

**INNOWACYJNE METODY ARCHIWIZACJI, PREZENTACJI
I UDOSTĘPNIANIA PREPARATÓW HISTOLOGICZNYCH
NA PRZYKŁADZIE FUNKCJONOWANIA CENTRUM
ARCHIWIZACJI OBRAZÓW MORFOLOGICZNYCH
I CYFROWEJ BAZY DANYCH OBRAZÓW MIKROSKOPOWYCH
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W POZNANIU***

INNOVATIVE METHODS OF ARCHIVING, PRESENTATION
AND PROVIDING ACCESS TO HISTOLOGICAL SECTIONS
AT THE EXAMPLE OF THE CENTER OF MORPHOLOGIC IMAGES
ARCHIVIZATION AND DIGITAL DATABASE OF MICROSCOPIC PICTURES
OPERATING IN POZNAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES

Krystyna FILIPIAK, Agnieszka MALIŃSKA, Michał NOWICKI,
Dariusz KRUPA, Maciej ZABEL

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie: Dynamiczny rozwój nauk technicznych i technik informatycznych pozwala obecnie na pozyskiwanie obrazów mikroskopowych preparatów histologicznych, nie tylko przy użyciu kamer cyfrowych, ale również wyspecjalizowanych urządzeń zwanych skanerami. Sprzężenie komputera i urządzenia magazynujące zeskanowane obrazy wirtualnych preparatów wraz ze specjalistycznym oprogramowaniem określa się mianem wirtualnego mikroskopu. Umożliwia on zarówno obserwację panoramiczną preparatu, jak i szczegółową analizę wybranego fragmentu tkanki przy większym powiększeniu. W wielu jednostkach naukowo-dydaktycznych wykorzystuje się wirtualną mikroskopię do celów kształcenia. W roku akademickim 2009/2010 Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, jako jedna z pierwszych jednostek naukowo-dydaktycznych w Polsce, stworzyła bazę wirtualnych preparatów wykorzystywaną do celów edukacyjnych. Dotychczas zgromadzono ponad 130 obrazów, które skatalogowano w 24 tematycznych folderach udostępnianych studentom medycyny uczestniczącym w zajęciach dydaktycznych z zakresu histologii, embriologii i cytofizjologii. Drugą gałęzią wykorzystującą wirtualną mikroskopię jest telepatologia. Powiązanie cyfrowych obrazów z technikami internetowymi wytycza nowe kierunki dla laboratoriów histologicznych czy patologicznych

*Praca jest częścią projektu „CAOM – Centrum Archiwizacji Obrazów Morfologicznych i Cyfrowej Bazy Danych Obrazów Mikroskopowych” współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach „Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007–2013”

poprzez stworzenie możliwości korzystania z platform internetowych oferujących dostęp do wirtualnych mikroskopów i wirtualnych preparatów. W czerwcu 2011 roku w Centrum Archiwizacji Obrazów Morfolologicznych i Cyfrowej Bazy Danych Obrazów Mikroskopowych w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu uruchomiona została platforma internetowa (www.caom.pl) mająca na celu udostępnienie centralnej bazy danych preparatów mikroskopowych obejmujących prawidłowe obrazy histologiczne narządów oraz rzadkie i nietypowe zmiany chorobowe (w tym nowotworowe).

Słowa kluczowe: wirtualna mikroskopia, wirtualny preparat, telepatologia.

Summary: The dynamic development of technical sciences and information technology allows now for acquisition of microscopic images of histological sections, not only using digital cameras, but also through specialized devices called scanners. The images obtained using scanners and stored in a computer storage device are called virtual slides and, together with special software, are known as virtual microscopy. The virtual slides can be analyzed on a computer monitor by panoramic viewing or using a detailed image examination at higher magnification. In many research and education institutions in both the US and Europe, the virtual microscopy is used for teaching and training purposes. In the academic year of 2009/2010, Department of Histology and Embryology, University of Medical Sciences in Poznań, as one of the first in Poland, has created a virtual database for educational purposes. This database has resulted from archiving the traditional images of histological slides in the form of digital images. So far, more than 130 virtual slides have been acquired and catalogued in 24 thematic folders, available for medical students participating in histology, embryology and cell biology courses. Telepathology is the second branch which use virtual microscopy. Virtual microscope allows to discuss and resolve medical/diagnostic problems with the use of telecommunication systems and information technology. The existing internet platforms offer access to virtual microscopes and virtual slides. In June, 2011 the Center of Morphologic Images Archivization and Digital Database of Microscopic Pictures in the Department of Histology and Embryology, Poznan University of Medical Sciences launch an online platform (www.caom.pl), aimed at providing a central database of scanned histological sections with images of physiological tissues, and pathological, rare and unusual lesions, including tumors.

Key words: virtual microscopy, virtual slide, telepathology

1. WSTĘP

Akwizycja mikroskopowych obrazów komórek i tkanek jest istotnym narzędziem badawczym zwłaszcza w naukach medycznych i biologicznych. Momentem przełomowym zarówno w pozyskiwaniu, jak i archiwizacji obrazów mikroskopowych były lata 80. XX wieku, kiedy pojawiła się możliwość kompatybilnego sprzężenia kamery cyfrowej, mikroskopu i komputera dysponującego dużą pamięcią operacyjną. Dynamiczny rozwój nauk technicznych i technik informatycznych pozwala obecnie na bardziej precyzyjne pozyskiwanie mikroskopowych obrazów preparatów histologicznych przez wyspecjalizowane urządzenia zwane skanerami. Wykorzystanie skanerów pozwala na tworzenie baz danych wysokiej jakości obrazów histologicznych. Bazy te mogą być udostępniane w celach zarówno dydaktycznych [2, 4, 6, 9, 14, 16, 18, 19, 21], jak i diagnostycznych [13, 15, 17, 22, 25]. Ponadto są one niezbędne do funkcjonowania rozwijającej się w ciągu ostatnich lat nowej gałęzi medycyny zwanej telemedycyną, a szczególnie takich jej dziedzin, jak: teledukacja, tediagnostyka czy telekonsultacja [3, 10, 26]. Wirtualna mikroskopia działająca przy wykorzystaniu nowych interaktywnych technologii komputerowych stwarza szerokie możliwości zastosowania w medycynie.

2. AKWIZYCJA OBRAZÓW MIKROSKOPOWYCH

2.1. Od kamery CCD do skanera preparatów histologicznych

Komputerowa archiwizacja obrazów mikroskopowych stała się możliwa, dzięki wprowadzeniu w wiązkę optyczną mikroskopu świetlnego kamery podłączonej do komputerowej karty archiwizacji obrazów (ang. *frame grabber*). W zależności od typu zastosowanej kamery otrzymuje się obraz analogowy bądź cyfrowy.

Przewaga obrazów cyfrowych nad analogowymi wynika między innymi z faktu, iż nie są one poddawane procesowi konwersji analogowo-cyfrowej. Proces ten, niezbędny w przypadku obrazu analogowego prowadzi do częściowej utraty informacji będącej konsekwencją błędów towarzyszących przetwarzaniu obrazu (błąd kwantyzacji, ograniczonej rozdzielczości częstotliwościowej, błąd mieszania częstotliwości niesionej przez sygnał analogowy).

Obraz cyfrowy (obraz bitmapowy, mapa bitowa) składa się z jednostek obrazu zwanych pikselami i reprezentowany jest przez macierz liczb całkowitych, w której każdemu elementowi (odpowiadającemu jednemu pikselowi obrazu) przyporządkowane zostają współrzędne jego położenia w obrazie, oraz barwa lub odcień szarości. Dla obrazów z kamer czarno-białych każdy odcień szarości, zwany poziomem szarości opisany jest przez liczbę naturalną ze zbioru od 0 do 255, proporcjonalną do intensywności świecenia danego piksela. W przypadku obrazów kolorowych, mierzona jest intensywność świecenia jego poszczególnych barw składowych (zazwyczaj czerwonej – *red R*, zielonej – *green G* i niebieskiej – *blue B*).

Obecnie do archiwizacji obrazów mikroskopowych wykorzystuje się kamery cyfrowe z matrycą CCD (*Charge-Coupled Device* – układ ze sprzężeniem ładunkowym). Matryca CCD składa się z elementów światłoczułych, równomiernie rozmieszczonych na płaskiej płytce, których zadaniem jest rejestrowanie natężenia światła pochodzącego od poszczególnych elementów obrazowanego obiektu. W każdym fotoelementie (sensorze) pod wpływem padającego światła powstaje ładunek elektryczny proporcjonalny do jego natężenia. Powstały w ten sposób sygnał elektryczny jest przetwarzany przez układy elektroniczne do postaci cyfrowej. Każdemu fotoelementowi matrycy odpowiada piksel obrazu cyfrowego. Pierwsza kamera CCD została skonstruowana w 1969 roku przez Willarda Boyle'a i Georga Smitha w Bell Telephone Laboratories. Urządzenie składało się z 8 sensorów optycznych ułożonych w jeden rząd. Dopiero w 1970 roku powstał większy model matrycy kwadratowej zawierającej 100×100 pikseli. Stosowane obecnie matryce CCD zbudowane są z milionów elementów światłoczułych, co wpływa na wzrost rozdzielczości rejestrowanego obrazu. Rozdzielczość kamery wyraża się liczbą fotoelementów (pikseli) matrycy w jej wierszach i kolumnach, np. 1300×1030 pikseli lub $\sim 1,4$ milionów pikseli (MP). Zdolność rozdzielcza obrazu zarejestrowanego na danej matrycy wzrasta wraz z liczbą fotoelementów. Zwiększanie liczby fotoelementów jest jednak ograniczone zdolnością rozdzielczą mikroskopu. Dlatego też istotną informacją dotyczącą obrazów mikroskopowych uzyskiwanych z kamer cyfrowych jest rozdzielczość mierzona liczbą μm przypadających na 1 piksel obrazu, np. 0,54

$\mu\text{m/piksel}$ czy $1,08 \mu\text{m/piksel}$ [24]. Obrazy wygenerowane przez kamery cyfrowe charakteryzują się zwykle dużą wielkością rozumianą jako ilość przechowywanych informacji. Wielkość obrazu jest zależna od następujących parametrów: rozmiar (wyrażony w pikselach), rozdzielczość, głębia bitowa (ilość bitów wykorzystywanych do zakodowania barwy poszczególnego piksela) oraz model koloru. Przyjmując, że 1 piksel obrazu zajmuje 1 bajt pamięci, obraz z czarno-białej kamery CCD o matrycy 1300×1030 pikseli zajmować będzie około 1,4 MB (megabajtów) pamięci. Obecnie szerokie zastosowanie znajdują kamery wyposażone w układ trzech matryc (tzw. kamery 3-chipowe). Każda z matryc rejestruje jedną ze składowych obrazu RGB, co nie tylko pozwala na uzyskanie obrazu kolorowego, lecz również wpływa na poprawę jego jakości.

Obrazy preparatów histologicznych zarejestrowane za pomocą cyfrowej kamery sprzężonej z mikroskopem stanowią rodzaj „cyfrowych fotografii”. Są doskonałą formą dokumentacji nie tylko ze względu na ich „niezniszczalność”, lecz także łatwość katalogowania, dostępu i możliwości przesyłania plików do konsultacji. Zapisane na elektronicznych nośnikach danych (np. płyty CD lub DVD) i dołączane do podręczników akademickich stanowią cenne uzupełnienie informacji tekstowych. Dowodem na szerokie możliwości wykorzystania cyfrowych fotografii obrazów mikroskopowych jest ich obecność w internecie [7]. Łatwy dostęp do tego typu stron jest szczególnie istotny z punktu widzenia osób kształcących się, w tym studentów. Coraz częściej na stronach głównych jednostek naukowo-dydaktycznych pojawia się możliwość uzyskania dostępu do bazy preparatów i samodzielnego analizowania obrazów mikroskopowych. Np. na stronie głównej Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (www.histologia.ump.edu.pl) znajduje się zakładka „preparaty histologiczne” zawierająca cyfrowe obrazy wybranych fragmentów preparatów mikroskopowych. Ponadto obrazy cyfrowe mogą być wykorzystywane jako obrazy referencyjne w diagnostyce przypadków patologicznych [1]. Popularne staje się udostępnianie w internecie wyselekcjonowanych i opisanych przez ekspertów obrazów rzadkich zmian nowotworowych (np. www.raretumours.org).

W codziennej praktyce histologicznej i patologicznej istnieje jednak konieczność archiwizowania nie tylko wybranych fragmentów preparatu, ale całej jego powierzchni. Jest to obecnie możliwe dzięki stworzeniu systemów mikroskopowych wyposażonych nie tylko w kamerę, ale w zmechanizowany stolik, którego ruch jest precyzyjnie kontrolowany przez urządzenia elektroniczne. Odpowiednie oprogramowanie pozwala podzielić powierzchnię całego preparatu na równe pola: kwadraty czy prostokąty i otrzymać siatkę, np. 6×6 lub 10×10 obrazów. Każdy obraz rejestrowany jest z marginesem większym (o kilkanaście lub kilkadziesiąt pikseli) niż wyznaczone przez siatkę pola. Uzyskane obrazy są następnie łączone (ang. *stitching*) przy zastosowaniu analizy nakładających się części (ang. *overlapping parts*) przyległych obrazów [11]. W wyniku rejestrowania kolejnych obrazów wprowadzanych przez ruchomy stolik w wiązkę optyczną mikroskopu powstaje obraz całego preparatu histologicznego (ang. *whole-slide-image*) nazywany też „mega-obrazem” [11], który zarchiwizowany na twardym dysku komputera może zostać poddany przetwarzaniu i obróbce. Na rycinie 1 przedstawiono „mega obraz” preparatu histologicznego, w którym nie dokonano korekcji tła ani odcięcia szumów



RYCINA 1. „Mega obraz” preparatu histologicznego bez korekcji. Widoczne na rycinie miejsca łączenia poszczególnych pól powstały na skutek różnej jasności pikseli brzegowych, natomiast obecność niejednorodnego tła spowodowana jest pominięciem procesu odejmowania tła od poszczególnych obrazów przed ich złączeniem (mikroskop Axio Imager Z1; obiektyw EC Plan Neofluar 10'/03; kamera AxioCam MR5 – zestaw Carl Zeiss). Obraz zebrano wykorzystując podprogram MosaiX programu AxioVision 4.8 (Carl Zeiss)

FIGURE 1. The „mega image” of the histological specimen registered without correction. The effects of images junction are consequence of different brightness of boundary pixels, while the presence of non-uniform background is due to omitting the background subtraction from each image before their merging (Axio Imager Z1 microscope; EC Plan Neofluar lens 10x/03; camera AxioCam MR5 – set Carl Zeiss). Image was collected using the MosaiX 4.8 and AxioVision software of Carl Zeiss

i artefaktów, dzięki czemu widoczne są wszystkie (25) pola składowe obrazu. Ten „mega-obraz” zarejestrowany przy użyciu mikroskopu Axio Imager Z1 (Carl Zeiss) współpracującego z programem AxioVision zajmuje 716,6 MB pamięci, natomiast w postaci skompresowanej do formatu jpeg już tylko 34,7 MB.

2.2. Skaner preparatów histologicznych – nowoczesne urządzenie do pozyskiwania obrazów preparatów histologicznych

Rosnące oczekiwania użytkowników mikroskopów optycznych oraz rozwój przemysłu optycznego i optoelektronicznego przyczyniły się do skonstruowania urządzeń łączących funkcję mikroskopu optycznego i kamery cyfrowej – skanerów preparatów histologicznych. Przyrządy te umożliwiają zarejestrowanie całego preparatu histologicznego bez konieczności sklejanego z przyległych obrazów i ich dopasowywania, co pozwala uniknąć błędów w miejscach łączenia obrazów składowych bez konieczności korekcji niezbędnej w przypadku obrazów histologicznych zbieranych za pomocą kamery sprzężonej z mikroskopem.

2.3. Budowa i zasada działania skanera

Skaner preparatów histologicznych w niczym nie przypomina mikroskopu (ryc. 2). Jest to urządzenie, którego część mechaniczna pobiera szkiełko podstawowe



RYCINA 2. Skaner Mirax-Midi (Carl Zeiss) z zasobnikiem pozwalającym na automatyczne skanowanie 12 preparatów histologicznych

FIGURE 2. Mirax-Midi scanner (Carl Zeiss) with a tray allowing the automatic scanning of maximum 12 histological specimens

zawierające preparat histologiczny z odpowiedniego podajnika mieszczącego nawet do kilkudziesięciu szkiełek mikroskopowych i umieszcza je na specjalnym, ruchomym stoliku kontrolowanym przez systemy elektroniczne. Dokonywanie rejestracji obrazu preparatu histologicznego wiąże się z koniecznością odróżnienia go od tła, czyli zdefiniowania tzw. regionu zainteresowania – ROI (ang. *Region of Interest*). Najprostszym sposobem podziału obrazu na obszary przeznaczone do dalszej rejestracji i tło jest operacja tzw. progowania (ang. *thresholding*). Polega ona na selekcji wszystkich pikseli obrazu według zadanego kryterium, którym jest przedział poziomów szarości równoważny z poziomem jasności każdego piksela. Te części obrazu, których jasność zawiera się w wyznaczonym przedziale, mają przypisaną wartość logiczną równą 1 (obiekt), zaś pozostałe wartości logiczne równą 0 (tło). Efektem końcowym segmentacji jest obraz binarny, w którym obiektami stają się te części obrazu, których piksele przyjmują wartość logiczną równą 1, natomiast tłem pozostałe obszary przyjmujące wartość logiczną równą 0. Możliwość wizualnej kontroli w czasie przeprowadzania binaryzacji obrazu pozwala ocenić badającemu poprawność przeprowadzonego „progowania”. Do realizacji tego zadania skaner wykorzystuje kamerę podglądową, która ma zdolność szybkiej rejestracji obrazu całego szkiełka mikroskopowego wraz z naniesionym na nie preparatem. Następnie,

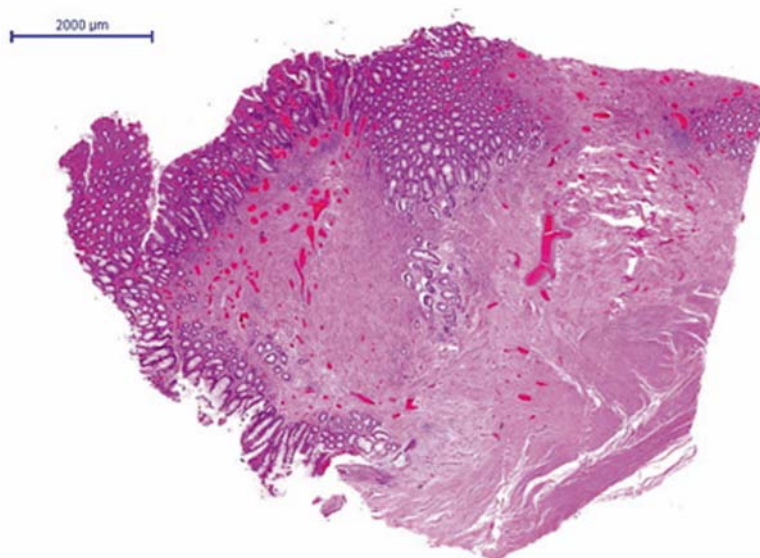
za pomocą 3-chipowej kamery charakteryzującej się znacznie większą rozdzielczością, z wykorzystaniem obiektywu powiększającego $20\times$ lub $40\times$, urządzenie skanuje obszar wybrany w pierwszym etapie procesu skanowania. Skaner posiada funkcję autofocus, która umożliwia automatyczne ustawienie ostrości dla każdego zbieranego obrazu, czego konsekwencją jest doskonała wyrazistość całego zarejestrowanego preparatu. Istotną kwestią techniczną jest stosowanie szkiełek (podstawowych jak i nakrywkowych) o grubości z zakresu podanego przez producenta skanera, gdyż automatyczne ustawianie ostrości odbywa się w ściśle określonym zakresie ogniskowania.

Po procesie skanowania powstały obraz cyfrowy zostaje przesłany do komputera. Magazynowanie uzyskanych obrazów może się odbywać na twardym dysku komputera lub na zewnętrznych dyskach o znacznych pojemnościach rzędu terabajtów (ponad 1000 GB). Na rycinie 3 przedstawiono obraz całego preparatu histologicznego uzyskanego przy użyciu skanera Mirax-Midi (Carl Zeiss).

3. WIRTUALNA MIKROSKOPIA

3.1. Wirtualny preparat

Wirtualny preparat to cyfrowy zapis zeskanowanego całego preparatu mikroskopowego lub jego istotnej części. Preparat taki zapisany w komputerowej bazie danych (twardy dysk, dysk zewnętrzny, serwer) może być analizowany w każdym



RYCINA 3. Obraz całego preparatu histologicznego uzyskany przy użyciu skanera Mirax-Midi (Carl Zeiss)

FIGURE 3. The whole-slide image of histological specimen obtained by using the scanner Mirax-Midi (Carl Zeiss)

dowolnym obszarze skrawka histologicznego, w szerokim zakresie powiększeń bezpośrednio na monitorze komputera, bez konieczności dysponowania mikroskopem świetlnym [16, 18]. W tabeli 1 opisano wady i zalety wirtualnych preparatów.

3.2. Prezentowanie cyfrowych obrazów mikroskopowych

Z uwagi na duże rozmiary wirtualnych preparatów (rzędu setek MB), ich wizualizacja i analiza związana jest z koniecznością dysponowania odpowiednim oprogramowaniem. Sprzężenie komputera i urządzenia magazynującego wirtualne preparaty wraz

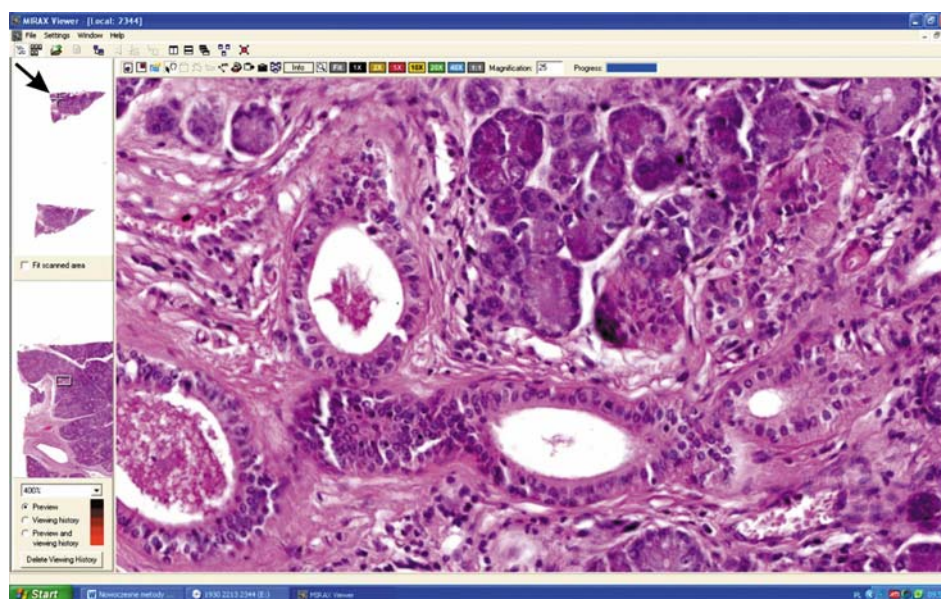
TABELA 1. Wady i zalety wirtualnych preparatów
TABLE 1. Advantages and disadvantages of virtual slides

Wirtualny preparat	
Zalety	Wady
1) możliwość obserwacji całego preparatu 2) wysoka rozdzielczość obrazu 3) wysoka jakość obrazu 4) powtarzalność prezentowanych obrazów 5) możliwość dołączenia informacji tekstowych	1) długi czas skanowania 2) duża wielkość otrzymywanych plików 3) konieczność stosowania szkiełek mikroskopowych o parametrach podanych przez producenta danego typu skanera

ze specjalistycznym oprogramowaniem określa się mianem wirtualnego mikroskopu [8, 15, 16, 19, 21, 25]. Umożliwia on zarówno obserwację panoramiczną preparatu, jak i szczegółową analizę wybranego fragmentu tkanki przy większym powiększeniu.

Należy jednak pamiętać, że technologia wirtualnych preparatów wymaga nie tylko doskonałej jakości „wyjściowych”, tj. rzeczywistych preparatów mikroskopowych przeznaczonych do skanowania, lecz również odpowiedniego ich przygotowania (szkiełka podstawowe o parametrach podanych przez producenta, jednorodna grubość skrawków i płaskie osadzenie szkiełek nakrywkowych). Tylko bardzo dobrze przygotowane preparaty mikroskopowe zapewniają uzyskanie wirtualnych preparatów o wysokiej jakości.

Rycina 4 przedstawia obraz („*print screen*”) okna dialogowego wirtualnego mikroskopu. W lewym górnym rogu widoczna jest panorama badanego preparatu, a strzałka wskazuje fragment analizowany w głównym oknie programu w dużym powiększeniu. W chwili analizy tylko wybrany fragment preparatu jest wywoływany z urządzenia magazynującego dane i prezentowany na ekranie. Dzięki temu analizowane mogą być obrazy o bardzo dobrej jakości, co wynika z ich wysokiej rozdzielczości, np. 2584×1936 pikseli. Analiza wybranego obszaru odbywa się dla określonego przez obserwatora powiększenia, które nie musi pokrywać się ze standardowymi powiększeniami obiektywów mikroskopowych (np. 5×, 10×, 20×), ale może być dowolnie dobierane w sposób skokowy bądź ciągły od powiększenia 0,2× do 40×, tak jak w omawianym urządzeniu firmy Zeiss. Istnieje możliwość uzyskania powiększenia powyżej 40×, jednak jest to już powiększenie, które nie pozwala na



RYCINA 4. Okno dialogowe wirtualnego mikroskopu pracującego w środowisku programu Mirax Viewer (Carl Zeiss). W lewym górnym rogu widoczna jest panorama badanego preparatu, a strzałka wskazuje fragment analizowany w głównym oknie programu w dużym powiększeniu

FIGURE 4. The screen capture image of virtual microscope Mirax Viewer software (Carl Zeiss). In the left upper corner the panoramic image of the whole specimen is presented. The arrow indicates the fragment analyzed in the main window at high magnification

uzyskanie dodatkowych informacji, a umożliwia jedynie obserwację poszczególnych pikseli obrazu. Główne zalety wirtualnej mikroskopii przedstawiono w tabeli 2.

3.3. Wykorzystanie wirtualnej mikroskopii w edukacji i telemedycynie

Wirtualna mikroskopia znalazła praktyczne zastosowanie przede wszystkim w edukacji. Z uwagi na fakt, że analiza struktury i budowy tkanek stanowi podstawę

TABELA 2. Wady i zalety wirtualnej mikroskopii

TABLE 2. Advantages and disadvantages of virtual microscopy

Wirtualna mikroskopia	
Zalety	Wady
1) możliwości nawigacji w obszarze preparatu (łatwe i szybkie przechodzenie pomiędzy kolejnymi obszarami obrazu) 2) szeroki zakres doboru powiększeń dostępnych zarówno w trybie skokowym, jak i ciągłym 3) szybki i łatwy dostęp do kolejnych preparatów możliwość zapisu wybranych fragmentów obrazu w powszechnie obsługiwanych formatach	1) brak uniwersalności formatów zapisywanych obrazów wśród producentów oprogramowań 2) wymagany zestaw komputerowy o dużej pamięci RAM z monitorem wysokiej rozdzielczości

nauczania takich dyscyplin, jak histologia czy patomorfologia, wirtualne preparaty wydają się być szczególnie korzystnym narzędziem dydaktycznym. W wielu jednostkach naukowo-dydaktycznych zarówno w Stanach Zjednoczonych [4, 6, 9], jak i w Europie [14, 16, 23] wykorzystuje się wirtualną mikroskopię do celów kształcenia. Jest ona uznawana za narzędzie dydaktyczne poprawiające jakość kształcenia nie tylko przez osoby prowadzące ćwiczenia i seminaria, ale również przez studentów.

Wykorzystanie wirtualnych preparatów w celach dydaktycznych pozwala uniknąć szeregu niedogodności, które nierozdzielnie związane są z tradycyjną mikroskopią świetlną. Wirtualna mikroskopia zapewnia szeroki i łatwy dostęp do preparatów „unikatowych” dokumentujących wyjątkowe przypadki patologiczne. Ankietyzacja przeprowadzona wśród studentów uczelni medycznych odbywających ćwiczenia z histologii bądź patologii wykazała, że w pełni akceptują oni wirtualne preparaty wykorzystywane jako alternatywa dla rutynowych preparatów histologicznych [6, 14, 19].

Dominującą dziedziną edukacji wykorzystującą walory wirtualnej mikroskopii jest edukacja przez internet (*e-learning*). Wirtualne preparaty histologiczne dostępne w sieci internetowej umożliwiają naukę poza laboratorium, w czasie dogodnym dla studenta [2, 3, 5, 16]. W internecie istnieje wiele adresów stron umożliwiających dostęp do cennych, niejednokrotnie unikatowych wirtualnych preparatów histologicznych, np.: www.path.uiowa.edu/virtualslidebox (The University of Iowa City), www.meddean.luc.edu/lumen/MeEd/Histo/virtualhistology.htm (Loyola University Chicago), www.webmicroscope.net/atlases/breast/brcatlas_start.asp (Digital atlas of breast histopathology). W 2007 roku powstał też projekt, w trakcie którego z sukcesem przetestowano możliwość internetowego połączenia i wspólnego udostępnienia baz wirtualnych preparatów mikroskopowych kilku uczelni europejskich, co znacznie poszerza zasoby bazy i szybkość dostępu do obrazów [12].

W roku akademickim 2009/2010 Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, jako jedna z pierwszych jednostek naukowo-dydaktycznych w Polsce, stworzyła bazę wirtualnych preparatów wykorzystywaną do celów edukacyjnych. Baza ta powstała w wyniku zarejestrowania obrazów tradycyjnych preparatów histologicznych w formacie cyfrowym (skaner DotSlide, Olympus). Dotychczas (do połowy 2011 roku) zgromadzono ponad 130 obrazów, które skatalogowano w 24 tematycznych folderach udostępnianych studentom medycyny uczestniczącym w zajęciach dydaktycznych z zakresu histologii, embriologii i cytofizjologii. Zmodernizowana sala dydaktyczna Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii dysponuje 80. stanowiskami komputerowymi, które są wyposażone w oprogramowanie OlyVIA (v 2.1; Olympus). Intuicyjna obsługa powyższego oprogramowania umożliwia szybki i łatwy dostęp do wirtualnych preparatów zgromadzonych na serwerze Katedry. Wysoka jakość cyfrowych obrazów pozwala na obserwację i analizę struktury narządów i tkanek w dużych, niedostępnych dotychczas dla studentów powiększeniach, a także preparatów barwionych nie tylko metodami rutynowymi, lecz również złożonymi metodami histo- i immuno-histochemicznymi. Ponadto wirtualna mikroskopia stwarza nowe możliwości w zakresie sposobu organizacji zajęć dydaktycznych („minitelekonferencje”, nowatorskie metody przeprowadzania zajęć seminaryjnych,

egzaminów praktycznych), które przyczyniają się do zwiększenia efektywności nauczania, a jednocześnie są bardziej atrakcyjne dla studentów.

Drugą gałęzią wykorzystującą wirtualną mikroskopię jest **telemedycyna**. Umożliwia ona dyskutowanie i rozwiązywanie problemów medycznych z wykorzystaniem technik i systemów telekomunikacyjnych i informatycznych. Ze względu na sposób, w jaki mogą odbywać się konsultacje telemedyczne, można rozróżnić dwa rodzaje telemedycyny.

1. Telemedycyna oparta na wcześniejszym zapisie informacji dotyczących pacjenta i na wysyłaniu ich wraz z obrazami w skompresowanej formie do konsultanta, który analizuje je w dogodnym dla siebie czasie, po czym wysyła zwrótnie do nadawcy swoją opinię. Metoda ta jest bardzo wygodna, bazuje przede wszystkim na kontakcie drogą poczty elektronicznej bez konieczności organizowania spotkania, np. lekarza specjalisty z lekarzem rodzinnym.

2. Telemedycyna czasu rzeczywistego (ang. *real-time*, zwana też *online*). W tej metodzie wymagania dotyczące urządzeń technicznych i przepustowości sieci są wyższe niż w przypadku telemedycyny pierwszego typu. Przykładem może być wideokonferencja, która obejmuje zasięgiem wielu lekarzy, np. lekarza prowadzącego i lekarzy specjalistów. Dużą zaletą tej formy konsultacji jest to, że ustalenie rozpoznania lub zaleceń terapeutycznych powstaje w wyniku jednoczesnej, tj. przebiegającej w czasie bieżącym, wymiany poglądów przez jej uczestników.

Telemedycyna obejmuje różne dyscypliny medyczne, wśród których wyróżnić można teleradiologię, telekardiologię, teleonkologię i inne. Szybko rozwijającą się poddziedziną telemedycyny jest **telepatologia**, czyli diagnostyka histopatologiczna na odległość wykorzystująca dostępne, nowoczesne technologie telekomunikacyjne [3, 15, 21, 18, 26]. Telepatologia może być realizowana w następujący sposób: (1) przesłanie wyselekcjonowanego obrazu mikroskopowego zarejestrowanego wcześniej w formie cyfrowej i oczekiwanie na odpowiedź konsultanta, (2) transmisja obrazu z mikroskopu w czasie rzeczywistym (np. w trakcie trwania operacji) na monitor konsultanta, (3) telekonsultant analizuje wirtualne preparaty histologiczne na swoim monitorze, w czasie dla siebie dogodnym, obserwując dowolny obszar preparatu przy wybranym przez siebie powiększeniu bez konieczności transferu całego obrazu na swój komputer [1, 18].

Według pracy Janiny Słodkowskiej „Mikroskopia wirtualna we współczesnej patologii” [20] we współczesnej telepatologii można wydzielić trzy podgrupy: (1) telepatologia statyczna, najbardziej upowszechniona, bazująca na obrazach cyfrowych wybranych pól preparatów i oparta na ich przesyłaniu drogą poczty elektronicznej, (2) telepatologia dynamiczna, która wykorzystuje system transmisji obrazów w czasie rzeczywistym, co umożliwia jej zastosowanie w diagnostyce śródoperacyjnej i rutynowej diagnostyce biopsyjnej oraz (3) wirtualna telepatologia opierająca się na analizie wirtualnych preparatów. Z uwagi na rosnące potrzeby wielokierunkowych, interdyscyplinarnych konsultacji wydaje się, że wirtualna telepatologia jest dziedziną, która w niedługim czasie stanie się integralną częścią telemedycyny. Dziedzina ta otwiera drogę do szybkiego konsultowania przypadków ze specjalistami na całym świecie, co ma szczególne znaczenie w krajach rozwijających się, niemających specjalistycznych ośrodków skupiających specjalistów, w tym patologów [10].

4. PLATFORMA INTERNETOWA: UDOSTĘPNIANIE CYFROWYCH PREPARATÓW MIKROSKOPOWYCH ORAZ ZAUTOMATYZOWANEGO MIKROSKOPU BADAWCZEGO OBSŁUGIWANEGO ZA POMOCĄ SIECI TELEINFORMATYCZNEJ Z DOWOLNEGO MIEJSCA

Powiązanie cyfrowych obrazów z technikami internetowymi wytycza nowe kierunki dla laboratoriów histologicznych czy patologicznych poprzez stworzenie możliwości korzystania z platform internetowych oferujących dostęp do wirtualnych mikroskopów i wirtualnych preparatów. Platformy internetowe znajdują zastosowanie nie tylko w nauczaniu histologii czy patologii [4, 6, 16], lecz przede wszystkim stwarzają możliwość telekonsultacji ekspertów patologów wykorzystujących wirtualne preparaty [1, 18, 26], dyskusji *online* rzadkich przypadków chorobowych w celu postawienia właściwej diagnozy oraz badań i współpracy naukowej.

W czerwcu 2011 roku w Centrum Archiwizacji Obrazów Morfologicznych i Cyfrowej Bazy Danych Obrazów Mikroskopowych (CAOM) w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu uruchomiona została platforma internetowa (www.caom.pl) mająca na celu udostępnienie centralnej bazy danych zeskanowanych preparatów histologicznych obejmujących prawidłowe obrazy histologiczne narządów oraz rzadkie i nietypowe zmiany chorobowe, w tym zmiany nowotworowe. Portal administracyjny CAOM będzie pozwalał na logowanie i rejestrację użytkowników, natomiast portal komunikacyjny na obserwację wirtualnych preparatów oraz udział w seminariach *online*. Platforma internetowa będzie udostępniać bazę preparatów z trzech różnych poziomów: (1) publicznego, z którego preparaty będą dostępne dla wszystkich zalogowanych użytkowników, (2) prywatnego (tylko dla użytkowników o odpowiednich uprawnieniach nadawanych przez portal administracyjny) i (3) z bazy preparatów do telekonsultacji.

Przeglądanie baz preparatów wymagać będzie aplet'u Java, lub instalacji bezpłatnego programu Mirax Viewer (Carl Zeiss) na komputerze użytkownika. Program ten umożliwi dostęp do obrazów w formacie zvi, dzięki czemu użytkownik może dokonywać obróbki obrazu czy też wygenerować wybrany przez siebie fragment w formacie jpeg lub bmp. Możliwe będzie również prowadzenie dyskusji dotyczącej danego preparatu, przy czym liczba osób korzystających w tym samym czasie z zasobów Centrum ograniczona będzie do 20 użytkowników. Wśród potencjalnych użytkowników tego systemu wskazać należy: lekarzy o dowolnej specjalności, anatomów i histologów, pracowników naukowych oraz studentów uczelni medycznych. Dotychczas baza platformy CAOM liczy ponad 500 wirtualnych preparatów, które są przechowywane na niezależnym serwerze gwarantującym bezpieczeństwo zebranych zasobów.

CAOM oferować będzie również dostęp do mikroskopów badawczych wyposażonych w oprogramowanie integrujące zdalną obsługę mikroskopu, wizualizację obrazów mikroskopowych na ekranie monitora oraz komunikację między użytkownikami. Dostęp do mikroskopu badawczego wyposażonego w zasobnik na preparaty histologiczne poprzez portal CAOM będzie analogiczny ze sposobem dostępu do bazy

preparatów. Użytkownicy-klienci łączący się z serwerem poprzez przeglądarkę internetową będą mieli możliwość wyboru interesującego fragmentu preparatu przez zmianę położenia stolika mikroskopowego, wybór odpowiedniego powiększenia i ostrości. Dostępne będą dwa sposoby komunikowania się użytkowników. Pierwszy polegać będzie na przekazywaniu wiadomości tekstowych między wszystkimi zalogowanymi użytkownikami podłączonymi do portu sterującego mikroskopem – funkcja *chat*. Drugim sposobem komunikacji będzie wideokonferencja, która umożliwi porozumiewanie się kilku osób lub grup osób o odpowiednich uprawnieniach nadawanych przez portal administracyjny, np. za pomocą komunikatora typu skype, co ułatwi wymianę spostrzeżeń podczas diagnozowania preparatu. W chwili obecnej Centrum dysponuje mikroskopem Axio Imager M1 (Carl Zeiss), wyposażonym w wysokiej jakości 3-chipową kamerę CCD (JHI CV-M9CL). Na rycinie 5 przedstawiono okno dialogowe programu Mirax Navigator (Carl Zeiss) pozwalającego na zdalną obsługę mikroskopu do telekonferencji. W tabeli 3 zebrano wady i zalety platformy internetowej działającej przy korzystaniu z wirtualnej mikroskopii.

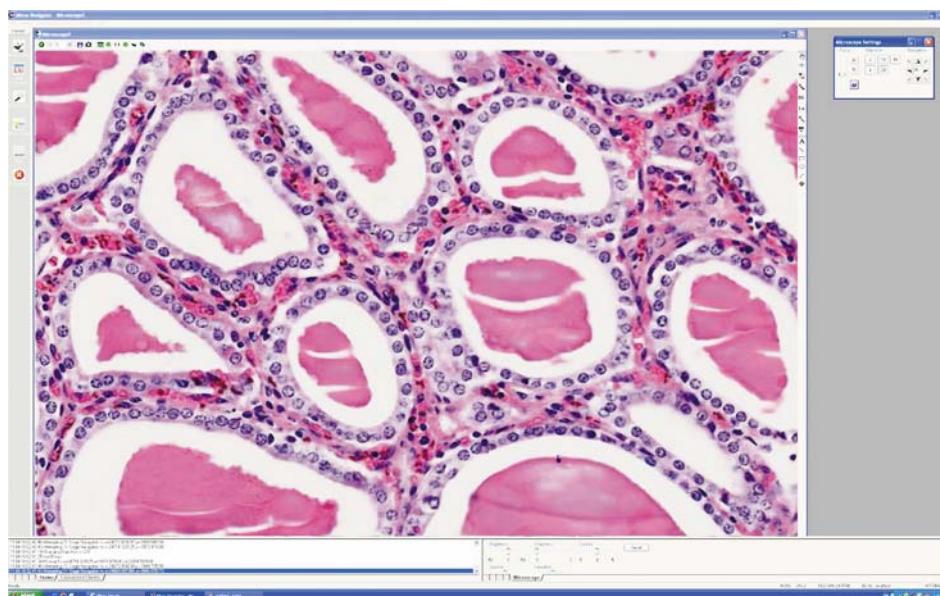
Trzecim elementem systemu platformy CAOM będzie centralna baza mikromacierzy tkankowych. Mikromacierze te będą w sposób nieodpłatny rozprowadzane w środowisku naukowym w Polsce. Wyżej wymienione mikromacierze są obecnie jednym z priorytetowych narzędzi badawczych w diagnostyce różnicowej i porównywaniu zmian chorobowych w specjalnościach lekarskich obejmujących morfologię i patomorfologię. Pojedyncza mikromacierz ma obejmować co najmniej 40 biopłatów (o średnicy około 1 mm każdy) naniesionych na jednym szkiełku mikroskopowym. Wśród potencjalnych użytkowników tego systemu wskazać należy przede wszystkim patomorfologów oraz pracowników naukowych.

5. PODSUMOWANIE

Digitalizacja oraz archiwizacja obrazów mikroskopowych w medycynie ma podwójny wymiar. Pierwszy z nich to wymiar bierny związany z cyfrowym przetworzeniem obrazu, zdeponowaniem na serwerze oraz udostępnieniem gotowego produktu kręgom użytkowników zewnętrznych. Znacznie bardziej interesującym, także z punktu widzenia badacza biologii komórki, jest aspekt czynny digitalizacji. Praktyka ostatnich lat dowodzi bowiem, że umieszczenie cyfrowych obrazów mikroskopowych obrazujących statyczny model komórki (tkanki) staje się załączkiem bardzo ożywionej wymiany poglądów

TABELA 3. Wady i zalety platformy internetowej dla wirtualnej mikroskopii
TABLE 3. Advantages and disadvantages of internet platform for virtual microscopy

Platforma internetowa dla wirtualnej mikroskopii	
Zalety	Wady
1) łatwy i szybki dostęp do preparatów w czasie i miejscu dogodnym dla obserwatora 2) możliwość obserwacji i analizy rzadkich przypadków patologicznych oraz prowadzenia telekonsultacji	1) konieczność posiadania komputera z dobrej jakości monitorem 2) konieczność dostępu do internetu szerokopasmowego



RYCINA 5. Okno dialogowe programu Mirax Navigator (Carl Zeiss). W głównym oknie widoczna jest panorama badanego preparatu, a w prawym górnym rogu okno nawigacyjne, które umożliwia użytkownikowi zdalną obsługę mikroskopu

FIGURE 5. The screen capture image of the Mirax Navigator software (Carl Zeiss). In the main window the panorama of the test specimen is visible, and in the upper right corner the navigation window that allows a user the remotely control the microscope

pomiędzy użytkownikami specjalistycznych portali internetowych. W ten sposób udostępnianie wyników własnych obserwacji w formie obrazu o wysokiej jakości staje się bardzo efektywnym narzędziem umożliwiającym upowszechnianie odkryć naukowych oraz prowadzenie merytorycznej dyskusji ukierunkowującej dalsze etapy badań.

LITERATURA

- [1] BONDI A, PIEROTTI P, CRUCITTI P, LEGA S. The virtual slide in the promotion of cytologic and histologic quality in oncologic screenings. *Ann Ist Super Sanita* 2010; **46**: 144–150.
- [2] COLEMAN R. Can histology and pathology be taught without microscopes? The advantages and disadvantages of virtual histology. *Acta Histochem* 2009; **111**: 1–4.
- [3] DEE FR. Virtual microscopy for comparative pathology. *Toxicol Pathol* 2006; **34**: 966–967.
- [4] DEE FR. Virtual microscopy in pathology education. *Hum Pathol* 2009; **40**: 1112–1121.
- [5] FEIT J, MATYSKA L, ULMAN V, HEJTMÁNEK L, JEDLIČKOVÁ H, JEŽOVÁ M, MOULIS M, FEITOVÁ V. Virtual microscope interface to high resolution histological images. *Diagn Pathol* 2008; **3**: S10.
- [6] FÓNYAD L, GERELY L, CSERNEKY M, MOLNÁR B, MATOLSCY A. Shifting gears higher – digital slides in graduate education – 4 years experience at Semmelweis University. *Diagn Pathol* 2010; **5**: 73–81.
- [7] GABRIL MY, YOUSEF GM. Informatics for practicing anatomical pathologists: marking a new era in pathology practice. *Mod Pathol* 2010; **23**: 349–358.
- [8] GIANSAANTI D, GRIGIONI M, D'AVENIO G, MORELLI S, MACCIONI G, BONDIA, GIOVAGNOLI MR. Virtual microscopy and digital cytology: state of the art. *Ann Ist Super Sanita* 2010; **46**: 115–122.
- [9] GOLDBERG HR, DINTZIS R. The positive impact of team-based virtual microscopy on student learning in physiology and histology. *Am J Physiol* 2007; **31**: 261–265.
- [10] HITCHCOCK C. The future of telepathology for the developing world. *Arch Pathol Lab Med* 2011; **135**: 211–214.

- [11] IREGUI M, GÓMEZ F, ROMERO E. Strategies for efficient virtual microscopy in pathological samples using JPEG2000. *Micron* 2007; **38**: 700–713.
- [12] LUNDIN M, SZYMAS J, LINDER E, BECK H, de WILDE P, VAN KRIEKEN H, GARCÍA ROJO M, MORENO I, ARIZAA, TUZLALI S, DERVIŞOĞLU S, HELIN H, LEHTO VP, LUNDIN J. A European network for virtual microscopy – design, implementation and evaluation of performance. *Virchows Arch* 2009; **454**: 421–429.
- [13] MARCHEVSKY AM, KHURANA R, PREMI T, SCHARRE K, FARIAS P, BOSE S. The use of virtual microscopy for proficiency testing in gynecologic cytopathology: A feasibility study using ScanScope. *Arch Pathol Lab Med* 2006; **130**: 349–355.
- [14] MERK M, KNUECHEL R, PEREZ-BOUZAA. Web-based virtual microscopy at the RWTH Aachen University: Didactic concept, methods and analysis of acceptance by the students. *Anat Anz* 2010; **192**: 383–387.
- [15] NIELSEN PS, LINDEBJERG J, RASMUSSEN J, STARKLINT H, WALDSTROM M, NIELSEN B. Virtual microscopy: an evaluation of its validity and diagnostic performance in routine histologic diagnosis of skin tumors. *Human Pathol* 2010; **41**: 1770–1776.
- [16] PAULSEN FP, EICHHORN M, BRÄUER L. Virtual microscopy – the future of teaching histology in the medical curriculum? *Ann Anat* 2010; **192**: 378–382.
- [17] PINCO J, GOULART RA, OTIS CN, GARB J, PANTANOWITZ L. Impact of digital image manipulation in cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2009; **133**: 57–61.
- [18] ROCHA R, VASSALLO J, SOARES F, MILLER K, GOBBI H. Digital slides: Present status of a tool for consultation, teaching, and quality control in pathology. *Pathol Res Pract* 2009; **205**: 735–741.
- [19] SCOVILLE SA, BUSKIRK TD. Traditional and virtual microscopy compared experimentally in a classroom setting. *Clin Anat* 2007; **20**: 565–570.
- [20] SŁODKOWSKA J. Mikroskopia wirtualna we współczesnej patologii. *Przew Lek* 2008; **1**: 290–295.
- [21] STEWART J, BEVANS-WILKINS K, BHATTACHARYA A, YE C, MIYAZAKI K, KURTYCZ DFJ. Virtual Microscopy: An educator's tool for the enhancement of cytotechnology students' locator skills. *Diagn Cytopathol* 2008; **36**: 363–368.
- [22] STEWART J, MIYAZAKI BS K, BEVANS-WILKINS K, YE C, KURTYCZ DFJ, SELVAGGI SM. Virtual microscopy for cytology proficiency testing: Are we there yet? *Cancer* 2007; **11**: 203–209.
- [23] SZYMAŚ J, LUNDIN M. Five years of experience teaching pathology to dental students using WebMicroscope. *Diagn Pathol* 2011; **6**: S13.
- [24] WEINSTEIN RS, GRAHAM AR, RICHTER LC, BARKER GP, KRUPINSKI EA, LOPEZ AM, ERPS KA, BHATTACHARYYA AK, YAGI Y, GILBERTSON JR. Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging: prospects for the future. *Hum Pathol* 2009; **40**: 1057–1069.
- [25] WIENERT S, BEILM, SAEGER K, HUFNAGL P, SCHRADER T. Integration and acceleration of virtual microscopy as the key to successful implementation into the routine diagnostic process. *Diagn Pathol* 2009; **4**: 3–10.
- [26] WILBUR D, MADI K, COLVIN RB, DUNCAN LM, FAQUIN WC, FERRY JF, FROSCHE MP, HOUSER SL, KRADIN RL, LAUWERS GY, LOUIS DN, MARK EJ, MINO-KENUDSON M, MISDRAJI J, NIELSEN GP, PITMAN MB, ROSENBERG AE, SMITH N, SOHANIAR, STONE JR, TAMBOURET RH, WU CL, YOUNG RH, ZEMBOWICZ A, KLIETMANN W. Whole-slide imaging digital pathology as a platform for teleconsultation. A pilot study using paired subspecialist correlations. *Arch Pathol Lab Med* 2009; **133**: 1949–1953.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 27.04. 2011 r.

Przyjęto: 21.06. 2011 r.

Krzyszyna Filipiak, dr n. biol., Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, UM

ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

e-mail: kfilip@ump.edu.pl