تحلیل تصاویر ریزآرایه به منظور تشخیص نوع سرطان سینه

نسترن دهقان: دانشجوی ارشد هوش‌مصنوعی، دانشکده مهندسی کامپیوتر، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران. dehghan_nastaran@shahroodut.ac.ir
***حمید حسن‌پور**: استاد و متخصص پردازش سیگنال، دانشکده مهندسی کامپیوتر، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران (*نویسنده مسئول). h.hassanpour@shahroodut.ac.ir
محمدرضا عباس‌زادگان: استاد و متخصص ژنتیک انسانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. abbaszadeganmr@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: فناوری ریزآرایه به عنوان ابزاری بسیار قدرتمند جهت مطالعه و تحلیل رفتار هزاران ژن به طور همزمان می‌باشد. تصاویر حاصل از فناوری ریزآرایه نقش مهمی در کشف و درمان بیماری‌ها دارند. هدف از این پژوهش، ارائه یک روش خودکار جهت استخراج و تحلیل داده‌ها از تصاویر ریزآرایه به منظور تشخیص بیماری‌های سرطانی می‌باشد.

روش کار: سیستم پیشنهادی شامل سه فاز اصلی پردازش تصویر، داده‌کاوی و شناسایی بیماری می‌باشد. در فاز پردازش تصویر عملیاتی مانند شناسایی مکان ژن‌ها، حذف پس‌زمینه و استخراج داده‌های خام از تصویر انجام می‌گیرد. فاز دوم شامل نرمال‌سازی داده‌های استخراج شده و انتخاب ژن‌های مؤثرتر می‌باشد. در فاز سوم، با توجه به داده‌های استخراج شده عمل شناسایی و تشخیص بیماری انجام می‌گیرد.

یافته‌ها: در این پژوهش مجموعه تصاویر ریزآرایه سرطان سینه از پایگاه داده دانشگاه استنفورد مورد استفاده قرارگرفته است. دقت روش پیشنهادی جهت تعیین مکان ژن‌ها و تشخیص نوع سرطان سینه به ترتیب بالغ بر ۹۸٪ و ۹۵/۴۵٪ می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده از این روش نسبت به دیگر روش‌های موجود در زمینه تحلیل تصاویر و داده‌های ریزآرایه از دقت بالاتری برخوردار است؛ همچنین نسبت به آزمایش‌های بیولوژی از دسترسی آسان‌تر و هزینه کمتری برخوردار است.

کلیدواژه‌ها: ریزآرایه، پردازش تصویر، داده‌کاوی، سرطان سینه

مقدمه

در سال‌های اخیر، استفاده از فناوری ریزآرایه (Microarray) امکان بررسی هزاران ژن را به طور همزمان فراهم کرده است. به طور ساده "ریزآرایه" عبارت است از فناوری بررسی ده‌ها، صدها و هزاران ژن می‌باشد. به هر ژن بر روی تراشه ریزآرایه یک خال گفته می‌شود. فناوری ریزآرایه به دو بخش کلی انجام آزمایش بالینی و تحلیل تصاویر حاصل از آزمایش تقسیم می‌شود. این دو بخش لازم و ملزوم یکدیگر هستند. تحلیل تصاویر ریزآرایه شامل سه قاز اصلی پردازش تصویر، داده‌کاوی و شناسایی بیماری می‌باشد. در فاز پردازش تصویر، کمی‌سازی تصاویر ریزآرایه در سه مرحله شبکه‌بندی (Gridding)، قطعه‌بندی و استخراج داده انجام می‌شود. شبکه‌بندی تصویر به معنی شناسایی موقعیت هر خال در تصویر می‌باشد. از مهم‌ترین روش‌های شبکه‌بندی می‌توان به روش استفاده از ماشین بردار پشتیبان (Support Vector Machine-(SVM)) اشاره کرد (۱). در این روش خال‌های شناسایی شده توسط تکنیک‌های لبه‌یابی به عنوان داده‌ی ورودی به یک ماشین بردار پشتیبان اعمال می‌شوند. خط جدا کننده، فاصله‌ی مابین سطر و ستون خال‌ها را تخمین می‌زند. در صورت عدم‌شناسایی موقعیت تقریبی خال‌ها، روش بیان شده به درستی عمل نمی‌کنند. در پژوهشی دیگری (۲) برای شناسایی موقعیت هر خال، از محاسبه هیستوگرام تصویر به کمک تکنیک‌های حدآستانه استفاده شده است. این روش برای تصاویر نویزیاز دقت پایینی برخوردار است. همچنین در (۳) فرض می‌شود که

تمامی خال‌ها در فواصل برابری از یکدیگر قرار گرفته‌اند. در این روش ابتدا تصاویر ورودی به تصاویر دودویی تبدیل می‌شوند، سپس مجموع سطرها / ستون‌های آن محاسبه می‌شود. مقادیر نزدیک به صفر نماینده فضای خالی مابین دو خال می‌باشند. میانگین این فواصل خالی، به عنوان فاصله مابین تمامی خال‌ها در نظر گرفته می‌شود.این روش نیز از دقت پایینی برخوردار است.درمرحله قطعه‌بندی، تصاویر به دو دسته پیش‌زمینه (Forground) و پس‌زمینه (Backgorund) تقسیم می‌شوند. ناحیه‌ی اول شامل نقاط متعلق به خال‌ها بوده و ناحیه‌ی دوم شامل فضای موجود در اطراف خال‌ها می‌باشد. مشهورترین تکنیک‌های قطعه‌بندی شامل: قطعه‌بندی براساس دایره ثابت (Fixed Circle Segmentation)، قطعه‌بندی براساس شکل وقفی (Adaptive Shape Segmentation)، قطعه‌بندی براساس هیستوگرام (Segmentaion Histogram) و قطعه‌بندی براساس دایره وقفی (Adaptive Circle Segmentation) می‌باشند. این روش‌ها در نرم‌افزارهای ScanAlyze و GenePixمورد استفاده قرار می‌گیرند (۴, ۵). در برخی از پژوهش‌ها با استفاده از تکنیک‌های خوشه‌بندی، عمل قطعه‌بندی خال‌ها صورت می‌گیرد؛به عنوان نمونه در (۶) با در نظر گرفتن دو خوشه خال‌های موجود در تصویر به روش K_means قطعه‌بندی می‌شوند. روش مذکور برای تصاویری که دارای نویز بالایی هستند یا خال‌های موجود، شدت روشنایی پایینی دارند به خوبی عمل نمی‌کند. دریک پژوهش انجام شده در (۷) از سه خوشه برای قطعه‌بندی استفاده می‌شود. خوشه‌ای که کمترین مقدار را دارد به عنوان پس‌زمینه و دو خوشه دیگر به عنوان پیش‌زمینه تعریف می‌شوند. در گام آخر از پردازش تصویر، میزان روشنایی متناسب با سطح خاکستری هر یکاز خال‌ها استخراج و سطح بیان آن‌ها با مقایسه دو نمونه در کانال سبز و قرمز از تصویر (نمونه سرطانی و سالم) محاسبه می‌شود (۸). چندین نرم‌افزار برای کمی‌سازی تصاویر ریزآرایه به بازار عرضه شده است که تمامی آن‌ها به صورت نیمه‌خودکار عمل می‌کنند. در شرایطی که تصاویر دارای خرابی‌هایی مانند نویز و زاویه چرخش نباشند، این نرم‌افزارها از کارایی خوبی برخوردار خواهند بود. از مهم‌ترین این نرم‌افزارها می‌توان GenePix، ScanAlyze و ImaGene اشاره نمود (۵, ۹, ۱۰).

با کمی‌سازی داده‌ها در فاز پردازش تصاویر، حجم زیادی از ویژگی‌ها (ژن) استخراج می‌شود. بنابراین در فاز دوم باید قبل از عمل دسته‌بندی با کمک تکنیک‌های داده‌کاوی ژن‌های مفید و تاثیرگذار از بین هزاران ژن انتخاب شوند؛ تا بتوان عملیات دسته‌بندی را بهتر انجام داد. در فاز سوم، دسته‌بندی (Classification) داده‌های ریزآرایه جهت تشخیص نوع سرطان، با استفاده از الگوریتم‌های موجود در یادگیری ماشین انجام می‌شود که به منظورتعیین مرحله‌ی درمانی بیمار یا تجویز دارو نقش به‌سزایی دارد. Golub و همکارانش در سال ۱۹۹۹ به عنوان پیشگامان طبقه‌بندی سرطان به وسیله داده‌های بیان ژن ریزآرایه، احتمال تشخیص سرطان را با روش‌های آماری نشان دادند (۱۱). همچنین در (۱۲) با استفاده از ماشین بردار پشتیبان توانستند نمونه‌های سالم از توموری را از هم مجزا کنند. در پژوهش دیگر با استفاده از الگوریتم k نزدیک‌ترین همسایه به صورت فازی داده‌های ریزآرایه خود را دسته‌بندی کرده‌اند (۱۳). برخی محققین برای بهبود نتایج، از ترکیب دسته‌بندی کننده‌های متفاوت استفاده می‌کنند، همانند (۱۴) که با ادغام دو روش بردار ماشین پشتیبان و شبکه عصبی فازی داده‌های خود را دسته‌بندی می‌کنند.

هدف از این تحقیق، ارائه یک سیستم خودکار جهت استخراج اطلاعات از تصاویر ریزآرایه و دسته‌بندی داده‌ها به منظور تشخیص نوع سرطان سینه می‌باشد. در این سیستم در گام پردازش تصویر با اعمال تکنیک‌های آستانه‌گذاری نظیر اتسو (Otsu) موقعیت خال‌ها شناسایی می‌شود (۱۵). سپس با بکارگیری روش منظم‌سازی تغییرات کلی (Total Variation Regularization (TV)) و حداقل‌سازی نرمL1 (۱۶) میزان پس‌زمینه هر خال شناسایی و از تصویر اصلی حذف می‌گردد و بدین ترتیب خال‌ها قطعه‌بندی

می‌شوند. در نهایت بامحاسبه‌ی مقادیر شدت روشنایی هر خال و مقایسه ژن‌ها در هر نمونه (نمونه سالم و سرطانی) میزان بیان آن‌ها محاسبه می‌گردد. برای انجام دسته‌بندی نوع سرطان، ابتدا از بین ژن‌های موجود ۱۰۰ ژن مؤثرتر با کمک روش بهره اطلاعاتی مشخص می‌شوند. در نهایت این سیستم با تشکیل یک درخت تصمیم J48 برای دسته‌بندی و شناسایی نوع سرطان سینه در دو زیرکلاس می‌تواند اطلاعات به دست آمده را به صورت خودکار تحلیل نماید.

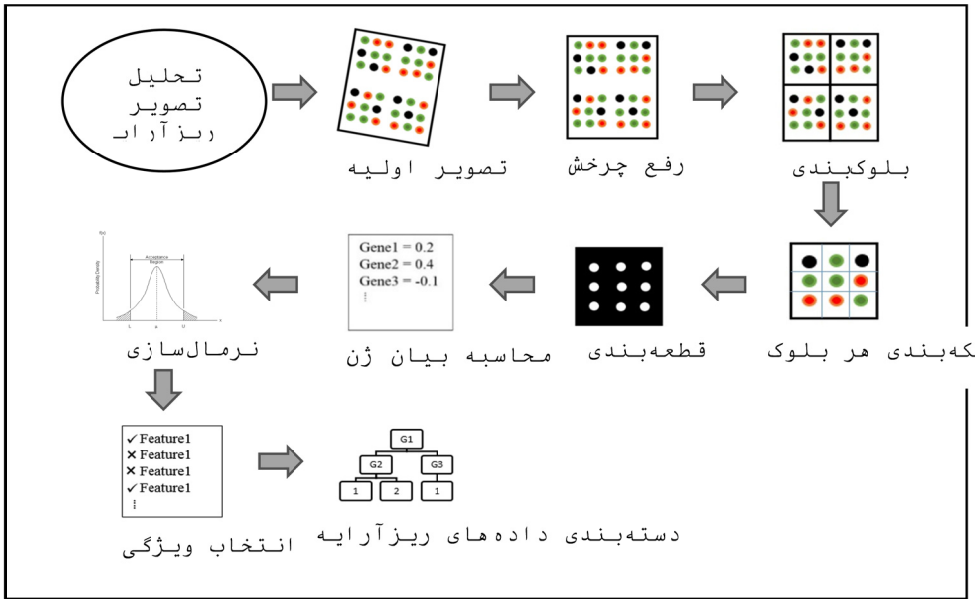
در این مقاله ابتدا در بخش دوم روشی برای تحلیل تصاویر ریزآرایه معرفی می‌گردد. سپس یافته‌های حاصل از پژوهش در بخش سوم بررسی و تحلیل می‌شوند. بخش پنجم نیزبه بحث و نتیجه‌گیری کلی در مورد روش پیشنهادی پرداخته می‌شود.

روش کار

مطالعات صورت گرفته دراین پژوهش مربوط به تصاویر ریزآرایه سرطان سینه تهیه شده از دانشگاه استنفورد می‌باشد (۱۷). هرتصویررنگی ریزآرایه، به دو تصویرخاکستری مربوط به کانال قرمزوسبزتقسیم می‌شود. کانال قرمز نماینده ژن‌های بیمار وکانال سبز نماینده ژن‌های فرد سالم می باشد و درقالب عدد صحیح دو بایتی نمایش داده می‌شوند. هر نمونه از تصاویر شامل ۴۱۷۶۰ ژن می‌باشد. این پایگاه داده شامل ۷۱ تصویر ریزآرایه می‌باشد که ۲۲ نمونه آن مربوط به سرطان سینه خوش‌خیممی‌باشند (۱۸) و مابقی داده‌ها مربوط به نمونه‌های سرطانی است که تومور به صورت موضعی و حاد پیشرفت داشته است (۱۹). در سیستم طراحی شده داده‌های سرطان سینه به دو دسته آموزش و آزمایش تقسیم می‌شوند. از این مجموعه داده ۴۹ (تقریباً ٪۷۰) نمونه به عنوان مجموعه آموزش و ۲۲ (تقریباً ٪۳۰) نمونه به عنوان مجموعه آزمایش در نظر گرفته می‌شود.

در این قسمت، سیستمی برای کمی‌سازی تصاویر ریزآرایه، تحلیل و دسته‌بندی داده‌های خام حاصل از این تصاویر ریزآرایه با استفاده از تکنیک‌های پردازش تصویر، داده‌کاوی و یادگیری ماشین ارائه می‌شود. ورودی این سیستم، تصویر ریزآرایه و خروجی آن دسته‌بندی نوع تومور سرطان سینه در آزمون بیمار می‌باشد (شکل ۱).

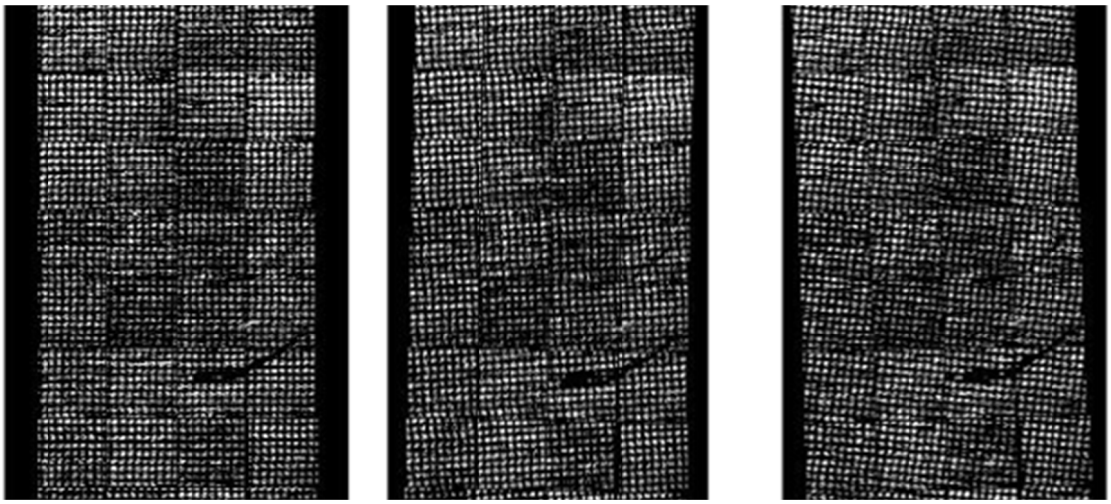
برخی از تصاویر ریزآرایه دارای چرخش می‌باشند؛ بنابراین در مرحله اول میزان چرخش تصویر با استفاده از روش تبدیلات رادن (Transform Radon) تشخیص و اصلاح لازم بر



شکل ۱- شمای کلی ازسیستم ارائه شده برای تحلیل تصاویر ریزآرایه

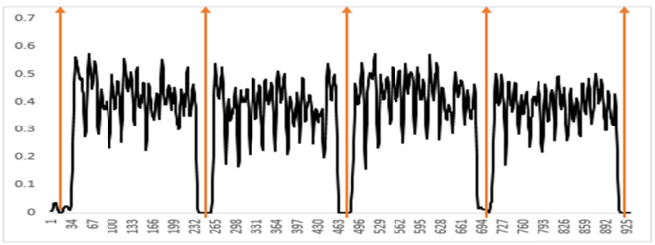
روی آنان صورت گیرد (۲۰-۲۲). با توجه به اینکه زاویه چرخش تصاویر ریزآرایه بسیار اندک است، بنابراین برای محاسبه میزان چرخش تبدیل رادن برای هر یک از تصاویرمابین زاویه °۱- تا °۱+ محاسبه می‌شود. با پیدا کردن حداکثر مقدار رادن، مقدار زاویه چرخش تشخیص داده می‌شود. برای درک بهتر اثر تبدیلات رادن بر روی تصاویر ریزآرایه مثالی در شکل (۲) نمایش داده شده است. در این نمونه ابتدا بخشی از تصویری با زاویه چرخش صفر درجه انتخاب، سپس به صورت دستی در دو زاویه‌ی °۱٫۵ و °۱٫۵-، در جهت عقربه ساعت و عکس آن چرخانده (شکل ۲- الف-ب)، سپس به کمک الگوریتم تبدیلات رادن میزان انحراف زاویه در تصویر تشخیص و سپس تصحیح می‌گردد (شکل ۲- ج). سپس، در مرحله دوم تعداد بلوک‌ها محاسبه و موقعیت آن‌ها در تصویر شناسایی می‌شود. بدین منظورمجموع شدت روشنایی هر سطر / ستون از پیکسل‌ها در تصویر محاسبه و هیستوگرامی سطری/ ستونی همانند شکل (۳) رسم می‌شود. در این پژوهش با استفاده از یافتن کمترین مقدار محلی، حدآستانه هر بلوک مشخص می‌شود.

با توجه به اینکه هر بلوک شامل چندین خال می‌باشد، تعیین موقعیت هر خال در یک زیر بلوک، هدف اصلی مرحله سوم می‌باشد. در این مرحله ابتدا میانگین شدت روشنایی پیکسل‌های افقی / عمودی تصویر محاسبه و هیستوگرام آن رسم می‌شود (شکل ۴- الف). سپس برای یافتن الگوهای تکراری نظیر سیگنال تناوبی در شکل (۴- الف) که تحت نویز تصویر قرار گرفته است، از رابطه خود همبستگی (Autocovariance) استفاده می‌گردد. پس از اعمال رابطه خودهمبستگی، مجدداً تابع یک بعدی نظیر شکل (۴-ب) حاصل می‌شود. سپس نقاطی که دارای بیشینه محلی هستند مشخص گردیده و میانگین آن‌ها تخمین زده می‌شود. میانگین این مقادیر، نشان‌دهنده فاصله تقریبی بین بیشترین و کمترین مقادیر متوالی محلی در هیستوگرام شکل (۴-الف)

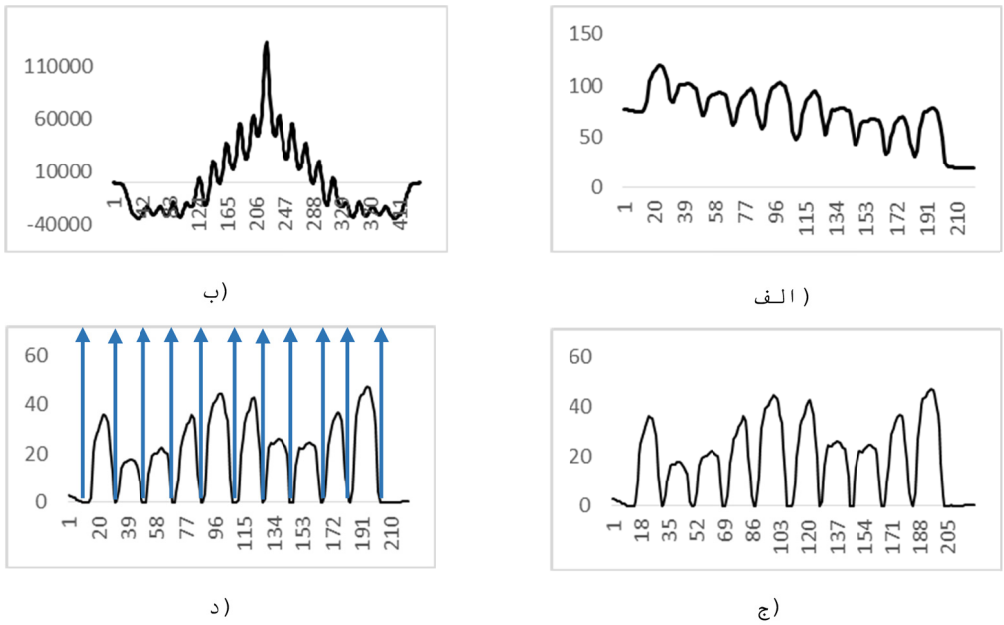


(الف) (ب) (ج)

شکل ۲- نمایش تشخیص و تصحیح زاویه چرخش تصویر ریزآرایه. الف) چرخش تصویر با زاویه°۱/۵+. ب) چرخش تصویر با زاویه°۱/۵-. ج) تصحیح زاویه چرخش به کمک روش رادن.



شکل۳- تعیین محدوده‌ی بلوک‌ها با استفاده از هیستوگرام سطری تصویر.



شکل ۴- نحوه تعیین موقعیت خال‌ها در یک بلوک از تصویر ریزآرایه. الف) رسم هیستوگرام عمودی مربوط به یک بلوک در تصویرریزآریه. ب) رسم تابع خودهمبستگی حاصل از هیستوگرام عمودی مربوط به تصویرریزآرایه. ج) حذف نویز به کمک تابع خود همبستگی و با اعمال عملگر ریخت‌شناسی بر روی هیستوگرام عمودی اولیه تصویر و ترسیم منظم هیستوگرام. د) تخمین فواصل مابین خال‌ها و رسم خطوط به کمک روش اتسو.

می‌باشد. مقدار میانگین محاسبه شده به منظور یافتن الگوی تکراری در هیستوگرام اولیه، توسط عملگرهای ریخت‌شناسی استفاده می‌شود. برای حذف نویز هیستوگرام اولیه از عملگر ریخت‌شناسی استفاده می‌گردد. با اعمال عملگر ریخت‌شناسی هیستوگرام منظمی همانند شکل (۴-ج) حاصل می‌شود. در نهایت برای شبکه‌بندی و شناسایی موقعیت خال‌ها بر روی هستوگرام بدست آمده، از روش حدآستانه اتسو (۲۳) استفاده شده و با تخمین فواصل خالی مابین خال‌ها و رسم خطوط عمودی مابین آن‌ها، موقعیت هر یک از خال‌ها شناسایی می‌گردد (شکل ۴-د).

پس از شناسایی موقعیت هر خال، قطعه‌بندی برروی تصویرصورت می‌گیرد. وجود پس‌زمینه ناهموار در تصویر ریزآرایه مهم‌ترین مشکل دراین مرحله تلقی می‌شود. در طی مطالعات صورت گرفته (۲۴) مقدار پس‌زمینه مربوط به مواد شیمیایی است که در زمان آزمایش بالینی بر روی تراشه باقی مانده‌اند. یکی از بهترین روش‌های موجود جهت تشخیص و حذف پس‌زمینه در تصاویر ریزآرایه، روش ترکیبی منظم‌سازی تغییرات کلی (Total Variation Regularization-TV) وحداقل‌سازی نرم L1 می‌باشد(۱۶).این روش در سال ۲۰۰۴ برای تجزیه تصویر به ویژگی‌های متفاوت معرفی شد (۲۵). در این روش تصویر خاکستری دو بعدی متشکل از دو قسمت می‌باشد. یک قسمتشامل رنگ پس‌زمینه و مرزهای مهم است و مابقی تصویر به عنوان بافت شناخته می‌شوند. این روش، میزان شدت سطح خاکستری مربوط به خال را برگردانده و پس‌زمینه تصویر را حذف می‌کند.

در مرحله پنجم پس از قطعه‌بندی خال‌ها، میزان شدت روشنایی متاسب با سطح خاکستری هر کدام به صورت مجزا محاسبه می‌شود. از آنجایی که دلیل اصلی بیماری سرطان ایجاد جهش ژنتیکی می‌باشد. برای تشخیص جهش کافی است شدت روشنایی دو نمونه سالم و توموری با هم مقایسه شوند. بدین منظور از معادله (۱) استفاده می‌شود.

$$Gene-expression = log2\left(\frac{int(cy5)}{int(cy3)}\right) = \log2\big(int(cy5)\big) - \log 2\big(int(cy3)\big) \quad (۱)$$

int(cy5) و *int(cy3)* به ترتیب نماینده شدت روشناییژن‌ها در نمونه‌های توموری و سالم می‌باشد. با کمی‌سازی داده‌ها در فاز پردازش تصاویر، حجم زیادی از داده‌های خام (ژن‌ها) از تصویر استخراج می‌شود که نیاز به پیش‌پردازش و مدیریت دارد. بدین منظور در مرحله ششم و هفتم، ویژگی‌های موجود در این مجموعه پس از نرمال‌سازی به کمک روش Lowess (Locally Weighted Linear Regression) (۲۶)، توسط روش بهره اطلاعاتی مورد بررسی قرار می‌گیرند. این روش، یک روش آماری جهت تعیین ارزش هر ویژگی در دسته‌بندی نمونه‌ها، براساس نتیجه مطلوب می‌باشد (۲۷). در آخرین مرحله الگوریتم درخت تصمیم‌گیری J48 به منظور طبقه‌بندی داده‌های ریزآرایه استفاده می‌شود. در این الگوریتم برای انتخاب ریشه از بین تمامی ویژگی‌ها از یک آزمون آماری استفاده می‌شود تا مشخص گردد هر ویژگی تا چه حد قادر است به تنهایی نمونه‌های آزمایشی را دسته‌بندی کند. به این منظور از آنتروپی و بهره اطلاعات استفاده می‌شود. به دنبال آن، عملیات فوق برای مثال‌های قرارگرفته در هر شاخه تکرار می‌شود تا بهترین ویژگی برای تمامی گره‌ها انتخاب شود. بعد از اتمام کار قواعد مورد نظر از بررسی ریشه تا برگ‌ها بدست می‌آیند. شکل کلی این قواعد به صورت زیر می‌باشد.

if gene(i) is Ai and…and gene(k)is Ak then class Cj

در قاعده بالا *Ai,…,Ak* مقادیر بیان ژن‌های *gene(i)…gene(k)*ست و Cj کلاس خروجی یا به عبارت دیگر نوع تومور را نشان می‌دهد.

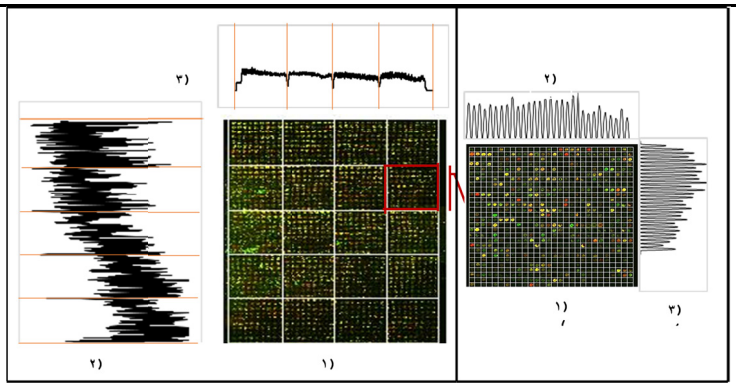
یافته‌ها

در این پژوهش یک روش تمام خودکار جهت استخراج و تحلیل اطلاعات از تصاویر ریزآرایه، برای تشخیص نوع سرطان سینه ارائه گردید. در این بخش عملکرد بخش‌های مختلف روش پیشنهادی بر روی تصاویر و داده‌های ریزآرایه مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد.

نتایج بلوک‌بندی و شبکه‌بندی: برای شناسایی محل بلوک‌ها و خال‌ها در تصاویر ریزآرایه از روش آستانه‌گذاری هیستوگرام استفاده شد (طبق شکل ۵). به منظور ارزیابی روش پیشنهادی‌در تعیین موقعیت بلوک‌ها و شناسایی مکان خال‌ها، الگوریتم

جدول ۱- محاسبه میانگین دقت روش پیشنهادی برای تعیین موقعیت بلوک‌ها و خال‌ها در سه تصویرریزآرایه.

نوع تصویر	تصویر با کیفیت خوب	تصویر با کیفیت متوسط	تصویر با کیفیت پایین
دقت بلوک‌بندی	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰
دقت شبکه‌بندی –تعیین موقعیت خال‌ها	٪۱۰۰	٪۹۸٫۸۳	٪۹۹٫۷۶



ش‌کل۵- تعیین موقعیت بلوک‌ها و خال‌ها دربخشی از یک تصویرریزآرایه، بخش (الف) مربوط به تعیین موقعیت بلوک‌ها و بخش (ب) مربوط به شناسایی موقعیت خال‌ها می‌باشد. (الف-۱) شناسایی موقعیت بلوک‌هادرتصویرریزآرایه. (الف-۲) نمایش هیستوگرام افقی ورسم خطوط مربوط به تعیین موقعیت بلوک‌ها. (الف-۳) رسم هیستوگرام عمودی ورسم خطوط مربوط به تعیین موقعیت بلوک.(ب-۱) شناسایی موقعیت خال‌ها در یک بلوک. (ب-۲) رسم هیستوگرام افقی برای تعیین موقعیت خال‌ها. (ب-۳) رسم هیستوگرام عمودی برای تعیین موقعیت خال‌ها.

جدول ۲- مقایسه میانگین خطای مربوط به قطعه‌بندی با اعمال روش‌های موجود و پیشنهادی.

روش تخمین پس‌زمینه	روش محلی	روش سراسری	روش ریخت‌شناسی	روش پیشنهادی
میانگین خطا	۳/۴	۸/۰۱	۴/۰۳	۱/۰۳

بر روی سه تصویر ریزآرایه مربوط به سرطان سینه با کیفیت‌های متفاوت آزمایش شده است. نتایج ارزیابی در جدول (۱) بیانگر دقت روش پیشنهادی بر روی سه تصویر می‌باشد. تعیین دقت شبکه‌بندی هر تصویر توسط معادله (۲) محاسبه می‌گردد.

$$\text{Accuracy} = \left(\frac{\text{N(correctspot)}}{\text{N(total spot)}}\right) * 100 \quad (۲)$$

در معادله بالا تعداد خال‌هایی که به صورت صحیح شبکه‌بندی شده‌اند N(correctspot)، با تعداد کل خال‌ها، N(total spot)، مقایسه می‌شوند.

نتایج قطعه‌بندی: برای تخمین پس‌زمینه، معروف‌ترین روش‌ها استفاده از عملگرهای ریخت‌شناسی، پس‌زمینه محلی و پس‌زمینه سراسری می‌باشد. این سه روش اغلب در سه نرم‌افزار ScanAlyze، GenePix و ImaGene به کار گرفته می‌شود؛ اما در این پژوهش روش ارائه شده نتایج خروجی آن همواره از روش‌های مذکور بهتر و دقیق‌تر است. برای درک بهتر هر چهار روش بر روی ماتریس یک خال اعمال (مطابق شکل ۶) و میانگین خطای متوسط (معادله ۴) محاسبه می‌گردد. برای عملگرهای ریخت‌شناسی از پنجره ۷×۷ استفاده می‌شود و ضریب لاگرانژ برای تخمین پس‌زمینه با مقدار تقریبی ۰/۳ انتخاب شده است. میانگین خطای متوسط شدت روشنایی هر تصویرمطابق معادله (۳) محاسبه می‌شود.

$$Accuracy = \sum_{i=1}^{m} \frac{\sum_{j=1}^{n} \left| u_{i,j}^{true} - u_{i,j}^{est} \right|}{m \times n} \quad (۳)$$

$u_{i,j}^{true}$ و $u_{i,j}^{est}$ به ترتیب مربوط به شدت روشنایی واقعی و تخمینی پس‌زمینه حاصل از اعمال الگوریتم پیشنهادی در ماتریس $m \times n$ می‌باشند. مقدار متوسط خطا در جدول (۲) نمایش داده می‌شود. با توجه به جدول (۲) روش پیشنهادی همواره از دیگر روش‌ها بهتر عمل می‌کنند.

نتایج استخراج ویژگی و شناسایی سرطان سینه: با اعمال بهره اطلاعات بر روی داده‌های استخراج شده از تصویر ریزآرایه، ۱۰۰ ژن مفید از پایگاه داده‌ی سرطان سینه به منظور دسته‌بندی داده‌ها استخراج شده است. در جدول (۳) از بین ۱۰۰ ژن، ده ژن برتر به همراه مقدار بهره اطلاعاتی‌شان نمایش داده می‌شود.

با شناسایی ژن‌های موثر، به کمک الگوریتم درخت تصمیم‌گیری نوع سرطان سینه شناسایی می‌شود. بدین منظور ۱۰۰ ژن برتر به عنوان داده‌های ورودی به درخت تصمیم‌گیری اعمال شده و خروجی آن بیان‌گر نوع سرطان سینه می‌باشد. پس از اعمال درخت J48، قواعد با خواندن از ریشه تا برگ نوشته می‌شود. مجموعه قوانین استخراج شده برای تشخیص نوع سرطان سینه از درخت J48 به صورت زیر در آمده است.

$$R1: if (gene_{11965} \leq -0.0903) then\ class\ 1$$
$$R2: if\ (gene_{11965} > -0.0903) and\ (gene_{5428} > 0.0467)\ and\ (gene_{11965} > 0.2532) then\ class\ 2$$
$$R3: if\ (gene_{11965} > -0.0903) and (gene_{5428} \leq 0.0467)\ then\ class\ 2$$
$$R4: if\ (gene_{11965} > -0.0903) and\ (gene_{5428} > 0.0467)\ and\ (gene_{11965} \leq 0.2532) then\ class\ 1$$

نتایج نشان می‌دهد که تنها با استفاده از چند ژن، نوع سرطان سینه شناسایی می‌شود. برای ارزیابی عملیات مورد نظر، از پارامتر دقت معادله (۴) استفاده می‌شود. در این روش داده‌های ریزآرایه مربوط به سرطان سینه با دقت ٪۹۵/۴۵ دسته‌بندی می‌شوند.

$$Accuracy = \frac{Number\ of\ Correct\ Classified\ Instance}{Number\ of\ All\ Instance} \quad (۴)$$

2	7	6	6	7	6	9	5	7	6	5	7	7
6	9	2	2	9	7	2	6	6	7	10	3	6
6	7	2	3	93	160	157	132	165	39	2	4	3
3	10	5	105	142	173	116	136	145	145	29	4	5
9	2	8	168	150	153	155	139	142	156	145	10	3
4	2	124	171	140	130	500	157	126	163	178	2	6
3	6	123	146	135	168	158	133	153	146	173	7	5
4	9	172	152	162	151	141	163	161	149	96	6	1
7	3	7	168	145	148	134	166	133	212	128	5	4
3	2	1	10	124	220	89	132	96	1	6	1	6
4	5	8	4	3	8	9	9	5	5	6	8	7
6	8	7	7	3	9	4	9	2	5	5	10	9

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	89	150	151	122	155	31	0	0	0
0	0	0	96	136	169	109	132	138	136	21	0	0
0	0	0	160	144	150	145	136	140	148	143	0	0
0	0	120	167	135	123	141	156	118	161	174	0	0
0	0	120	145	130	161	151	123	147	145	165	0	0
0	0	170	151	154	146	138	159	153	142	92	0	0
0	0	0	160	137	141	133	162	131	208	122	0	0
0	0	0	0	120	212	85	127	94	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

شکل۶- نمایش ماتریس یک خال.

الف) ماتریس واقعی خال بدون احتساب پس‌زمینه، ب) ماتریس خال به همراه پس‌زمینه ناهمگون.

جدول ۳- ده ژن برتر استخراج شده از سرطان سینه با اعمال روش بهره اطلاعات.

rank	Gene-number	IG value	rank	Gene-number	IG value
1	Gene-11965	0.707	6	Gene-7400	0.619
2	Gene-506	0.698	7	Gene-29826	0.573
3	Gene-38050	0.645	8	Gene-3144	0.565
4	Gene-9906	0.655	9	Gene-5428	0.565
5	Gene-34582	0.655	10	Gene-40030	0.559

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق، سیستمی برای تحلیل داده‌های ریزآرایه به منظور شناسایی نوع سرطان ارائه شد. این روش شامل سه فاز اصلی بوده که به ترتیب عبارتند از: پردازش تصویر به منظور کمی‌سازی تصویر، داده‌کاوی به منظور نرمال‌سازی و انتخاب ویژگی‌های مفید و در نهایت شناسایی نوع سرطان سینه. روش پیشنهادی بر روی پایگاه داده سرطان سینه اعمال شده است. در فاز اول، سیستم پیشنهادی برای تعیین محل دقیق بلوک‌ها، خال‌ها و قطعه‌بندی هر کدام از خال‌ها دارای عملکرد موفق‌آمیزی بوده است. این در حالی است که بسیاری از تصاویر ریزآرایه موجود، شامل خرابی‌هایی از جمله: وجود نویز فراوان در تصویر، چرخش تصویر، پایین بود میزان روشنای خال‌ها می‌باشد. بدین منظور ابتدا چرخش تصویر با دقت بالایی تشخیص و تصحیح می‌گردد، سپس محل دقیق بلوک‌ها در تصویر به صورت صحیح شناسایی شده و با توجه به خرابی‌های ذکر شده بیشتر از ۹۸٪ خال‌ها در تمامی تصاویر ریزآرایه به درستی شبکه‌بندی می‌شوند. در حالی‌که در فاز پردازش تصویر برای کمی‌سازی تصاویر ریزآرایه سه نرم‌افزار GenePix, ImaGene و ScanAlyze به بازار عرضه شده است، تمامی این نرم‌افزارها به صورت نیمه‌اتوماتیک عمل کرده و کاربر موظف است که برای شبکه‌بندی، موقعیت بلوک‌ها و فاصله مابین خال‌ها را به صورت دستی تعیین کند. روش پیشنهادی برای شبکه‌بندی تصاویر ریزآرایه به صورت تمام خودکار عمل کرده و نیاز به دخالت کاربر نمی‌باشد. همچنین در این نرم‌افزارها برای تخمین میزان پس‌زمینه از روش‌های رایج پس‌زمینه محلی، پس‌زمینه سراسری و ریخت-

جدول۴- مقایسه عملکرد الگوریتم‌های درخت تصمیم‌گیری برای تشخیص نوع تومور.

نوع درخت تصمیم‌گیری	دقت دسته‌بندها برای تشخیص نوع سرطان
	سرطان سینه
J48 Tree	٪ ۹۵/۴۵
Decision Stump	٪ ۶۶
LMT	٪ ۹۰/۴۷
Random Tree	٪ ۸۰/۹۵
Rep Tree	٪ ۸۵/۷۱

شناسی استفاده می‌شود. همان‌طور که مشاهده شد، این روش‌ها در مقابل روش پیشنهادی تخمین پس‌زمینه، ضعیف تر عمل می‌کنند و از دقت بالایی برخوردار نیستند. در نهایت، با استخراج داده‌های خام از تصویر ریزآرایه برای شناسایی نوع سرطان سینه از بین ژن‌های موجود، ۱۰۰ ژن مؤثرتر با استفاده از روش بهره اطلاعات انتخاب و به کمک درخت تصمیم‌گیری J48 ژن‌های برتر مورد تحلیل قرار می‌گیرند. میزان صحت طبقه‌بندی داده‌های سرطان سینه با تعداد چهار قانون با دقت ۹۵/۴۵٪ تخمین زده شده است. به منظور مقایسه درخت تصمیم‌گیری ارائه شده با دیگر درخت تصمیم‌گیری، دقت روش پیشنهادی به همراه چهار روش دیگر برای شناسایی سرطان سینه در جدول (۴) گزارش شده است. کارآیی روش پیشنهادی، برای مجموعه داده‌های موجود بالاتر می‌باشد. این سیستم به همراه قوانین استخراج شده، می‌تواند ابزار کمکی برای تحلیل و تشخیص بیماری سرطان سینه باشد و در درمان این بیماری پزشکان را یاری دهد. نتایج به دست آمده از این روش نشان می‌دهد که می‌توان از آن به عنوان یک سیستم مناسب برای شناسایی سرطان سینه استفاده نمود. همچنین به دلیل استفاده آسانتر و کم‌هزینه‌ترنسبت به آزمایش‌های بیولوژی، از این روش استفاده وسیع تری می‌توان به‌عمل آورد.

منابع

1. Bariamis D, Maroulis D, Iakovidis D.K, Automatic DNA microarray gridding based on Support Vector Machines, 8th IEEE International Conference on BioInformatics and BioEngineering, IEEE, 2008, p: 1-5.
2. Labib F.E.Z, Fouad I, Mabrouk M, Sharawy A. An efficient fully automated method for gridding microarray images. AJBE, 2012;2:115-9.
3. Harikiran J, RamaKrishna D, Avinash B, Lakshmi P, KiranKumar R, A new method of gridding for spot detection in microarray images.CEIS, 2014;5:25-33.
4. Eisen M, Microarray Image Analysis Software, ScanAlyze, Eisen Lab, http://www.eisenlab.org, Accessed Dec 1, 2015.
5. Instruments A, GenePix Pro 6.0 Microarray Acquisition and Analysis Software for GenePix Microarray Scanners User's Guide & Tutorial, Axon Instruments/ Molecular Devices Corp, Sunnyvale, CA, 2013.
6. Bozinov D, Rahnenführer J. Unsupervised technique for robust target separation and analysis of DNA microarray spots through adaptive pixel clustering. Bioinformatics 2002;18:747-56.
7. Wang T, Li T, Shao G, Wu S. An improved K-means clustering method for cDNA microarray image segmentation. GMR, 2015;14:7771-81.
8. Tarca A.L,Romero R, Draghici S. Analysis of microarray experiments of gene expression profiling, AJBM 2006;195:373-88.
9. Medigue C, ImaGene® 9.0 – Leading-Edge Microarray Analysis Software, BioDiscovery, http://www.biodiscovery.com, Accessed Dec 1, 2015.
10. Wallack D, Data Analysis with ScanAlyze, Department of Biology, Davidson College, Muhlenberg College, PA, http://www.bio.davidson.edu, Accessed Dec 1, 2015.
11. Golub T.R, Slonim D.K, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov J.P,et al, Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. Science 1999;286:531-7.
12. Ramaswamy S, Tamayo P, Rifkin R, Mukherjee S, Yeang CH, Angelo M, et al. Multiclass cancer diagnosis using tumor gene expression signatures. PNAS 2001;98:15149–54.
13. Halder A, Dey S, Kumar A. Active learning using fuzzy k-NN for cancer classification from microarray gene expression data. ACCS 2015;374:103-13.

14. Wang L, Chu F, Xie W, Accurate cancer classification using expressions of very few genes. IEEE/ACM, 2007;4:40-53.
15. Sreedevi A, Jangamashetti D, Automatically Locating Spots in DNAMicroarray Image Using Genetic Algorithm without Gridding, International Association of Computer science and Information Technology – Spring Conference, 2009,p: 178-181.
16. Yin W, Chen T, Zhou S.X, Chakraborty A. Background correction for cDNA microarray images using the TV+ L1 model. Bioinformatics 2005;21:2410-6.
17. Stanford Microarray Database, http://smd.stanford.edu/, Accessed Dec 1, 2015.
18. Kao J, Salari K, Bocanegra M, Choi Y.L, Girard L, Gandhi J, et al. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. Plos One 2009;4:e6146.
19. Bergamaschi A, Kim Y.H, Wang P, Sørlie T, Hernandez T, Lonning PE,et al, Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene_expression subtypes of breast cancer. GHC, 2006;45:1033-40.
20. Fouad IA. a new robust and automatic analytical approach for block indexing of cDNA Microarray image. IJCEA, 2014;5:1:16
21. Rueda L. Sub-grid detection in DNA microarray images, AIVT,2007;4872:248-59.
22. Rueda L, Rezaeian I. Afully automatic gridding method for cDNA microarray images. BMC Bioinformatics 2011;12:113.
23. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. Automatica 1975;11:23-7.
24. Uchida S, Nishida Y, Satou K, Muta S,Tashiro K,Kuhara S. Detection and normalization of biases present in spotted cDNA microarray data: a composite method addressing dye, intensity-dependent, spatially-dependent and print-order biases. DNA Res 2005;12:1-7.
25. Chan TF, Esedoglu S. Aspectsof total variation regularized L 1 function approximation. JAM, 2005;65:1817-37.
26. Yang B, Bao X. Identification of genes associated with laryngeal squamous cell carcinoma samples based on bioinformatic analysis. MMR, 2015;12:3386-92.
27. Dai J, Xu Q. Attribute selection based on information gain ratio in fuzzy rough set theory with application to tumor classification. ASP, 2013;13:211-21.

Microarray images analysis to detect breast cancer

Nastaran Dehghan, Msc of Computer Engineering, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. dehghan_nastaran@shahroodut.ac.ir
***Hamid Hassanpour**, PhD, Professor of Computer Engineering, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran (*Corresponding author). h.hassanpour@shahroodut.ac.ir
Mohammad Reza. Abbaszadegan, MD, Professor of Medical Genetics, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. abbaszadeganmr@mums.ac.ir

Abstract

Background: Microarray technology is a powerful tool to study and analyze the behavior of thousands of genes simultaneously. Images of microarray have an important role in the detection and treatment of diseases. The aim of this study is to provide an automatic method for the extraction and analysis of microarray images to detect cancerous diseases.

Methods: The proposed system consists of three main phases of image processing, data mining, and detection of disease. The image processing phase is accompanied with some operations such as identifying the location of genes, deleting the background, and extracting the raw data from the images. The second phase includes data normalization and selection of more effective genes. The disease is identified and recognized in the third phase using the extracted data.

Results: In this study it has been used from breast cancer microarray images from Stanford University database. The accuracy of the proposed method to locate genes and diagnosis of breast cancer is up to 98 and 95.45%, respectively.

Conclusion: The obtained results indicate that the proposed method is more accurate than other existing methods in microarray analysis. In addition, the proposed method is easily implemented and less costly compared to the clinical tests.

Keywords: Microarray, Image processing, Data mining, Breast cancer