



تشخیص خودکار ناهنجاری‌های کروموزومی در کاربوتایپ‌های متافازی با استفاده از تصاویر جفت شده در کروموزوم‌ها

سعید عباسی^۱، حسن ختن لو^۲، مه‌لقا افراسیابی^۳، عاطفه عسگری^۴

^۱ گروه مهندسی کامپیوتر، شرکت داده ورزی سداد تهران

Saeid_Abbase@yahoo.com

^۲ دانشیار، گروه مهندسی کامپیوتر، دانشگاه بوعلی سینا همدان

hkhotanlou@basu.ac.ir

^۳ گروه مهندسی کامپیوتر، دانشگاه بوعلی سینا همدان

m.afraziabi@basu.ac.ir

^۴ بیمارستان فوق تخصصی شهید بهشتی همدان

Asgari.atefeh@yahoo.com

چکیده

شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی بخش ضروری از تشخیص و درمان اختلالات ژنتیکی و تعدادی از انواع سرطان‌هاست. سیتوژنتیک ابزار ارجح در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی است. در سیتوژنتیک، کاربوتایپ که آرایه نظام‌مندی از کروموزوم‌های یک انسان است، توسط عکس‌برداری از هسته یک سلول با استفاده از میکروسکوپ‌های نوری به دست می‌آید و مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد که در آن کروموزوم‌ها بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی جفت و مرتب می‌شوند. در حال حاضر این تجزیه و تحلیل به صورت چشمی توسط تکنسین‌های آزمایشگاهی انجام می‌شود که این فرایند وقت‌گیر و دارای خطاهای انسانی است.

هدف اصلی در این مقاله تشخیص خودکار وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در کاربوتایپ‌های انسانی است. گام اصلی در خودکار سازی این روش تعریف برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی برای هر کروموزوم است. در این روش به صورت خودکار با محاسبه طول و نسبت بازوهای کوتاه و بلند هر کروموزوم و مقایسه آن با کاربوتایپ‌های نرمال متوجه تغییرات کروموزومی و وجود یا عدم وجود ناهنجاری‌ها در آن‌ها می‌شوند. این روش بر روی ۲۲ تصویر کاربوتایپ بیمار تست شد و همه انواع ناهنجاری در کاربوتایپ‌های انسانی قابل تشخیص بود، به جز در مواردی که ناهنجاری جابجایی بین دو قطعه از کروموزوم که دارای اندازه کاملاً مشابه در دو بازوی نظیر هم (p یا q) هستند.

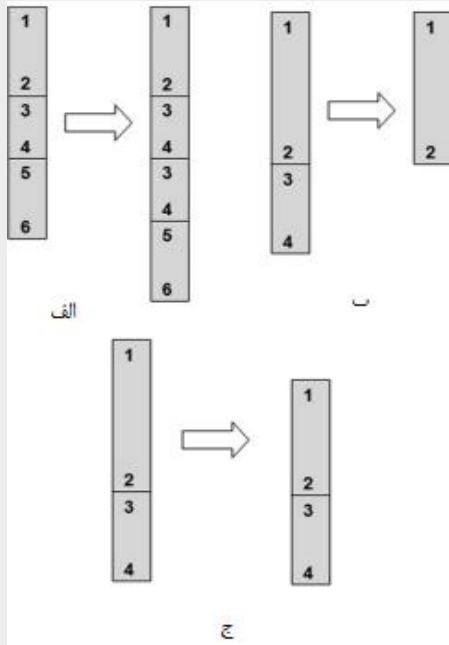
کلمات کلیدی:

شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی، شناسایی محل سانترومر، عملیات مورفولوژی

۱- مقدمه

خوبی بدست نیامده است. از آنجایی که کیفیت تصاویر مربوط به باندهای کروموزوم بسیار پایین و گاهی یکنواخت تیره است، لذا تشخیص وجود ناهنجاری در تصاویر کاری دشوار و یا غیرممکن خواهد بود.

مقالاتی زیادی در زمینه تشخیص ناهنجاری وجود ندارد، چون کیفیت عکس‌های گرفته شده از اسلایدهای بیماران به وسیله میکروسکوپ‌های نوری بسیار پایین است،

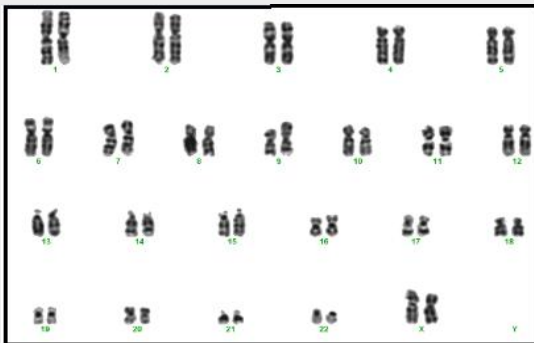


شکل (۲): الف. اختلال حذف ب. اختلال مضاعف شدن ج. اختلال جابجایی

در بخش ۲ به بررسی روش ارائه شده در این مقاله پرداخته‌ایم، در بخش ۳ نتایج بدست آمده را بیان نموده‌ایم.

۲- روش ارائه شده

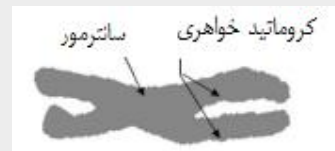
در این مقاله ۲۲ تصویر کاربوتایپ سالم و ۲۲ تصویر کاربوتایپ بیمار مورد استفاده قرار گرفته است. این تصاویر از افراد مراجعه کننده به مرکز سیتو ژنتیک بیمارستان فوق تخصصی شهید بهشتی همدان تهیه شده است، ضمناً این تصاویر کروموزومها توسط آنالیز گر جفت شده‌اند. (شکل ۳) و لذا تشخیص شماره کروموزوم در این روش مد نظر نمی‌باشد.



شکل (۳): تصویر یک کاربوتایپ

شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی بخش مهمی از تشخیص و درمان بیماری‌های مانند انواع سندرمها و سرطان‌ها است که امروزه این کار توسط تکنسین‌های آزمایشگاهی به صورت دستی انجام می‌گیرد. ۴۶ کروموزوم در سلول‌های سوماتیک یک انسان از ۲۳ جفت کروموزوم تشکیل شده است. از این ۲۳ جفت، ۲۲ جفت در مردان و زنان مشابه هستند که اتوزومها نامیده می‌شوند و بر اساس شماره از بزرگ‌ترین (کروموزوم شماره یک) تا کوچک‌ترین (کروموزوم ۲۱ و ۲۲) نام گذاری شده‌اند. یک جفت باقیمانده کروموزوم‌های جنسی است.

کروموزوم‌های یک سلول در حال تقسیم انسانی به سادگی در مرحله متافاز یا پرومتافاز آنالیز می‌شوند، در این مراحل کروموزومها در زیر میکروسکوپ به صورت یک گسترش کروموزومی قابل مشاهده هستند و هر کروموزوم به صورت ۲ کروماتید خواهری که در ناحیه سانترومر به هم متصل شده‌اند، دیده می‌شوند (شکل ۱). اکثر کروموزومها را می‌توان بر اساس طول آنها و همچنین به وسیله موقعیت سانترومر از یکدیگر متمایز نمود. سانترومر یا جمع شدگی اولیه یک نشانه استاندارد سیتولوژی است که کروموزوم را به دو بازوی کوتاه یا P و بازوی بلند یا q تقسیم می‌کند. [5]



شکل (۱): کروموزوم شماره یک انسان

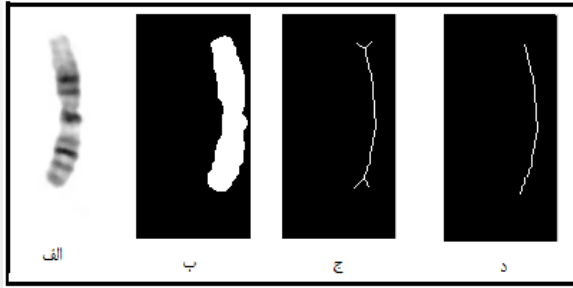
تکنیک‌های گوناگونی برای شناسایی کروموزومها وجود دارد، در بین این تکنیکها روش رنگ آمیزی گیمسا (G-Banding) به طور گسترده انجام می‌شود. در این تکنیک هر جفت کروموزوم به صورت الگویی از نوارهای تیره و روشن رنگ آمیزی می‌شود.

اختلالات کروموزومی انواع مختلفی دارد، در این مقاله به بررسی ۳ اختلال ساختمانی کروموزوم شامل اختلال حذف، مضاعف شدن و جابجایی پرداخته‌ایم.

در اختلال حذف، تکه‌ای از کروموزوم از چرخه تقسیم سلولی حذف می‌شود (شکل ۲-الف)، در اختلال مضاعف شدن، تکه‌ای از کروموزومی دیگر به یک کروموزوم اضافه می‌شود (شکل ۲-ب) و در اختلال جابجایی قسمتی از دو کروموزوم با یکدیگر مبادله می‌شود (شکل ۲-ج) [5].

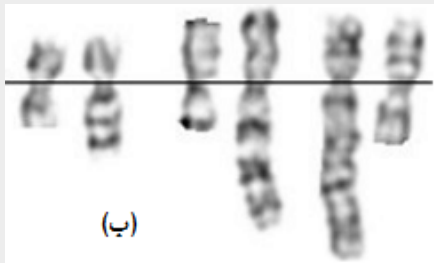
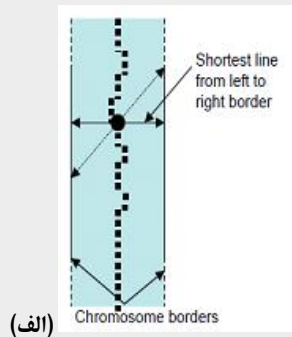
جهت تشخیص وجود هر یک از این ناهنجاری‌ها، بررسی‌های بصری کروموزومها در آزمایشگاه‌های ژنتیک انجام می‌شود، که این امر بسیار وقت گیر و خسته کننده است. علاوه بر این، احتمال خطای انسانی نیز بسیار بالاست.

کارهای متفاوتی برای تشخیص خودکار محل سانترومر انجام شده است، در مقاله [4] از تجزیه و تحلیل هیستوگرام برای تشخیص محل سانترومر استفاده شده است، در مقاله [3] یک الگوریتم بر پایه استخراج ویژگی‌های هندسی ارائه شده است، در مقاله [1] از روش‌های مبتنی بر گردآیدان استفاده شده، در مقاله [2] از الگوریتم dynamic time warping که در تشخیص گفتار استفاده می‌شود، برای تشخیص اختلال جابجایی کروموزومی استفاده شده است. اما به علت تنوع شکل کروموزومها نتایج



شکل (۵): الف. کروموزوم شماره ۱ ب. تصویر باینری بعد از عملیات مورفولوژی ج. پیدا کردن اسکلت تصویر د. پیدا کردن محور تصویر

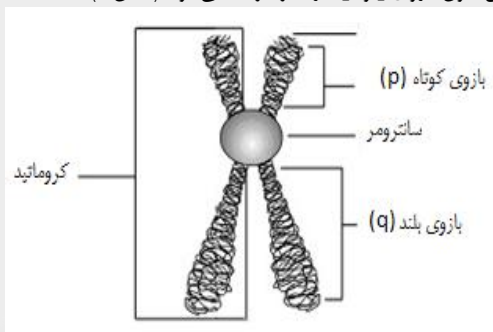
موقعیت سانترومر توسط مشخصات تراکم روی محور کروموزوم مشخص می‌شود که می‌توان سانترومر را کم‌ترین تراکم تعداد پیکسل‌های در طول کروموزوم دانست (شکل ۶).



شکل (۶): الف) تعیین محل سانترومر با توجه به تراکم پیکسل‌ها ب) محل سانترومر

۲-۲- محاسبه طول بازوها در تصاویر

بعد از مشخص کردن محل سانترومر، از این محل تا بالا و پایین به‌عنوان طول بازوی **p** و **q** در نظر گرفته می‌شود. (شکل ۷)



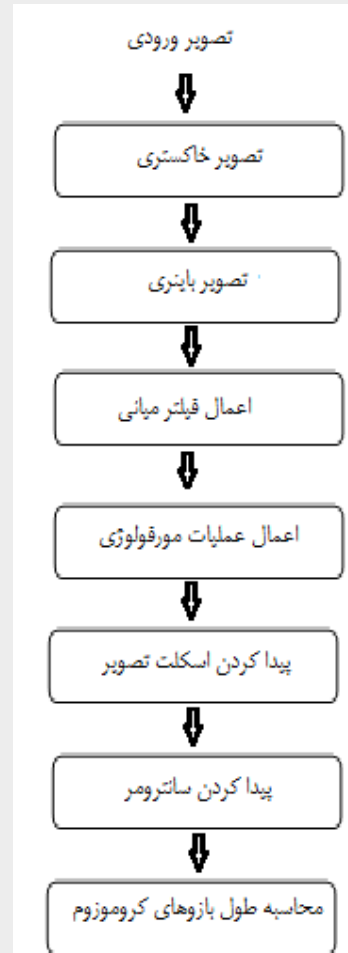
شکل (۷): نمایش یک کروموزوم

در روش ارائه شده، ابتدا محل سانترومر با استفاده از عملیات مورفولوژی مشخص، سپس میانگین و انحراف معیار هر کروموزوم را محاسبه و با استفاده از توزیع نرمال بدست آمده از داده‌های افراد سالم، مشخص شد کدام کروموزوم و در چه بازوی آن اختلال وجود دارد. در زیر بخش‌های ۱-۲ و ۲-۲ روش ارائه‌شده توضیح داده‌شده است.

۲-۱- پیدا کردن محل سانترومر

ابتدا یک تصویر **G-banding** از ورودی گرفته می‌شود، تصویر به یک تصویر خاکستری و سپس باینری تبدیل شده، از فیلتر میانی برای از بین بردن نویز استفاده‌شده و سپس از عملیات مورفولوژی بستن (**closing**) برای اصلاح لبه‌ها و درنهایت اسکلت کروموزوم استخراج، این اسکلت به‌عنوان محور اصلی کروموزوم استفاده می‌شود. در شکل ۴ فلوجارت روش نشان داده‌شده است.

در شکل ۵ نمونه‌ای از پیدا کردن اسکلت کروموزوم نشان داده‌شده است. لازم به ذکر است که شاخه‌های پایانی اسکلت تصویر حذف می‌شوند.



شکل (۴): فلوجارت پیدا کردن کروموزوم

(۰۶۰ و ۰۶۴) می باشد و مقایسه آن با نسبت نرمال به ناهنجار بودن کروموزوم ۱۶ مشخص شد.

در جدول (۱) نمونه‌ای از محاسبه طول و نسبت بازوها برای کروموزوم ۱۴، ۱۰ نفر نشان داده شده است، در جدول (۲) طول و نسبت بازوها برای کروموزوم ۱۴ دو بیمار که در این کروموزوم اختلال جابجایی رخ داده است را نشان می‌دهد.

۳- نتایج

روش ارائه شده برای شناسایی ناهنجاری ۲۳ جفت کروموزوم بکار می‌رود. به این منظور هر ۲۳ جفت کروموزوم مورد بررسی قرار گرفت. در جدول شماره (۳) میانگین و انحراف معیار طول و نسبت بازوهای کوتاه و بلند کروموزوم‌های ۱ تا ۲۳ نشان داده شده است. برای هر طول و نسبت بازوی هر کروموزوم با توجه به میانگین و انحراف معیار (نسبت بازوها) توزیع نرمال رسم می‌کنیم، اگر طول و نسبت بازوهای کروموزوم از این سه توزیع (توزیع مربوط به بازوی کوتاه، توزیع مربوط به بازوی بلند و توزیع مربوط نسبت دو بازو) تبعیت نکند، مشخص است که فرد دارای اختلال کروموزومی است.

جدول (۳): مقادیر اندازه گیری شده از میانگین، انحراف معیار، طول و نسبت بازوها در کروموزوم های نرمال

| کروموزوم | میانگین بازوی کوتاه | انحراف معیار بازوی کوتاه | میانگین بازوی بلند | انحراف معیار بازوی بلند | p/q | انحراف معیار p/q |
|----------|---------------------|--------------------------|--------------------|-------------------------|------|------------------|
| ۱ | ۸۴ | ۱۳,۷ | ۹۰,۶۹ | ۱۴,۹۰ | ۰,۹۳ | ۰,۱۴ |
| ۲ | ۶۵,۲ | ۶,۸ | ۱۰۴,۷ | ۸,۹ | ۰,۶۲ | ۰,۰۳ |
| ۳ | ۶۳ | ۱۰,۲۹ | ۷۸,۶۶ | ۱۰,۸۷ | ۰,۸۰ | ۰,۰۱ |
| ۴ | ۳۹,۶ | ۶,۹ | ۹۲,۲۵ | ۹,۳ | ۰,۴۳ | ۰,۰۶ |
| ۵ | ۳۶,۳ | ۴,۳ | ۹۴,۲۵ | ۹,۶۶ | ۰,۳۸ | ۰,۰۴ |
| ۶ | ۴۲,۰ | ۷,۱ | ۷۶,۳۷ | ۱۰,۲۱ | ۰,۵۵ | ۰,۰۹ |
| ۷ | ۴۰,۵ | ۶,۹ | ۶۸,۸۱ | ۸,۹ | ۰,۵۹ | ۰,۰۸ |
| ۸ | ۳۳,۶ | ۵,۷۵ | ۶۶,۱۶ | ۱۱,۱۹ | ۰,۵۱ | ۰,۱۰ |
| ۹ | ۳۵,۱ | ۴,۵۷ | ۷۲,۱۶ | ۳,۱۸ | ۰,۴۸ | ۰,۰۶ |
| ۱۰ | ۳۳,۶ | ۶,۲۵ | ۶۲,۸۳ | ۸,۴۲ | ۰,۵۳ | ۰,۰۴ |
| ۱۱ | ۴۲,۱ | ۹,۲۳ | ۶۲,۸۳ | ۷,۰۵ | ۰,۶۷ | ۰,۱۷ |
| ۱۲ | ۲۹,۶ | ۵,۱۲ | ۶۴,۱۶ | ۱۰,۶۸ | ۰,۴۶ | ۰,۰۳ |
| ۱۳ | ۲۱,۷ | ۷,۹ | ۶۰,۸۳ | ۱۲,۴ | ۰,۴۰ | ۰,۲۶ |
| ۱۴ | ۲۱,۳ | ۴,۹ | ۶۶,۵ | ۷,۱ | ۰,۳۲ | ۰,۰۹ |
| ۱۵ | ۲۱,۲ | ۷,۹ | ۵۵,۷ | ۱۲,۵ | ۰,۴۱ | ۰,۲۳ |
| ۱۶ | ۲۶,۷ | ۴,۶۴ | ۴۱,۱۱ | ۹,۱ | ۰,۶۲ | ۰,۰۲ |
| ۱۷ | ۲۲,۹ | ۳,۹ | ۴۳,۷۵ | ۸,۱۴ | ۰,۵۴ | ۰,۱۳ |
| ۱۸ | ۲۲,۱ | ۵,۹ | ۳۸,۷۲ | ۹,۱۸ | ۰,۶۲ | ۰,۰۳ |
| ۱۹ | ۲۳,۱ | ۶,۸۲ | ۳۷,۵ | ۱۲,۶۱ | ۰,۷ | ۰,۳۳ |
| ۲۰ | ۲۴,۶ | ۳,۴ | ۳۰,۲۵ | ۴,۱ | ۰,۸۲ | ۰,۰۱ |
| ۲۱ | ۱۵,۳ | ۰,۸۷ | ۳۲,۰۶ | ۵,۹۳ | ۰,۴۹ | ۰,۰۹ |
| ۲۲ | ۱۷ | ۳,۳۴ | ۳۴,۶۶ | ۸,۱۴ | ۰,۵۲ | ۰,۲۱ |
| x | ۴۱,۸ | ۵,۰۸ | ۶۵,۳۷ | ۷,۸۷ | ۰,۶۴ | ۰,۰۵ |
| y | ۱۵ | ۰ | ۳۰,۱۱ | ۶,۹ | ۰,۵ | ۰,۰۹ |

جدول (۱): محاسبه طول و نسبت بازوی کوتاه و بلند در کروموزوم شماره ۱۴ در ۱۰ فرد سالم

| فرد | اندازه بازوی کوتاه (p) | اندازه بازوی بلند (q) | نسبت p/q |
|-----|------------------------|-----------------------|----------|
| ۱ | ۲۵ | ۷۵ | , |
| ۲ | ۲۵ | ۶۹ | , |
| ۳ | ۲۵ | ۷۴ | , |
| ۴ | ۲۵ | ۵۴ | , |
| ۵ | ۲۳ | ۶۰ | , |
| ۶ | ۱۵ | ۶۵ | , |
| ۷ | ۱۵ | ۷۳ | , |
| ۸ | ۱۵ | ۶۴ | , |
| ۹ | ۲۵ | ۶۹ | , |
| ۱۰ | ۱۵ | ۶۴ | , |

جدول (۲): محاسبه طول و نسبت بازوی کوتاه و بلند در کروموزوم شماره ۱۴، دو فرد بیمار

| فرد | اندازه بازوی کوتاه (p) | اندازه بازوی بلند (q) | نسبت p/q |
|-----|------------------------|-----------------------|----------|
| ۱ | ۵۲ | ۶۶ | ۰,۷۸ |
| ۲ | ۱۵ | ۴۶ | ۰,۳۲ |

در شکل (۸) نمونه‌ای از کروموزوم‌های ناهنجار نشان داده شده است.



شکل (۸): دو کروموزوم ناهنجار شماره ۸ و ۱۶، که جابجایی بین آنها اتفاق افتاده

باتوجه به انحراف معیار تعریف شده در جدول ۳ برای کروموزوم نرمال شماره ۸، نسبت p/q در صورتی که در دامنه (۰,۴۱ و ۰,۶۱) باشد، کروموزوم به صورت نرمال شناخته می‌شود، در غیر اینصورت همانند مقدار نسبت p/q در جدول ۴ که برابر ۰,۷۱ است، نشان دهنده ناهنجار بودن این کروموزوم است. همچنین باتوجه به مقدار انحراف معیار، در کروموزوم ۱۶ که در دامنه



length." *Point-of-Care Healthcare Technologies (PHT)*, 2013 IEEE. IEEE, 2013.

- [4] Moradi, Mehdi, Seyed Kamaledin Setarehdan, and S. R. Ghaffari. "Automatic locating the centromere on human chromosome pictures." *Computer-Based Medical Systems, 2003. Proceedings. 16th IEEE Symposium*. IEEE, 2003.
- [5] Strachan, Tom, and Andrew Read. *Human molecular genetics*. Garland Science, 2010.

جدول (۴): محاسبه طول و نسبت بازوی کوتاه و بلند ، چند فرد بیمار

| نسبت p/q | اندازه بازوی بلند (q) | اندازه بازوی کوتاه (p) | فرد با اختلال در کروموزوم شماره |
|-------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| ۱,۲ | ۷۵ | ۹۱ | ۳ |
| ۰,۷۱ | ۷۱ | ۵۱ | ۸ |
| ۰,۱۴ | ۷۰ | ۱۰ | ۱۴ |
| ۰,۴۴ | ۳۴ | ۱۵ | ۱۶ |
| ۰,۶۹ | ۳۶ | ۲۵ | ۲۰ |

۴ - نتیجه گیری:

در این مقاله، روشی برای تشخیص ناهنجاریهای کروموزومی با استفاده از تصاویر جفت شده ارائه شد. این روش بر اساس پردازش تصاویر کاربوتایپ و بدست آوردن محل سانترومر است. سپس با استفاده از محاسبه توزیع نرمال برای هر طول بازوی بلند و کوتاه هر کروموزوم و نسبت آنها، ناهنجاری تشخیص داده شده است.

در این روش وجود همه انواع ناهنجاری در کاربوتایپ های انسانی قابل تشخیص است به جز در مواردی که ترانسلوکاسیون (جابجایی) بین دو قطعه از کروموزوم که دارای اندازه کاملاً مشابه در دو بازوی نظیر هم (p یا q) هستند قابل استفاده نیست. ضمناً کاربوتایپ های سالم را نیز به درستی، سالم تشخیص می دهد. از مزایای این روش نسبت به روش های قبلی این است که کیفیت تصویر تأثیری چشم گیری در نتیجه نهایی ندارد، چون از ویژگی های اصلی کروموزوم ها ((طول بازوهای بلند و کوتاه-موقعیت سانترومر) جهت خودکار سازی تشخیص ناهنجاری استفاده نشده است.

امید است با مطالعات بعدی انجام گرفته در این زمینه که در آینده انجام می شود، این روش بهبود یابد.

مراجع

- [1] Arachchige, Akila Subasinghe, et al. "An image processing algorithm for accurate extraction of the centerline from human metaphase chromosomes." *Image Processing (ICIP), 2010 17th IEEE International Conference on*. IEEE, 2010.
- [2] Legrand, Benoît, et al. "Automated identification of chromosome segments involved in translocations by combining spectral karyotyping and banding analysis." *Systems, Man and Cybernetics, Part A: Systems and Humans, IEEE Transactions on* 38.6 (2008): 1374-1384.
- [3] Loganathan, E., M. R. Anuja, and N. Madian. "Analysis of human chromosome images for the identification of centromere position and