

طراحی و ساخت نرم افزار Iran CDX برای تشخیص بدخیمی و دیسپلازی در نمونه های سیتولوژی با برس دهان و ارزیابی عملکرد آن

۱. دکترای تخصصی، گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
۲. نویسنده مسئول: گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
Email: arash.mottaghi@gmail.com
۳. گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴. دکترای تخصصی، دانشکده متالوژی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۵. گروه برق و کامپیوتر، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

سارا عرب لودریچ^۱

آرش متقی^۲

نوشین افشارمقدم^۳

بهزاد صادقیان^۴

مهدی ثمن بوی^۵

چکیده

مقدمه: تشخیص زود هنگام سرطان، به دلیل مرگ و میر بالای ناشی از آن، امری حیاتی است. ضایعات پیش سرطانی دهان، پتانسیل تبدیل به SCC (Squamous cell carcinomas) یا سرطان سلول سنگفرشی را دارند و باید بررسی شوند. برآش سیتولوژی، یک روش ساده است که نمونه ای از اپی تلیوم می دهد. آنالیز کامپیوتری، نقش مهمی در تفسیر نمونه های پاتولوژی دارد.

مواد و روش ها: نرم افزار مورد نظر، توسط گروه مهندسی در شبکه ی عصبی طراحی شد و توسط نمونه های تهیه شده از بیماران، آموزش دید. در مرحله ی بعد، از تعداد ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان و ۲۰ فرد سالم، نمونه ی برآش سیتولوژی تهیه شد. از هر لام، ۵۰ تصویر دیجیتال توسط دوربین زیر میکروسکوپ گرفته شد و وارد نرم افزار گردید. نتایج به صورت سالم و ناسالم ثبت گردید. داده ها توسط نرم افزار Excel مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

یافته ها: نرم افزار مورد مطالعه در کل ۲۰۰۰ تصویر دیجیتال، ۹۱ خطا داشت. مقایسه ی نتایج نرم افزار با نتایج اسکالپل بیوپسی بیماران، توسط آزمون فیشر، تفاوت معنی داری نشان نداد ($p \text{ value} = 0/004$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، نرم افزار طراحی شده، دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی می باشد.

کلید واژه ها: کارسینومای سلول سنگفرشی، شبکه ی عصبی، برآش سیتولوژی.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱۴

تاریخ اصلاح: ۱۳۹۷/۷/۲

تاریخ ارسال: ۱۳۹۷/۳/۲۳

استناد به مقاله: عرب لودریچ سارا، متقی آرش، افشارمقدم نوشین، صادقیان بهزاد، ثمن بوی مهدی. طراحی و ساخت نرم افزار Iran CDX برای تشخیص بدخیمی و دیسپلازی در نمونه های سیتولوژی با برس دهان و ارزیابی عملکرد آن. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان. ۱۳۹۷: ۱۴ (۴): ۳۵۸-۳۴۸.

مقدمه

سرطان دهان، یک مشکل جهانی است که بروز مرگ و میر ناشی از آن افزایش یافته است. این بیماری از شایع ترین سرطان‌ها در بسیاری از کشورها می باشد که طبق آمار، سالانه ۳۰۰ هزار نفر در جهان دچار آن می شوند (۱). با تشخیص زودهنگام سرطان دهان، کیفیت زندگی افراد افزایش می یابد که علت آن کاربرد درمان هایی با تهاجم کمتر است. بسیاری از سرطان های سلول سنگفرشی، از ضایعات پیش بدخیمی مثل لکوپلاکیا و اریتروپلاکیا و لیکن پلان منشأ می گیرد. بنابراین ضایعات دهانی بدون اتیولوژی مشخص، نیاز به ارزیابی برای رد دیسپلازی و کارسینوما دارند. متأسفانه طبق آمار، ۵۰ درصد بیماران به دلیل تشخیص دیر هنگام، دچار متاستاز شده اند. پروگنوز بیماران با کارسینوما سلول سنگفرشی با تشخیص زودهنگام بهتر است (۱، ۲). تشخیص زودهنگام ضایعات پیش بدخیم و سرطانی به بهبود بقا کمک می کند (۳).

شواهد محکمی وجود دارد که مشاهده، به تنهایی روش مناسبی برای تشخیص سرطان از ضایعات خوش خیم نیست (۴، ۵). استاندارد طلایی در تشخیص ضایعات بدخیم، Scalpel biopsy و بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه است. این یک روش تهاجمی است که مستلزم جراحی می باشد و محدودیت های حرفه ای برای جراح و مشکلات روانی را برای بسیاری از بیماران به همراه دارد (۶). یکی دیگر از محدودیت های این روش، تصمیم گیری برای انتخاب محل مناسب جهت تهیه نمونه در ضایعات بزرگ است (۲). مدت زمان زیادی است که از این روش جهت شناسایی ضایعات بدخیم و پیش بدخیمی در حفره ی دهان استفاده می شود. امروزه رویکرد جدید متخصصان، روش هایی ساده تر و غیر تهاجمی و بدون درد و در دسترس مثل سیتولوژی و استفاده از محلول تولویدن بلو و غیره می باشد (۱).

مخاط دهان به سرعت در حال تکثیر و ریزش است و سلول های آن به طور مداوم در حال پوسته پوسته شدن هستند. از این سلول ها می توان به عنوان یک راه تشخیصی

در شرایط سیستمیک که باعث تنوعات شکلی در هسته و سیتوپلاسم می شوند استفاده کرد. مخاط دهان، منعکس کننده ی بسیاری از شرایطی است که در بدن اتفاق می افتد (۷). سیتولوژی اکسفولیو دهان، یک فرایند ارزان قیمت برای ارزیابی و تشخیص زودهنگام است. این روش، ساده، ایمن و در دسترس می باشد (۳).

سیتولوژی دهان، بر اساس مانیتور کردن سلول های پوسته پوسته شده از مخاط دهان است که یک روش تشخیصی در اختلالات بدخیمی و پیش بدخیمی می باشد. به تازگی از سیتولوژی در پیشگویی بیماری هایی مثل دیابت و آئمی و مشکلات هورمونی استفاده می شود. در روش های جدید، نمونه های سیتولوژی جهت بررسی محتوای DNA و شناسایی مارکرهای ایمونوهیستوشیمیایی در سلول های تومورال آنالیز می شوند (۸). سیتولوژی یک روش ساده و غیر تهاجمی در دسترس و بدون ریسک است که از محدودیت های آن حساسیت و اختصاصیت پایین و جواب های منفی کاذب است که با پیشرفت روش های آزمایشگاهی این مشکلات مرتفع شده است. از این روش برای پیگیری بیمارانی که بیماری آنها تشخیص داده شده است استفاده می شود (۲، ۸).

LBC (Liquid-based cytology) روشی است که در آن به جای اینکه یک اسمیر روی لام تهیه کنیم، می توان چند لام از سوسپانسیون به دست آمده تهیه کرد. در این روش، کمیت و کیفیت اسمیر تهیه شده افزایش یافته است (۲). LBC در سال ۱۹۹۰ نشان داده شد که مزایایی نسبت به روش سیتولوژی معمول دارد. LBC باعث کاهش مشکلات مرتبط با نمونه گیری و آماده سازی اسمیر بهتر و کاهش موارد منفی کاذب می شود. اما LBC نیازمند تجهیزات و مواد گران است که ممکن است تهیه و تدارک آن برای بیماران در کشورهای فقیر، غیر ممکن باشد. این روش نیازمند فیلتراسیون و سیتو سانتریفیوز و تجهیزات کامپیوتری جهت تهیه نمونه های لایه ای از سلول های روی لام می باشد (۳).

روش LBC در ابتدا برای سرطان رحم استفاده می شد. این روش مشکلاتی که در روش سنتی وجود داشت را کاهش داد و باعث آماده سازی اسمیرها با سلولاتی بالا و یک لایه ی نازک و هموژن سلولی شد. این روش کیفیت اسمیر تهیه شده را بالا می برد (۹).

نیاز به روش های آنالیز کامپیوتری جهت افزایش دقت و حساسیت سیتولوژی احساس می شود. ORAL CDX یک روش کمکی کامپیوتری ساخت کشور آمریکا است که برای نمونه هایی که با تکنیک بیوپسی با برس تهیه می شود، طراحی شده است. این تکنیک دقت تفسیر نمونه را وقتی از ضخامت کامل اپی تلیوم تهیه شود، بالا می برد. در آنالیز کامپیوتری با کار بر روی تصویر میکروسکوپی دیجیتال از سلول های نمونه از طریق Neural network تخصصی که اساس سیستم پردازش تصویر است برای تشخیص سلول های سرطانی و پیش سرطانی از سلول سالم استفاده می شود (۴، ۷). روش بیوپسی با کمک آنالیز کامپیوتری، یک روش ساده، ارزان و حساس است. بیوپسی با برس یک نمونه ی ترانس اپی تلیال با حضور تمام لایه های اپی تلیوم را فراهم می کند. این نمونه با کمک برس های مخصوص یا مسواک تهیه می شود (۱). وسیله ای که در این روش استفاده می شود باید به گونه ای باشد که با کمترین تروما نمونه را بردارد و در تمام نقاط دهان قابل کاربرد باشد و نمونه را با عمق کافی بردارد تا لایه ی بازال را هم شامل شود. زیرا گاهی دیسپلازی محدود به لایه ی بازال است (۲).

سیستم های تجاری در دسترس برای بیوپسی با برس به کمک آنالیز کامپیوتری مثل ORAL CDX یک فرایند تشخیصی با حساسیت بالا و مثبت کاذب پایین برای تشخیص دیسپلازی در مراحل ابتدایی سرطان هاست. این روش، پلی بین معاینه و بیوپسی انسیزنال یا اکسیژنال ضایعه است و مشخص می کند آیا ضایعه نیاز به بیوپسی دارد یا نه (۴). وقتی کلینیسین از ضایعه، نمونه برداری می کند، پاتولوژیست بر اساس شکل هسته و سیتوپلاسم، تشخیص می گذارد و بافت نرمال را از غیر نرمال تفکیک می کند. این

روزها داده های تصویر دیجیتال برای آنالیز تصاویر دیجیتال با استفاده از الگوریتم پردازش تصویر مورد استفاده قرار می گیرد. CAD یا Computer Assisted Diagnosis (تشخیص به کمک آنالیز کامپیوتری) امروزه نقش مهمی در تفسیر نمونه های پاتولوژی دارد. تلاش های بسیاری جهت کشف الگوریتم های جدید برای طراحی نرم افزارهای مناسب جهت پردازش تصاویر میکروسکوپی دیجیتال در تعیین پروگنوز و مرحله ی بیماری انجام شده است. بعد از تهیه ی یک تصویر دیجیتال از نمونه ی آماده شده، ارزیابی دستی نمونه باعث تنوعات تشخیصی می شود. برای رفع این مشکل، تکنیک های جدید کامپیوتری برای تشخیص بهتر طراحی شده است (۵).

مواد و روش ها

این مطالعه شامل دو بخش است: در مرحله ی اول این مطالعه، طراحی نرم افزار Iran CDX قرار دارد که توسط گروه مهندسی پردازش تصویر در شهرک علمی- تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.

برای انجام این مرحله باید اطلاعات تصویری برای طراحی نرم افزار تهیه می شد. بنابراین از ۵ بیمار سالم و ۵ بیمار کارسینوم سلول سنگفرشی به روشی که در مرحله ی دوم توضیح داده می شود، نمونه ی سیتولوژی به روش LBC تهیه شد.

از هر لام، ۱۵۰ تصویر دیجیتال تهیه شد.

تصاویر دیجیتال توسط دوربین (Nikon-CORP, D5000 (JAPAN زیر میکروسکوپ Nikon مدل ECLPSE-E200 تهیه شد و در نمونه ها سلول های دیسپلاستیک نشانه های دیسپلازی برای طراح نرم افزار Iran CDX شرح داده شد. این نشانه ها شامل موارد زیر است:

- ۱) افزایش نسبت هسته به سیتوپلاسم
- ۲) وجود هستک
- ۳) وجود کروماتین خشن
- ۴) شکل و سایز غیر عادی هسته

(۵) پررنگ شدن هسته

(۶) شکل و سائز غیر عادی سلول

(۷) افزایش سائز هسته

(۸) میتوز غیر عادی

(۹) افزایش تعداد هستک (۱۰).

طراحی نرم افزار با زبان برنامه نویسی پایتون (Python) انجام شد. این زبان برنامه نویسی در سال ۱۹۹۱ در کشور هلند توسط خودوان روسوم (Guido van Rossum) طراحی شد. الگوریتم مربوطه به صورت شبکه‌ی عصبی نوشته شد که در زیر آورده شده است.

پردازش تصویر

مدل سازی با شبکه‌های عصبی مصنوعی

امروزه با پیشرفت کامپیوتر، هوش مصنوعی ابزاری بسیار مهم در فرایند مدل سازی می باشد. شبکه‌های عصبی مصنوعی که شبیه سازی از شبکه‌ی عصبی بیولوژیک هستند، مدل‌هایی محاسباتی می باشند که می توانند مسایلی را که انسان، کامپیوتر و ماشین حساب‌های معمولی قادر به حل آنها نیستند را حل کنند.

شبکه‌های عصبی، شامل اتصالات پیچیده از واحدهایی به نام نورون است که دارای وزن و توابع انتقال و الگوریتم یادگیری می باشند. این شبکه‌ها بر اساس معماری و توابع انتقال و الگوریتم یادگیری، به گروه‌های مختلف تقسیم بندی می شوند.

شبکه‌ی عصبی یک ورودی و خروجی می گیرد و رابطه‌ی ریاضی بین داده‌های ورودی و خروجی پیدا می کنند. حسن شبکه‌های عصبی به غنی بودن داده‌های ورودی آن است (۱۱، ۱۲).

ورودی در این شبکه‌ها به صورت زیر است:

$$n = \sum_j W_{ij} P_j + b_i$$

در این فرمول W_{ij} وزن از عنصر j ام به i ام می باشد. عدد n سپس به تابع انتقال فرستاده می شود و پس از آن

ورودی، پردازش می شود و ورودی پردازش شده به عنوان خروجی فرستاده می شود. این خروجی ورودی نورون‌های بعدی است.

توابع خطی و S_شکل توابع انتقال پر کاربرد در شبکه‌های عصبی می باشند. در این مطالعه از نرم افزار Matlab برای مدل سازی استفاده شد.

در این مطالعه برای پیش بینی اثرات سرطان بر تصاویر PCA (Principal Component Analysis) (تحلیل مؤلفه‌های اصلی) از یک ساختار Perceptron چند لایه‌ای پیشخور استفاده شد. این ساختار شامل یک لایه‌ی ورودی و یک یا چند لایه‌ی پنهان و یک لایه‌ی خروجی می باشد.

در این مطالعه از یک تابع فعال تانزانت هایپر بولیک غیر خطی (Tagsig) به عنوان لایه‌ی پنهانی و از یک تابع فعال خطی برای لایه‌ی خروجی استفاده شد.

$$f(n) = \frac{e^n - e^{-n}}{e^n + e^{-n}}$$

همچنین از روش آزمون و خطا برای به دست آوردن تعداد بهینه‌ی نورون‌ها در لایه‌ی پنهان استفاده کردیم. ورودی ویژگی‌های استخراج شده از تصاویر می باشد و عدد صفر به معنی ریسک سرطان و عدد یک به معنی عدم ریسک سرطان است.

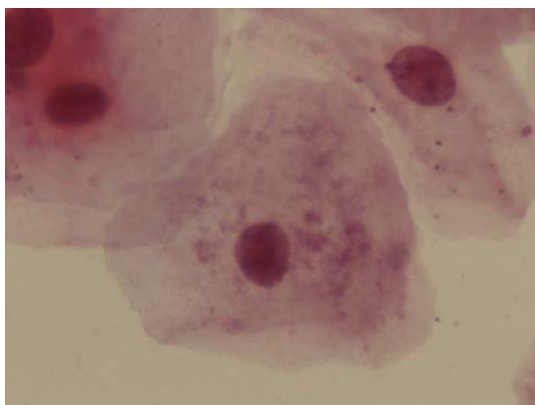
برای به دست آوردن بهترین مقادیر برای وزن‌ها و بایاس‌ها و به حداقل رساندن تابع خطا بین خروجی مدل شده و خروجی واقعی از یک الگوریتم آموزش استفاده شد (۱۳).

چون روش استاندارد، معایب زیادی دارد، در این مطالعه از روش لونبرگ-مارکارد برای آموزش شبکه‌ی عصبی استفاده شد. روش LM تخمینی از روش نیوتونی می باشد (۱۴).

در این مطالعه بعد از پیدا کردن تعداد بهینه‌ی نورون‌ها در لایه‌ی پنهانی بهترین ساختار شبکه با کمترین میانگین مربعات خطا و بیشترین ضریب تعیین با استفاده از روش آزمون و خطا در یک چرخه‌ی تکرار شونده حاصل شد. بعد از این که شبکه با استفاده از ورودی‌ها و الگوریتم یادگیری آموزش داده شد، رابطه‌ی بین متغیرهای ورودی و

متوسط ۱۰ حرکت تهیه شد به طوری که نقاط خون ریزی دهنده کوچک در محل مورد نظر ایجاد می کرد (۱۵). محل نمونه در گروه سالم از مخاط سالم باکال افراد گرفته شد و در افراد گروه بیمار، از محل ضایعه در مکانی بدون زخم و غشا نکروتیک تهیه شد. سر مسواک پس از تهیه نمونه از دسته جدا شد و در محلول مخصوص دستگاه سیتولوژی E_Prep (محلول GYN) قرار گرفت و برای لابراتوار فرستاده شد. در لابراتوار، نمونه ها داخل شیکر مخصوص دستگاه به مدت ۲۰ ثانیه قرار داده می شد. بعد از آن، نمونه ها به دستگاه E_Prep ساخت کارخانه Celtrazone کروی جنوبی منتقل شده و به صورت اتوماتیک نمونه روی لام مخصوص دستگاه منتقل شد. این لام، به دلیل چسبندگی از شسته شدن سلول ها جلوگیری می کند. در مرحله ی بعد، نمونه ها توسط الکل اتانول ۹۵ درصد، ثابت شده و توسط رنگ آمیزی پاپانیکولا رنگ آمیزی شد.

از لام های تهیه شده با روش مذکور (E-pre, Nikon-) D5000 (Celtrazone, Korea) توسط دوربین (CORP, Japan) با بزرگ نمایی ۱۰۰x، زیر میکروسکوپ Nikon مدل ECLPSE-E200 تصویربرداری گردید و تصاویر به نرم افزار Iran CDX داده شد و نتایج پردازش خود را به صورت سالم و ناسالم اعلام کرد (۱).



تصویر ۱. دیجیتال تهیه شده از لام، توسط دوربین میکروسکوپ نوری

خروجی به دست آمد. در این مطالعه برای اینکه بفهمیم مدل صحیح است، از روش پارتیشن بندی k تایی استفاده کردیم. فرمول شماره ی یک خطای MSE را برای تعداد مختلف نوروں در لایه ی پنهانی نشان می دهد. همان طور که دیده می شود با تغییر تعداد نوروں ها در لایه ی پنهانی، خطا تغییر کرده و ۱۱ نوروں برای لایه ی پنهانی مقدار قابل اعتمادی برای شبکه می باشد.

در مرحله ی دوم، تعداد ۲۰ بیمار دچار کارسینوم سلول سنگفرشی که قبلاً توسط اسکالپل بیوپسی تأیید شده اند و تعداد ۲۰ بیمار سالم مراجعه کننده به بخش بیماری های دهان دانشکده ی دندان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان اصفهان نمونه ی بیوپسی با برس تهیه گردید. از تمام بیماران رضایت نامه ی کتبی گرفته شد. نمونه ها به لابراتوار ارسال شدند و از هر بیمار، یک لام سیتولوژی توسط دستگاه E_prep تهیه شد.

تصاویر دیجیتال توسط دوربین زیر میکروسکوپ تهیه شد و توسط نرم افزار Iran CDX نیز به صورت سالم و ناسالم تشخیص گذاشته شد (۱۵).

مرحله ی ارزیابی نرم افزار

این مرحله از مطالعه یک مطالعه ی توصیفی-تحلیلی است که روی ۴۰ بیمار صورت گرفت. شرط ورود به مطالعه برای گروه بیمار (۲۰ بیمار از مراجعه کنندگان به مطب متخصصین مربوطه)، بیماران دچار کارسینوم سلول سنگفرشی بودند که قبلاً توسط اسکالپل بیوپسی تأیید شده و رضایت نامه ی کتبی را پر کردند.

برای تهیه ی بیوپسی با برس، بیمار باید دهان خود را با آب حدود ۳۰ ثانیه می شست. وسیله ی بیوپسی مسواک نرم کودکان استریل شده توسط اتوکلاو بود. در بیوپسی با برس در دهان از برش های مخصوص پاپ اسمیر نمی توان استفاده کرد چون توانایی کافی در برداشت مخاط دهان را ندارد. نمونه ها با فشار یکنواخت با حرکت رفت و برگشت، به طور

فتوگرافی از هر لام، ۵۰ مورد بود. هر فتوگرافی به طور جداگانه وارد نرم افزار شد و نتایج به صورت سالم و ناسالم ثبت گردید. نتایج وارد نرم افزار Excel شد و نتایج به صورت جدول و نمودار ثبت گردید که در ادامه آمده است.

طبق نتایج به دست آمده در گروه بیماران مبتلا به سرطان، تمام نتایج به دست آمده از نرم افزار به صورت ناسالم اعلام شد به این معنی که تمام نمونه ها را صحیح تشخیص داده است.

در این صورت از ۲۰ بیمار که از هر بیمار، ۵۰ فتوگرافی از لام مربوطه تهیه شده بود (یعنی ۱۰۰۰ فتوگرافی) هر ۱۰۰۰ مورد به صورت ناسالم ثبت گردید و نرم افزار ۱۰۰ درصد عکس ها را صحیح تشخیص داد.

در گروه شاهد یا همان افراد سالم، نتایج به دست آمده از نرم افزار در ۲۰ فرد که از هر لام ۵۰ فتوگرافی تهیه شده بود (یعنی ۱۰۰۰ فتوگرافی) ۹۱ مورد به صورت ناسالم و ۹۰۹ مورد به صورت سالم ثبت گردید. به این معنا که نرم افزار ۹۰/۹۱ مورد را صحیح تشخیص داده و در ۹/۱ مورد خطا داشته است.

با توجه به این که در کل فتوگرافی ها یعنی ۲۰۰۰ فتوگرافی، ۹۱ مورد سالم را ناسالم تشخیص داد و سایر نتایج درست بود، پس در کل ۴/۵۵ درصد را خطا و ۹۵/۴۵ درصد را صحیح تشخیص داده است (جدول ۱).

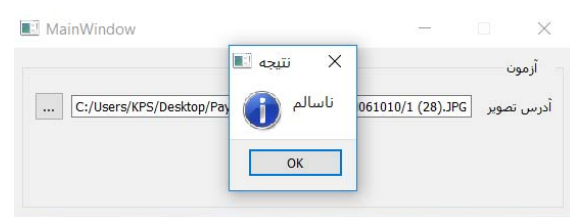
جدول ۱: نتایج نرم افزار

نتایج نرم افزار	افراد مبتلا به سرطان			کل
	True	False	افراد سالم	
۱۹۰۹	۹۰۹	۱۰۰۰	۹۰۹	۱۹۰۹
۹۱	۹۱	۰	۹۱	۹۱
۲۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰

همچنین اختصاصیت و حساسیت نرم افزار بر اساس نتایج اعلام شده، در کل فتوگرافی ها (۲۰۰۰ مورد) به صورت جدول ۲ محاسبه و حساسیت ۱۰۰ درصد و اختصاصیت ۹۰ درصد اعلام شد.



تصویر ۲. زبان دچار کارسینوم سلول سنگفرشی



تصویر ۳. نرم افزار Iran CDX روی صفحه کامپیوتر

داده ها وارد نرم افزار Excel شد و نمودار و جدول های مورد نظر رسم گردید. اختصاصیت و حساسیت و ارزش پیشگویی مثبت و منفی محاسبه گردید و $p \text{ value} = ۰/۰۰۴$ با استفاده از آزمون فیشر محاسبه شد.

یافته ها

این مطالعه جهت طراحی و آزمون نرم افزاری که بتواند در تصاویر دیجیتال تهیه شده از لام سیتولوژی، سلول دیسپلاستیک را شناسایی کند انجام گرفت.

تعداد ۴۰ بیمار وارد مطالعه شدند که ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان (۱۸ تا ۶۳ سال) با میانگین سنی ۳۹ سال و تعداد ۱۶ مرد و ۴ زن که سرطان دهان آنها قبلاً تأیید شده بود و ۲۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس با گروه بیمار کاملاً همخوانی داشتند. از تمام این افراد، برآش سیتولوژی (از بیمار مبتلا به سرطان، از موضع بدخیمی و در افراد سالم از مخاط سالم گونه) تهیه شد.

از تمام نمونه ها به روش لیکوئید بیس سیتولوژی، لام تهیه گردید و از تمام لام ها، فتوگرافی گرفته شد. تعداد

جدول ۲: اختصاصیت و حساسیت در کل تصاویر

Calculate Sensitivity, Specificity, PPV, and NPV

مثبت	
مثبت واقعی	۱۰۰۰
منفی کاذب	۰
منفی	
مثبت کاذب	۹۱
منفی واقعی	۹۰۹
حساسیت	۱۰۰/۰۰ درصد
اختصاصیت	۹۰/۹۰ درصد
ارزش پیشگویی مثبت	۹۱/۶۶ درصد
ارزش پیشگویی منفی	۱۰۰/۰۰ درصد

در این مطالعه طبق مفروضات آماری، معیار پذیرش عملکرد، ۹۰ درصد و خطای پذیرفته شده برای نتایج نرم افزار تا ۱۰ درصد قابل قبول در نظر گرفته می شود. بر اساس این فرض در هر لام، از تعداد ۵۰ فتوگرافی تا ۵ مورد نتیجه‌ی غلط اعلام شده از طرف نرم افزار قابل قبول است.

نتیجه‌ی غلط یعنی بافت سالم را ناسالم تشخیص دهد (مثبت کاذب) و منفی کاذب یعنی بافت سرطانی را سالم تشخیص دهد. طبق فرض گفته شده (خطای پذیرفته شده تا ۱۰ درصد)، در گروه مبتلا به سرطان در این مطالعه با توجه به نتایج نرم افزار که در هر ۲۰ بیمار تمام نتایج صحیح بود، مشکلی وجود ندارد و هر ۲۰ بیمار با توجه به نتایج نرم افزار، ناسالم تشخیص داده شده‌اند. ولی در گروه افراد سالم از ۲۰ مورد، ۱۴ نتیجه صحیح (True) و ۶ نتیجه‌ی غلط (False) در نظر گرفته شد. بر اساس این مسأله در افراد سالم، تشخیص نرم افزار با مشکل مواجه بوده و در ۳۰ درصد بیماران خطا دارد. بر اساس نتایج و مفروضات گفته شده، جدول اختصاصیت و حساسیت در ۴۰ بیمار مورد بررسی به صورت زیر است: اختصاصیت، ۷۰ درصد و حساسیت، ۱۰۰ درصد و ارزش پیشگویی مثبت، ۷۶/۹۲ درصد و ارزش پیشگویی منفی، ۱۰۰ درصد برآورد شد.

طبق آزمون فشر دو جامعه‌ی آماری (نتایج خروجی از نرم افزار و نتایج هیستوپاتولوژی (که در روش کار توضیح داده شد) باهم برابر نیستند. حال برای مقایسه‌ی این دو جامعه از تست 2_Proportion استفاده می کنیم. اکنون فرض می کنیم معیار پذیرش برای ما همان طور که قبلاً ذکر شده است، ۹۰ درصد می باشد. یعنی خطای پذیرفته شده برای هر بیمار را ۱۰ درصد در نظر می گیریم یعنی در ۵۰ فتوگرافی تا ۵ خطا قابل قبول است.

حال با محاسبه‌ی p value برای دو جامعه (نتایج خروجی از نرم افزار و نتایج اسکالپل بیوپسی) مشاهده می کنیم مقدار $p\text{ value} = ۰/۰۰۴$ به این معنی که تفاوت چشمگیری بین دو جامعه‌ی آماری وجود ندارد. چون این مقدار زیر ۰/۱ یعنی زیر سطح معنی دار است.

تفاوتی بین نتایج واقعی و نتایج خروجی از مدل وجود ندارد و این موضوع نشان از دقت بالای نرم افزار است.

در گروه مبتلا به سرطان، نتایج نرم افزار با نتیجه‌ی اسکالپل بیوپسی بیمار تفاوتی نداشت، ولی در گروه سالم، ۹۱ فتوگرافی را نادرست تشخیص داد. به این معنا که خطای نرم افزار در نمونه‌های سرطانی صفر و در نمونه‌های سالم ۹/۱ درصد بود.

با فرض اینکه بر اساس مفروضات آماری خطای پذیرفته شده، ۱۰ درصد در نظر گرفته شود؛ یعنی ۵ خطای نرم افزار در ۵۰ فتوگرافی قابل چشم پوشی است، نرم افزار در گروه سالم، ۶ بیمار را نتوانست تشخیص دهد در صورتی که در گروه مبتلا به سرطان، تمام بیماران را ناسالم تشخیص داد.

بحث

نرم افزارهای تشخیصی، از اجزای جدایی ناپذیر پزشکی نوین می باشند. مطالعه‌ی حاضر به ارزیابی نرم افزاری می پردازد که بتواند سلول سرطانی را در تصاویر دیجیتال تهیه شده از لام های براش سیتولوژی به روش لیکوئید بیس تشخیص دهد. هدف کلی نرم افزار، تشخیص سلول های دیسپلاستیک در تصاویر دیجیتالی است که وارد آن می شود.

جامعه‌ی مورد مطالعه از میان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان الزهراء اصفهان و بیمارستان امین و مطب‌های متخصصان مربوطه که SCC (Squamous cell carcinomas) آنها با اسکالپل بیوپسی تشخیص داده شده بود، انتخاب شدند.

از آنجایی که بیماران SCC سریعاً جهت درمان ارجاع داده می‌شوند، تعداد بیماران محدود بود. بنابراین نمونه‌گیری به روش آسان انجام شد.

با توجه به جهانی بودن مشکل سرطان و مرگ و میر بالای ناشی از آن و شیوع بالای آن در بسیاری از کشورها، تشخیص زودهنگام آن امری حیاتی و مهم است. از طرفی ضایعات پیش‌سرطانی دهان که پتانسیل تبدیل به SCC را دارند باید از لحاظ دیسپلازی بررسی شوند (۱، ۲).

از آنجایی که اسکالپل بیوپسی، استاندارد طلائی تشخیص SCC می‌باشد با توجه به مشکلات و محدودیت‌های آن به دنبال روش‌های ساده‌تر با تهاجم کمتر می‌باشیم (۲).

سیتولوژی، می‌تواند مشکلات مربوط با نمونه‌برداری را کاهش دهد. از طرفی روش لیکوئید بیس باعث ایجاد اسمیر بهتر و کاهش نتایج منفی کاذب می‌شود (۳). تلاش‌های بسیاری برای افزایش حساسیت و اختصاصیت سیتولوژی و کاهش هزینه‌ها صورت گرفته است که می‌توان در این زمینه به روش‌های کامپیوتری و آنالیز توسط نرم‌افزارهای طراحی شده اشاره کرد. در این زمینه تلاش‌های کمی صورت گرفته است. مخصوصاً مطالعه‌ی مشابهی که در مخاط دهان برای تشخیص سرطان از روش لیکوئید بیس در کنار آنالیز کامپیوتری که مختص آن طراحی شده باشد صورت نگرفته است و ORAL CDX نیز از سیتولوژی به روش Conventional استفاده کرده است.

در این مطالعه، سیتولوژی به روش لیکوئید بیس انجام شده است که خطاهای مربوط به روش Conventional را کاهش داده است و نرم‌افزار را از خطاهای مربوط به روی هم افتادن سلول‌ها دور می‌سازد.

براش سیتولوژی، یک روش ساده و حساس و ارزان است که نمونه‌ای از تمام ضخامت اپی‌تلیوم می‌دهد (۴). امروزه CAD نقش مهمی در تفسیر نمونه‌های پاتولوژی دارد و الگوریتم‌های جدید در حال آماده‌سازی می‌باشند (۵). با توجه به مطالب ذکر شده، طراحی چنین نرم‌افزارهایی، گام بزرگی در جهت تشخیص زودهنگام سرطان دهان می‌باشد. با توجه به مطالب گفته شده، لیکوئید بیس، خطاهای سیتولوژی معمول را کاهش داده است و به انجام آنالیزهای کامپیوتری در تفسیر نمونه‌ها کمک می‌نماید.

در این مطالعه بعد از محاسبات آماری، حساسیت، ۱۰۰ درصد و اختصاصیت، ۷۰ درصد به دست آمد که دلیل اختصاصیت پایین‌تر، خطاهای نرم‌افزار در نمونه‌های سالم بود. علت احتمالی این مسأله استفاده از نمونه‌های کاملاً نرمال از بیماران کاملاً نرمال بود که در گروه شاهد به دلیل محدودیت بیماران اریتروپلاکیا و لکوپلاکیا و کلاً ضایعات پیش‌بدخیم که فاقد دیسپلازی باشند به این صورت انتخاب شد. از طرفی برای آموزش به نرم‌افزار، نیازمند نمونه‌های واقعی نرمال بودیم. در واقعیت و انجام کار بالینی، نمونه‌های بیماران کاملاً سالم بدون هیچ تغییر مخاطی برای آزمایش ارسال نمی‌شوند.

سوبا (۱۶) در سال ۱۹۹۹ از روش ORAL CDX با استفاده از آنالیز کامپیوتری در براش سیتولوژی ۹۴۵ بیمار استفاده کرد. در این مطالعه حساسیت بیوپسی با برس ۹۶ درصد در مقایسه با انسیزنال بیوپسی بود. نتایج منفی کاذب، ۴ درصد اعلام شد. در مطالعه‌ی حاضر، حساسیت بیشتری در مقایسه با مطالعه‌ی سوبا (۱۶) به دست آمد (۱۰۰ درصد). مطالعه‌ی مذکور در بیماران انجام شده است و افراد سالم وارد مطالعه نشدند. در مطالعه‌ی ما در بیماران SCC، نرم‌افزار کاملاً جواب داده است و چالش ایجاد شده از طرف تصاویر بافت‌های سالم بود. بنابراین به جای منفی کاذب ما نتایج مثبت کاذب داشتیم که خطای نرم‌افزار در نظر گرفته شد و مقدار آن ۴/۵۵ درصد فرض شد. یعنی

بافت سالمی که ناسالم تشخیص داده است که این مقدار ۹۱ تصویر دیجیتال در میان ۲۰۰۰ تصویر بود.

دلاوریان و همکاران (۱) در سال ۲۰۰۹ روش LBC را برای سیتولوژی مخاط دهان در ۲۵ بیمار مبتلا به SCC و لکوپلاکیا و لیکن پلان که قبلاً بیوپسی شده بودند به کار بردند. حساسیت این روش، ۸۸/۸ درصد و اختصاصیت آن ۱۰۰ درصد گزارش شد. که در مقایسه با نتایج به دست آمده از نرم افزار Iran CDX حساسیت کمتر (۱۰۰ درصد) و اختصاصیت بیشتر (۷۰ درصد) داشته است. البته در نرم افزار ما تعداد افراد مورد مطالعه، ۴۰ مورد بود و نتیجه توسط نرم افزار اعلام می شد که از این جهت این دو مطالعه را نمی توان مقایسه کرد. ولی در هر دو مطالعه از روش لیکوئید بیس و دیسپلازی استفاده شده بود. در مطالعه ی دلاوریان و همکاران (۱)، ضایعات لیکن پلان و لکوپلاکیا نیز وارد شده بود. البته نمونه های سالم در گروه شاهد وجود نداشت که این موارد از تفاوت های دو مطالعه می باشد.

مهروتا و همکاران (۴) در سال ۲۰۰۸ روش Brush biopsy را با روش انسیتژنال بیوپسی در مخاط دهان ۹۴ بیمار مقایسه کردند. ۱۵ درصد بیماران به دلیل نمونه ی سیتولوژی ناکافی از مطالعه خارج شدند. ۴۵ بیمار دارای ضایعات خوش خیم فاقد دیسپلازی (لکوپلاکیا و اریتر و پلاکیا و فیروز تحت مخاطی) بودند. ۱۱ بیمار دیسپلازی داشتند و ۲۸ بیمار ضایعات SCC داشتند. در نتایج این مطالعه، ۴ مورد منفی کاذب و ۳ مورد مثبت کاذب وجود داشت. حساسیت روش بیوپسی با برس در این مطالعه ۷۶/۸ درصد و اختصاصیت آن ۹۳/۳ درصد بود که از روش انسیتژنال بیوپسی بیشتر بود. در این مطالعه از مسواک کودکان استفاده شد که از این لحاظ مشابه مطالعه ی حاضر است. ولی براس سیتولوژی به روش معمول بود و از لیکوئید بیس استفاده نکردند. در مقایسه با مطالعه ی ما، مهروتا و همکاران (۴)، حساسیت کمتر و اختصاصیت بیشتری را به دست آوردند،

چون در اکثر آزمایشات پاراکلینیک، در صورتی که اختصاصیت بالاتری داشته باشیم، حساسیت کمتری ایجاد می شود. البته آنها از آنالیز کامپیوتری کمک نگرفتند و از روش لیکوئید بیس نیز استفاده نکرده بودند. همچنین آنها تعداد بیماران بیشتری را وارد مطالعه کردند و افراد سالم را به عنوان جمعیت شاهد در نظر نگرفتند.

در نمونه گیری گروه بیمار، محدودیت وجود داشت، چون اکثر بیماران SCC سریعاً تحت درمان های جراحی رادیوتراپی و شیمی درمانی قرار می گیرند.

در گروه شاهد که افراد، مخاط سالم داشتند به دلیل ترومای وارد به بافت در موضع نمونه برداری که تا ۲۴ ساعت دچار ناراحتی و درد است، قبل از تهیه ی نمونه به دلیل ملاحظات اخلاقی، باید برای بیمار توضیح داد که چنین مشکلی وجود دارد که همین امر باعث انصراف تعدادی از بیماران شد.

پیشنهاد می شود برای Train نمودن نرم افزار، نمونه های بیشتر تهیه گردد و فتوگرافی آن به نرم افزار داده شود و نرم افزارهای دیگری با تعداد نمونه های بیشتر و دقت بالاتر نیز تهیه شود.

نتیجه گیری

بر اساس مطالعه ای که انجام شد، نرم افزار طراحی شده دارای حساسیت و اختصاصیت بالا می باشد. این نرم افزار توانایی شناسایی سلول دیسپلاستیک را در تمام فتوگرافی های بیمار سرطانی دارد. در کل فتوگرافی های تهیه شده از بیماران مبتلا به سرطان و افراد سالم، درصد خطای کمی داشت که نشان دهنده ی دقت بالای چنین نرم افزاری می باشد.

* این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ثبت ۳۱ UREC23810201932031 بود و کلیه ی حقوق این طرح برای دانشکده ی دندان پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان) محفوظ است.

References

1. Delavarian Z, Mohtasham N, Mosannen-Mozafari P, Pakfetrat A, Shakeri MT, Ghafoorian-Maddah R. Evaluation of the diagnostic value of a Modified Liquid-Based Cytology using OralCDx Brush in early detection of oral potentially malignant lesions and oral cancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2010; 15(5): e671-6.
2. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Mol Cancer* 2006; 5: 11.
3. Ahmed HG, Edris AM, Mohamed EA, Hussein MO. Value of centrifugated liquid-based cytology by Papanicolaou and May-Grünwald in oral epithelial cells. *Rare Tumors* 2009; 1(1): e12.
4. Mehrotra R, Singh MK, Pandya S, Singh M. The use of an oral brush biopsy without computer-assisted analysis in the evaluation of oral lesions: a study of 94 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 106(2): 246-53.
5. Belsare AD, Mushrif MM. Histopathological image analysis using image processing techniques: An overview. *Signal & Image Processing* 2012; 3(4): 23-36.
6. Glick M. *Burcket's oral medicine*. Shelton, CT: PMPH-USA; 2015.
7. Pérez-Sayáns M, Somoza-Martín JM, Barros-Angueira F, Reboiras-López MD, Gándara-Vila P, Gándara Rey JM, et al. Exfoliative cytology for diagnosing oral cancer. *Biotech Histochem* 2010; 85(3): 177-87.
8. Kumaresan GD, Jagannathan N. Exfoliative cytology—a predictive diagnostic tool. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014; 6(5): 1-3.
9. Hegde V, Nambiar S, Yadav N. Efficacy of centrifuged liquid-based cytology over conventional cytology: A comparative study. *J Cancer Res Ther* 2017; 13(6): 951-5.
10. Mehrotra R. *Oral cytology: a concise guide*. Berlin, Germany: Springer Science & Business Media; 2013.
11. Madaeni SS, Hasankiadeh NT, Kurdian AR, Rahimpour A. Modeling and optimization of membrane fabrication using artificial neural network and genetic algorithm. *Separation and Purification Technology* 2010; 76(1): 33-43.
12. Toktaş I, Ozdemir AT. Artificial neural networks solution to display residual hoop stress field encircling a split-sleeve cold expanded aircraft fastener hole. *Expert Systems with Applications* 2011; 38(1): 553-63.
13. Guo Z, Sha W. Modelling the correlation between processing parameters and properties of maraging steels using artificial neural network. *Computational Materials Science* 2004; 29(1): 12-28.
14. Marquardt DW. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* 1963; 11(2): 431-41.
15. Remmerbach TW, Pomjanski N, Bauer U, Neumann H. Liquid-based versus conventional cytology of oral brush biopsies: a split-sample pilot study. *Clinical oral investigations* 2017; (10): 2047-9.
16. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group. *J Am Dent Assoc* 1999; 130(10): 1445-57.

Designing and Development of Iran CDX Software Program for the Diagnosis of Malignancies and Dysplasia in Oral Brush Cytology Samples and Evaluation of Its Performance

Sara Arab Loodaricheh¹

Arash Mottaghi²

Noushin Afshar Moghadam³

Behzad Sadeghian⁴

Mehdi Saman Booy⁵

1. Postgraduate, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2. **Corresponding Author:** Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email: arash.mottaghi@gmail.com

3. Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4. Postgraduate, Department of Materials, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

5. Department of Electrical and Computer, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: Due to high mortality rate and prevalence of cancer, early detection is vital and important. Precancerous oral lesions have the potential to lead to SCC and therefore they should be carefully assessed. Brush cytology is a simple method, which obtains a sample from the epithelium. Computer analyses have an important role in interpretation of pathologic samples.

Materials & Methods: An engineering team designed the software with neural networks, and the algorithm was trained with samples obtained from patients. In the second stage, brush cytology samples were collected from 20 patients with cancer and 20 healthy individuals. From each slide 50 digital images was captured with a camera under a microscope. The images were separately entered into the software program. The results were recorded as healthy and unhealthy. Statistical analyses were performed using Excel program.

Results: The software had 91 errors in a total of 2000 digital images. Comparison of the results provided by the software program and those of the scalpel biopsy of the patients with Fisher's exact test did not reveal any significant differences (p value = 0.004).

Conclusion: Based on the results of this study, the designed software exhibited high specificity and sensitivity.

Key words: Brush cytology, Neural networks, SCC.

Received: 13.6.2018

Revised: 24.9.2018

Accepted: 5.11.2018

How to cite: Arab Loodaricheh S, Mottaghi A, Afshar Moghadam N, Sadeghian B, Saman Booy M. Designing and Development of Iran CDX Software Program for the Diagnosis of Malignancies and Dysplasia in Oral Brush Cytology Samples and Evaluation of Its Performance. J Isfahan Dent Sch 2018; 14(4): 348-358.