

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

 Д.Л. Пиневиц



2018 г.

Регистрационный № 139-1118

**МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА И АДЕНОКАРЦИНОМЫ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ ЭКСПЕРТНОЙ
СИСТЕМЫ**

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и
медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ:

Курклинская Г.А., к.м.н. Ерохина О.А., Гапанович Е.А..

Минск, 2018

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц
30.11.2018
Регистрационный № 139-1118

**МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА И АДЕНОКАРЦИНОМЫ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ
ЭКСПЕРТНОЙ СИСТЕМЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Белорусский государственный медицинский университет», ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова»

АВТОРЫ: Г. А. Курклинская, канд. мед. наук О. А. Ерохина, Е. А. Гапанович

Минск 2018

Сложности дифференциальной цитологической диагностики поражения поджелудочной железы обусловлены совпадением основных дифференциально-диагностических признаков атипии в клеточных элементах при высокодифференцированном раке и хроническом панкреатите, что затрудняет аналитическую оценку врачом-цитологом микроскопического изучения цитограмм. Дооперационное установление характера опухолевого процесса образований поджелудочной железы важно для определения тактики лечения пациента и выбора объема хирургического вмешательства.

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод дифференциальной диагностики наиболее часто встречаемой патологии поджелудочной железы (протоковая аденокарцинома и хронический панкреатит) с помощью экспертной системы на базе совокупности количественных параметров агрегатов эпителия. Предлагаемый в инструкции метод может быть включен в комплекс медицинских услуг, направленных на повышение эффективности диагностики данных заболеваний и предназначен для врачей лабораторной диагностики цитологических лабораторий, врачей-патологоанатомов, врачей-онкологов и иных врачей-специалистов, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим заболеваниями поджелудочной железы.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Для цитологических исследований необходим компьютерный анализатор цветных изображений на базе светового микроскопа, цифровой фотокамеры и персонального компьютера, а также соответствующее программное обеспечение.

Изготовление цитологических препаратов

Забор аспирационного материала с помощью тонкоигольной аспирации из очага поражения под контролем ультразвукового исследования и приготовление цитологических препаратов осуществляют по общепринятым методикам.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Уточняющая морфологическая диагностика патологических изменений протоковых клеток эпителия поджелудочной железы в процессе цитологического исследования аспирационного материала опухоли.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

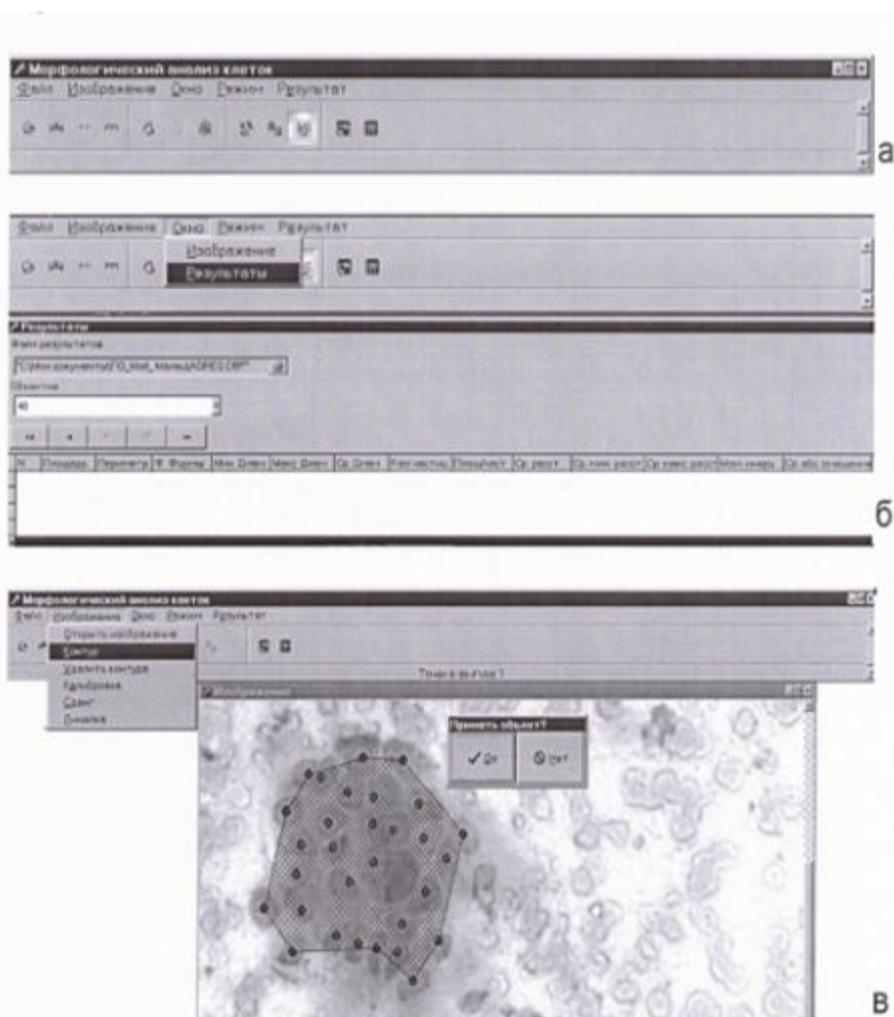
Сбор изображений

При помощи светового микроскопа исследуются цитологические препараты аспирационного материала опухолевого образования поджелудочной железы. В процессе микроскопии отбирают поля зрения, содержащие сохраненные агрегаты протокового эпителия, подлежащего дифференциальной диагностике, и проводят съемку с объективом x40. Для каждого исследуемого случая число изображений

агрегатов должно достигать не менее 80. Файлы с изображениями сохраняют в соответствующей папке в стандартном графическом расширении, например, JPG.

Морфометрия агрегатов эпителия

Для морфометрии агрегатов эпителиоцитов и создания исходной базы данных используется программное обеспечение MORF. При запуске программы открывается окно, содержащее главное меню (рисунок 1а). Пользователь настраивает программу на измерение параметров агрегатов, активизируя пункты меню в следующей последовательности: «Режим», во всплывающем списке выбирает позицию «Агрегаты»; «Результат», в открывающемся списке выбирает позицию «Объектив» x40, соответствующий объективу при съемке изображений; «Окно», во всплывающем списке выбирает позицию «Результаты». В итоге открывается окно «Результаты» и автоматически генерируется файл в формате DBF для записи результатов изменений (рисунок 1 б).



а — меню программы; б — окно «Результаты»; в — окно «Изображение»

Рисунок 1. — Интерфейс программы MORF

Далее пользователь активизирует процесс измерения параметров агрегатов: выбирает пункт меню «Изображение», во всплывающем списке позицию «Открыть

изображение», в открывшемся окне открывает необходимый графический файл с микрофото агрегатов. Открывается окно «Изображение» с отображением соответствующего микрофото. Затем в этом же всплывающем списке пользователь выбирает позицию «Контур» и левой кнопкой мыши наносит условный центр тяжести всех клеток в агрегате, нажимает правую кнопку мыши, после чего программа автоматически обрисовывает контур агрегата. Появляется всплывающее диалоговое окно «Принять объект?» (рисунок 1в). После ответа «Да» программа автоматически производит вычисления 13 количественных параметров, характеризующих размеры (площадь агрегата — AREA; периметр агрегата — PERIM; фактор формы — SF; минимальный — MIND, максимальный — MAXD и средний — MIDD диаметр агрегата) и структуру агрегатов (количество клеток в агрегате — NUMPT; средняя площадь, приходящаяся на одну клетку в агрегате — AREAPT; среднее — AVDIST, минимальное — AVMINDIST и максимальное — AVMAXDIST расстояние между клетками в агрегате; момент инерции — MOMENT (усредненная сумма квадратов расстояний от центра тяжести агрегата до каждой клетки); отклонение координаты — COORDDISP (усредненная сумма абсолютных значений расстояния от центра тяжести агрегата до каждой клетки)). Если пользователь считает, что центр тяжести клеток нанесен не точно, он может отказаться от выполненных действий, ответив «Нет» на вопрос «Принять объект?», и заново произвести измерения. Подобным образом выполняется морфометрия всех агрегатов случая, результаты автоматически вносятся в файл DBF, где в столбцах — значения морфометрических показателей, в строке — соответствующий агрегат. В каждом индивидуальном случае общий размер выборки должен составлять не менее 80 агрегатов.

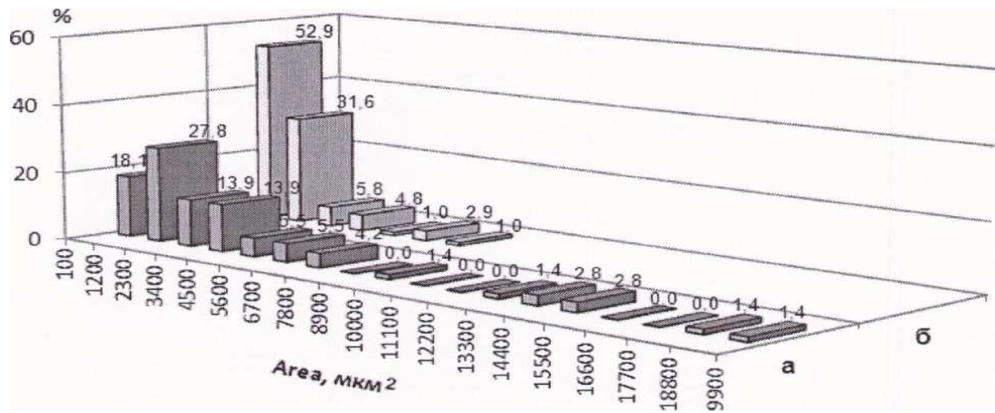
Таким образом, исходными данными для анализа являются цветные изображения агрегатов эпителиоцитов, а итогом работы компьютерной программы — база морфометрических данных.

Математическое преобразование исходной базы морфометрических данных

Преобразование исходной базы морфометрических данных в информативные количественные параметры производят путем оценки среднего, дисперсии, построения гистограмм и регрессионного анализа.

1. *Оценка среднего и дисперсии.* Исходную базу морфометрических данных открывают с помощью программы «Microsoft Excel», и производя статистическую обработку по стандартным формулам, рассчитывают средние значения и дисперсию параметров. Для установления диагноза необходимы средние значения MAXD, AVDIST и COORDDISP и дисперсия AREA и MOMENT.

2. *Построение гистограмм.* В программе «Microsoft Excel» строят гистограммы распределения по двум параметрам базы данных — AVDIST и AREA (рисунок 2). При этом гистограммы распределения расстояния между центрами тяжести клеток строят с шагом 20 мкм и находят отношение доли агрегатов во втором классе (30–50 мкм) к доле в первом классе (10–30 мкм) F_{II}/F_I . Гистограммы распределения площади строят с шагом 1100 мкм² и определяют отношение доли агрегатов во втором классе (1200–1300 мкм²) к доле в первом классе (100–1200 мкм²) F_{II}/F_I .



а — аденокарцинома; б — хронический панкреатит

Рисунок 2. — Типичный вид гистограмм площади агрегатов эпителиоцитов

3. *Регрессионный анализ.* С использованием программы «Statistica» строят диаграмму рассеяния зависимости периметра (PERIM) от площади агрегатов (AREA) (рисунок 3).

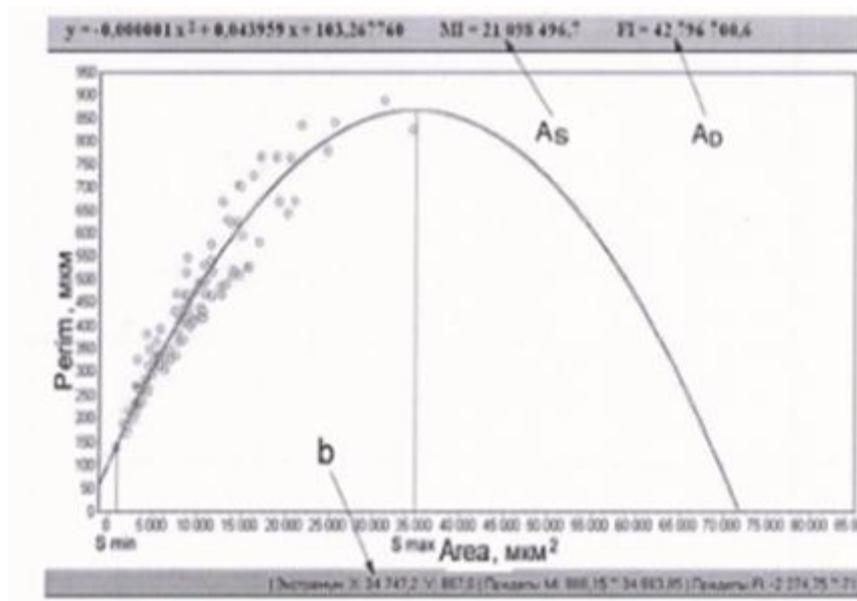


Рисунок 3. — Типичный вид регрессионной кривой второго порядка к скоплению экспериментальных точек на диаграммах рассеяния зависимости периметра от площади агрегатов эпителиоцитов

Программа описывает скопление экспериментальных точек регрессионной кривой второго порядка, представляющей собой параболу, обращенную вершиной вверх, и определяет ее уравнение, площадь A_s под отрезком параболы и площадь A_d под куполом параболы. Для установления диагноза необходимо взять линейный коэффициент b уравнения, площадь A_s и площадь A_d , значения которых указаны стрелками на рисунке 3.

Установление диагноза

Дифференциальная диагностика аденокарциномы и хронического панкреатита осуществляется с помощью экспертной системы на базе совокупности количественных параметров. Система содержит (рисунок 4): 1 столбец — перечень количественных параметров экспертной системы; 2 столбца эталонной S-матрицы — весовой коэффициент и пороговое значение параметра, заполненные неизменными значениями, рассчитанными по наблюдениям исследовательской группы; 1 столбец исследовательской X-матрицы, который предстоит заполнить пользователю в процессе уточняющей диагностики; 1 столбец — для расчета диагностического индекса D.

Для верификации диагноза количественные параметры агрегатов эпителия исследуемого препарата, полученные после математического преобразования исходной базы морфометрических данных, заносят в столбец X-матрицы (рисунок 5). Затем значения параметров в X-матрице сравнивают с соответствующими пороговыми значениями S-матрицы. Если значение не соответствует табличному — в соответствующую строку столбца D проставляют «0», если соответствует — значение весового коэффициента S-матрицы. Затем значения всех весовых коэффициентов искомого случая в столбце D суммируют и результат, который является диагностическим индексом, вписывают в поле D.

Таким образом, величина диагностического индекса позволяет установить цитологический диагноз патологического процесса в поджелудочной железе. При попадании величины D исследуемого препарата в интервал 54,35–100 % диагностируют аденокарциному, 0–21,74 % — хронический панкреатит. Пример заполненной формы экспертной системы приведен на рисунке 5.

В части случаев в процессе установления диагноза с помощью экспертной системы величина диагностического индекса исследуемого образца может попасть в зону неопределенности, находящуюся в диапазоне 21,75–54,34 %, что не позволяет определить характер заболевания. В этом случае повторно берут аспирационный материал с последующим морфометрическим анализом агрегатов протокового эпителия поджелудочной железы и верификацией диагноза с помощью данного метода. Если результат повторно неопределенный — выполняется гистологическое исследование.

Количественный параметр	S-матрица		X-матрица Значение параметра исследуемого образца	D =
	Весовой коэффициент k, %	Пороговое значение параметра		
Дисперсия площади $\sigma^2_{\text{ПЛОЩАД.}} \text{ мкм}^4$	8,70	$>18,573 \times 10^6$		=
Дисперсия момента инерции $\sigma^2_{\text{МОМЕНТ.}} \text{ мкм}^4$	8,15	$>1,277 \times 10^6$		+
Средний диаметр MAXD, мкм	10,87	$\geq 105,9$		+
Среднее расстояние между клетками в агрегате AVDIST, мкм	10,87	$\geq 38,578$		+
Среднее отклонение координаты COORDISP, мкм	10,87	$\geq 4,512$		+
Отношение частот на гистограмме площади F_S/F_{S-1}	10,87	>1		+
Отношение частот на гистограмме расстояния между клетками в агрегате F_L/F_{L-1}	10,87	>1		+
Регрессионный анализ - коэффициент b	9,78	$>20,276 \times 10^3$		+
Регрессионный анализ - площадь Λ_S , усл. ед.	9,24	$>10,507 \times 10^6$		+
Регрессионный анализ - площадь Λ_D , усл. ед.	9,78	$>18,895 \times 10^4$		+

$D \geq 54,35$ — аденокарцинома; $D \leq 21,74$ — хронический панкреатит

Рисунок 4. — Экспертная система, состоящая из двумерной эталонной S-матрицы и одномерной исследовательской X-матрицы, которую следует заполнить пользователю

Количественный параметр	S-матрица		X-матрица	D = 82,06%
	Весовой коэффициент k_i , %	Пороговое значение параметра	Значение параметра исследуемого образца	
Дисперсия площади - σ^2_{AREA} , мкм ²	8,70	$>18,573 \times 10^6$	$15,468 \times 10^6$	0,0
Дисперсия момента инерции σ^2_{MOMENT} , мкм ⁴	8,15	$>1,277 \times 10^6$	$1,320 \times 10^6$	8,15
Максимальный диаметр - MAXD, мкм	10,87	$\geq 105,9$	124,932	10,87
Среднее расстояние между клетками в агрегате - AVDIST, мкм	10,87	$\geq 38,578$	41,782	10,87
Отклонение координаты - COORDDISP, мкм	10,87	$\geq 4,512$	5,076	10,87
Отношение частот на гистограмме площади F_S/F_{S-1}	10,87	>1	2,74	10,87
Отношение частот на гистограмме расстояния между клетками в агрегате - F_L/F_{L-1}	10,87	>1	5,111	10,87
Регрессионный анализ - коэффициент b	9,78	$>20,276 \times 10^3$	$29,500 \times 10^3$	9,78
Регрессионный анализ - площадь A_L , усл. ед.	9,24	$>10,507 \times 10^6$	$10,022 \times 10^6$	0,0
Регрессионный анализ - площадь A_D , усл. ед.	9,78	$>18,895 \times 10^6$	$33,337 \times 10^6$	9,78

$D \geq 54,35$ — аденокарцинома; $D \leq 21,74$ — хронический панкреатит

Рисунок 5. — Пример расчета диагностического индекса для пациента Ю. с помощью экспертной системы