija je područje u kojem se primjena digitalne patologije vrlo lako realizira s malo rizika, a s velikom isplativošću. Tisuće studenata godišnje prolaze kroz kolegije histologije i patologije, a za kvalitetno obrazovanje nužni su kvalitetni preparati koji nisu uvijek dostupni svima (7). Za pripremu odgovarajućih preparata potrebno je vrijeme, trud i znanje pa su količine preparata ograničene i koriste se u edukaciji mnogo generacija, čime se, vremenom, narušava njihova kvaliteta (7). Također, preparati koje studenti promatraju nisu identični što otežava učenje morfoloških značajki specifičnih za neku bolest (7).

Nasuprot tomu, digitalna kolekcija preparata iznimno je praktična za korištenje u nastavi. Preparati su dostupni svakome tko im želi pristupiti i u svakom trenutku. Ne mogu se izgubiti, slomiti niti istrošiti korištenjem, a boje i detalji će biti jednako izraženi prvi dan nakon izrade kao i za 10 godina (7). Prema Van Es et. al. (28), digitalna patologija pruža standardizaciju edukacijskih resursa za studente medicine i specijalizante patologije. Istraživanja su pokazala da studenti lakše usvajaju gradivo histopatologije i citopatologije učeći u interaktivnim okruženjima koristeći WSI (28).

U *New York College of Podiatric Medicine* se na kolegiju patologije koriste digitalni preparati kao primarno edukacijsko sredstvo (7). Elementi digitalne patologije koji čine nastavu su 1) laboratorij u kojem se održavaju vježbe; 2) učionica s računalima za studente; 3) specijalizirani softver za prikaz digitalnih preparata; 4) dodatni softver koji studentima omogućava preuzimanje i uređivanje preparata; 5) web-stranica prilagođena kolegiju koja omogućava studentima lakšu komunikaciju i raspravu o preparatima (7).

Van Es et. al. (28) pokazali su da *online* nastava, koristeći WSI, daje jednake rezultate u edukaciji anatomskih patologa kao klasična metoda koja koristi udžbenik i fizičke preparate na stakalcima. Kod dijagnosticiranja preparata dobivenih aspiracijom, studenti koji su u edukaciji koristili WSI imali su bolje rezultate nego ostali studenti (28).

5.3 Telepatologija

Prednosti digitalne patologije u telemedicini su poboljšanje kvalitete medicinske usluge, omogućavanje kvalitetnije specijalizacije, ušteda novca i vremena te poticanje razmjene znanja (7). Prema Sucaet i Waelput (7), slanje jednog fizičkog preparata na konzultaciju u neki drugu ustanovu u Americi ili Europi prosječno košta oko 250 USD, što njihovu ustanovu godišnje košta oko 37,500 USD. Uvođenjem digitalnog sustava cijena drastično pada, a efikasnost raste (7).

Digitalna patologija omogućava stvaranje globalne mreže patologa za kliničku evaluaciju preparata, edukaciju i istraživanje (7). Također, moguće je i asinkrono pregledavanje i evaluacija preparata što znači da svaki patolog može neovisno o drugima analizirati i komentirati preparat (7).

Prema Griffin i Treanor (26), u Skandinaviji i Kanadi, gdje su neke populacije pacijenata rasprostranjene na velikom području, digitalna patologija vrlo je prevalentna u

praksi. Telepatološka mreža u istočnom Quebecu (eng. *Eastern Quebec Telepathology Network*) najdokumentiraniji je primjer kako digitalna patologija poboljšava kvalitetu zdravstvene zaštite u dispergiranoj populaciji (26). Osiguravši makroskopski nadzor na daljinu, intraoperacijske konzultacije i stručna mišljenja, mreža je smanjila opterećenje lokalnih, rijetkih, patologa (26).

5.4 Multidisciplinarni tim za tumore

Liječenje pojedinih vrsta tumora zahtijeva suradnju više liječnika različitih specijalnosti kako bi se terapija što bolje prilagodila pacijentu. Obično to uključuje patologe, onkologe, interniste koji analiziraju komorbiditete pacijenta u kontekstu liječenja tumorske bolesti, kirurge, radiologe i dr. (7). U jeku personalizirane medicine sve veću ulogu u liječenju karcinoma imaju biomarkeri i genska terapija, što se uvelike oslanja na histopatološku analizu u donošenju odluka o terapiji (7).

Do nedavno konzilij se morao sastati uživo, no telekonferencijski sustavi, kao što je Skype, omogućili su sastanke osoba na udaljenim krajevima svijeta (7). Uz programsku podršku koja omogućava prikazivanje digitalnih preparata svim sudionicima istovremeno, otvaraju se mogućnosti za suradnju između odjela, bolnica ili država u stvarnom vremenu (7).

6. Zaključak

Digitalizacija preparata velik je korak u napretku patologije koji omogućava primjenu novih tehnologija u svrhu dijagnostike, edukacije, komunikacije između patologa i dr. Iako je najveći cilj digitalne patologije, automatsko postavljanje primarne dijagnoze, još nedostignut, napor uložen u njegovo postizanje itekako je pridonio raznim aspektima patologije. Razvijeni su sustavi koji uvelike olakšavaju i unaprjeđuju posao patologa, omogućavajući im postavljanje kvalitetnijih i točnijih dijagnoza. Osim toga, velik napredak digitalna patologija donijela je i edukaciji. Puno kvalitetnija i konzistentnija nastava na medicinskim i srodnim fakultetima omogućena je dijeljenjem kvalitetno prikupljenih, pripremljenih i obrađenih patohistoloških preparata. Time se gubi ovisnost kvalitete edukacije o geografskoj poziciji, vremenu i ekonomskim prilikama. No, kao i sa većinom novih tehnologija, do primjene u praksi mora proći određeno vrijeme. Trenutno, digitalne preparate u nastavi koristi tek mali broj fakulteta, no dolaskom mladog kadra, odraslog u digitalnom dobu, taj će modalitet nastave biti sve zastupljeniji.

Zahvale

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Gorani Aralici na ukazanim prilikama i otvorenim vratima. Obitelji i prijateljima zahvaljujem na podršci tijekom studija te svoja 4 rođaka za dugogodišnju potporu.

Literatura

1. van den Tweel JG, Taylor CR. A brief history of pathology: Preface to a forthcoming series that highlights milestones in the evolution of pathology as a discipline. *Virchows Arch.* 2010 Jul;457(1):3–10.
2. Pantanowitz L. Digital images and the future of digital pathology. *J Pathol Inform.* 2010;1.
3. McCann MT, Ozolek JA, Castro CA, Parvin B, Kovacevic J. Automated Histology Analysis: Opportunities for signal processing. *IEEE Signal Processing Magazine.* 2015;32:78–87.
4. Pantanowitz L, Farahani N, Parwani A. Whole slide imaging in pathology: Advantage, limitations, and emerging perspectives. *Pathology and Laboratory Medicine International.* 2015 06;2015.
5. Felten CL, Strauss J, Okada DR, Marchevsky AM. Virtual microscopy: high resolution digital photomicrography as a tool for light microscopy simulation. *Hum Pathol.* 1999;30 4:477–83.
6. Pantanowitz L, Sharma A, Carter AB, Kurç TM, Sussman A, Saltz JH. Twenty Years of Digital Pathology: An Overview of the Road Travelled, What is on the Horizon, and the Emergence of Vendor-Neutral Archives. *J Pathol Inform.* 2018;9.
7. Sucaet Y, Waelput W. *Digital Pathology.* Springer International Publishing; 2014.

8. BenTaieb A, Hamarneh G. Deep Learning Models for Digital Pathology. [Preprint]; 2019. [Dostupno na:] <https://arxiv.org/abs/1910.12329>.
9. Barisoni LMC, Gimpel C, Kain R, Laurinavicius A, Bueno G, Zeng C, et al. Digital pathology imaging as a novel platform for standardization and globalization of quantitative nephropathology. *Clin Kidney J.* 2017;10:176 – 187.
10. Leica Camera AG. Aperio CS2 - Digital Pathology Slide Scanner: Leica Biosystems; 2020. [Pristupljeno 28.5.2020.]. Dostupno na: https://drp8p5tqcb2p5.cloudfront.net/typo3temp/_processed_/csm_Aperio-CS2_logo_monitor_web-optimized_02_49d3642381.jpg.
11. Ferreira R, Moon B, Humphries J, Sussman A, Saltz J, Miller R, et al. The Virtual Microscope. *Proc AMIA Symp.* 1997;p. 449–453.
12. Kovach A, Mizisin A, Miyai K. Ljudski timus - odrasli; 2002. [Pristupljeno 06.06.2020.]. Dostupno na: https://meded.ucsd.edu/hist-img-bank/chapter_4/Slide_67_thymus_adult/images/c.4.67.1.3.jpg.
13. Helin H, Tolonen T, Ylinen O, Tolonen P, Näpänkangas J, Isola J. Optimized JPEG 2000 Compression for Efficient Storage of Histopathological Whole-Slide Images. *J Pathol Inform.* 2018 May;9:20.
14. Cornish TC. Selection and Implementation of a Digital Pathology System; 2016. [Pristupljeno 17.06.2020.]. Dostupno na: <https://slideplayer.com/slide/11404136/>.
15. Wikipedia contributors. Big data — Wikipedia, The Free Encyclopedia; 2020. [Pristupljeno 18.6.2020.]. Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Big_data.
16. Alpaydin E. Introduction to Machine Learning. 2nd ed. The MIT Press; 2010.

17. Mitchell TM. Machine Learning. New York: McGraw-Hill; 1997.
18. Lopez C, Tucker S, Salameh T, Tucker C. An unsupervised machine learning method for discovering patient clusters based on genetic signatures. *J Biomed Inform.* 2018 Sep;85:30–39.
19. Chandra AL. Perceptron Model; 2018. [Pristupljeno 21.06.2020.]. Dostupno na: <https://towardsdatascience.com/perceptron-the-artificial-neuron-4d8c70d5cc8d>.
20. Litjens G, Kooi T, Bejnordi BE, Setio AAA, Ciompi F, Ghafoorian M, et al. A survey on deep learning in medical image analysis. *Med Image Anal.* 2017 Dec;42:60–88.
21. Nature Materials Editorial. Ascent of machine learning in medicine. *Nat Mater.* 2019 Apr;18(5):407–407.
22. Bejnordi BE, Veta M, van Diest PJ, van Ginneken B, Karssemeijer N, Litjens G, et al. Diagnostic Assessment of Deep Learning Algorithms for Detection of Lymph Node Metastases in Women With Breast Cancer. *JAMA.* 2017 Dec;318(22):2199.
23. Janowczyk A, Madabhushi A. Deep learning for digital pathology image analysis: A comprehensive tutorial with selected use cases. *J Pathol Inform.* 2016;7(1):29.
24. Glotsos D, Tohka J, Ravazoula P, Cavouras D, Nikiforidis G. Automated diagnosis of brain tumours astrocytomas using probabilistic neural network clustering and support vector machines. *Int J Neural Syst.* 2005 Feb;15(01n02):1–11.
25. Ho J, Parwani AV, Jukic DM, Yagi Y, Anthony L, Gilbertson JR. Use of whole slide imaging in surgical pathology quality assurance: design and pilot validation studies. *Hum Pathol.* 2006 Mar;37(3):322–331.

26. Griffin J, Treanor D. Digital pathology in clinical use: where are we now and what is holding us back? *Histopathology*. 2016 Dec;70(1):134–145.
27. Huisman A. Digital pathology for education. *Stud Health Technol Inform*. 2012 08;179:68–71.
28. Es SLV, Kumar RK, Pryor WM, Salisbury EL, Velan GM. Cytopathology whole slide images and adaptive tutorials for postgraduate pathology trainees: a randomized crossover trial. *Human Pathology*. 2015 Sep;46(9):1297–1305. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2015.05.009>.

Životopis

Andrija Plavetić rođen je 3. studenog 1995. godine u Karlovcu. Srednjoškolsko obrazovanje stekao je u Gimnaziji Karlovac maturiravši 2014. godine, a također je završio i srednju glazbenu školu. Po završetku gimnazije upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu te se nastavlja amaterski baviti glazbom pjevajući u Akademskom zboru Ivan Goran Kovačić i zboru Zagrebački liječnici pjevači.