

1. Primena fraktalne analize u ranoj dijagnostici kancera

1.1. Fraktalnost i fraktalna geometrija – osnovni koncepti

Fraktalna geometrija je relativno mlad koncept koji je formulisao Benoit Mandelbrot (1924-2010), francusko-američki matematičar, a koji se bazira na radovima Poenkarea, Kantora, Sierpinskog i drugih (Mandelbrot, 1982). Mandelbrot je prvi i uveo termin fraktal, prema latinskoj reči *fractus*, što znači „slomljen“, „nepravilan“ ili „iregularan“ (Mandelbrot, 1975). Termin fraktal uveden je u cilju karakterizacije prostornih ili vremenskih fenomena koji su kontinualne, ali nediferencijabilne funkcije. Od pojave Mandelbrotove knjige 1982. godine u kojoj je na sveobuhvatan način Mandelbrot predstavio ovaj novi koncept, fraktalna geometrija je u godinama koje slede dobila značajno mesto u matematici, a naročito u primenjenim prirodnim naukama.

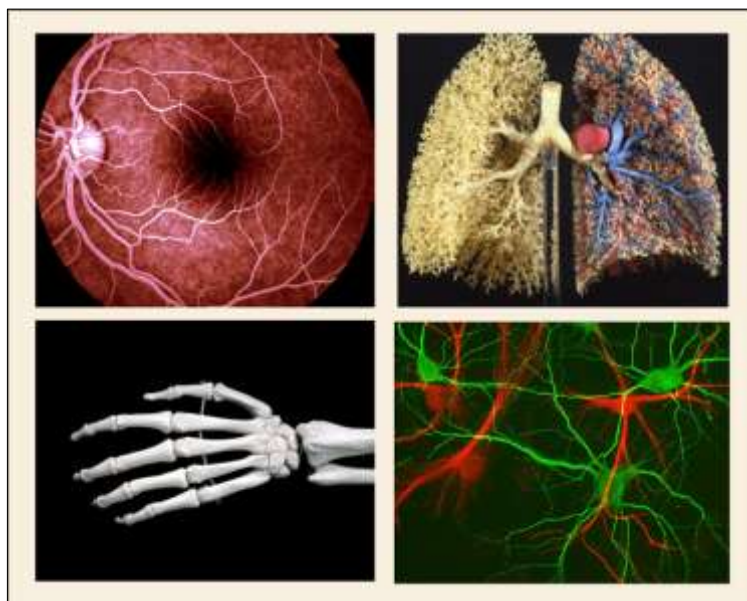
Fraktali i fraktalna geometrija predstavljaju koncept u matematici koji je proizišao iz „velike matematičke krize“, i nemogućnosti klasične Euklidove geometrije da opiše ili posluži u analizi kompleksnih i nepravilnih oblika i procesa koji se dešavaju u prirodi (Slika 1). Benoit Mandelbrot je ovaj problem ilustrovao jednostavnom rečenicom „oblak nije sfera, niti je planina kupa“. Grananje drveća, razudene obale reka ili mora, strme padine planina samo su neki primeri fraktalnosti prirode. Primeri fraktalnosti, odnosno, nepravilnosti, iregularnosti u biljnom i životinjskom svetu postoje od najmanje gradivne jedinice organizma do kompleksnih anatomskih struktura celog organizma (Slika 1).



Slika 1. Primeri fraktalnosti u biljnom i životinjskom svetu

Mnoge kompleksne anatomske strukture kao što su mreža krvnih sudova ili neuronska mreža, zatim grananje kardiopulmonarnih struktura samo su neki primeri fraktalne geometrije u ljudskom organizmu. Fraktalnost nije samo morfološka kategorija, u smislu da se neregularni obrazac ponavljanja, kao osnovna karakteristika fraktala, ponavlja u smislu anatomskog oblika (Slika 2), ono je takođe i odlika procesa koji se dešavaju u ljudskom organizmu kao što su srčani ritam ili pak moždani talasi.

Koncept fraktala i fraktalne geometrije omogućuje jednostavnu, geometrijsku interpretaciju kompleksnih objekata koje tradicionalna Euklidova geometrija nije u stanju da opiše, kao što su neregularni ili fragmentirani oblici i karakteristike prirodnih objekata koji se mogu sresti u različitim oblastima od geologije, biologije pa do anatomije i fiziologije. Teorija fraktala i teorija haosa mogu se primeniti za analizu i rešavanje problema kompleksne strukture, i primenjene su u mnogim naučnim disciplinama počev od ekonomije za modeliranje socijalnog ponašanja do biologije i geografije za modeliranje vegetacionih obrazaca širom planete.

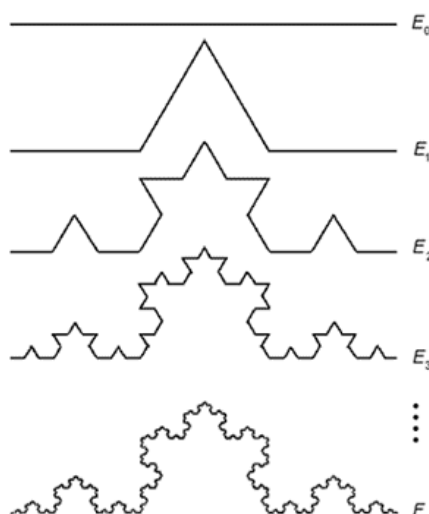


Slika 2. Primeri fraktalne geometrije u ljudskom organizmu

1.2. Fraktali - samosličnost i fraktalna dimenzija

Koncept fraktala najčešće se povezuje sa iregularnim geometrijskim objektima koji pokazuju svojstvo samo-sličnosti. Fraktalni objekti su sastavljeni od subjedinica (a ove subjedinice od svojih subjedinica, pa sub-subjedinice od svojih i tako redom..). Iako klasična Euklidova geometrija veoma uspešno može da opiše svojstva pravilnih glatkih objekata kao što su krugovi ili kvadrati, i to preko njihovih mera kao što su dužina, obim objekta isl., ona nije dovoljno adekvatna za kompleksne nepravilno oblikovane objekte koji se javljaju u prirodi (poput oblika ćelije, ili oblika oblaka, linija obale isl). Ove „ne-Euklidske“ objekte bolje opisuje fraktalna geometrija.

Dva osnovna pojma u fraktalnoj geometriji na kojima ona počiva su pojmovi samo-sličnosti i dimenzionalnosti. Značenje ova dva pojma biće opisano na primeru konstrukcije Kohove krive (Slika 3). Kohova kriva se konstruiše iterativnim procesom, pri čemu u svakoj iteraciji, centralna trećina svakog segmenta prave linije (inicijatora) se zamenjuje sa dva identična segmenta koji stoje pod uglom od 60° (generator). Ova kriva tako poseduje veoma interesantna svojstva kao npr. da je njena dužina beskonačna, i to unutar ograničene površine.



Slika 3. Konstrukcija Kohove (von Koch) krive (web1)

Samosličnost proizilazi direktno iz metoda konstrukcije teorijskih fraktalnih objekata. U finalnoj strukturi Kohove krive može se opaziti da je ona nastala ponavljanjem istog motiva, čije se dimenzije smanjuju na svakom sledećem nivou. Posledično kada se bilo koji deo krive izdvoji i zumira, može se videti da svaki uveličani deo opet predstavlja istu tu krivu. Ovo svojstvo samosličnosti se može uočiti i u mnogim prirodnim oblicima, kao što je prikazano na slici 4 na primeru glavice brokolija. Svaki individualni delić glavice brokolija kada se pogleda pod uvećanjem ima isti oblik kao i cela glavica; svaki objekat koji je fraktalan po svojoj prirodi poseduje ovo svojstvo – svaki njegov i najmanji deo kada se pogleda pod uvećanjem ima isti oblik kao i ceo objekat.

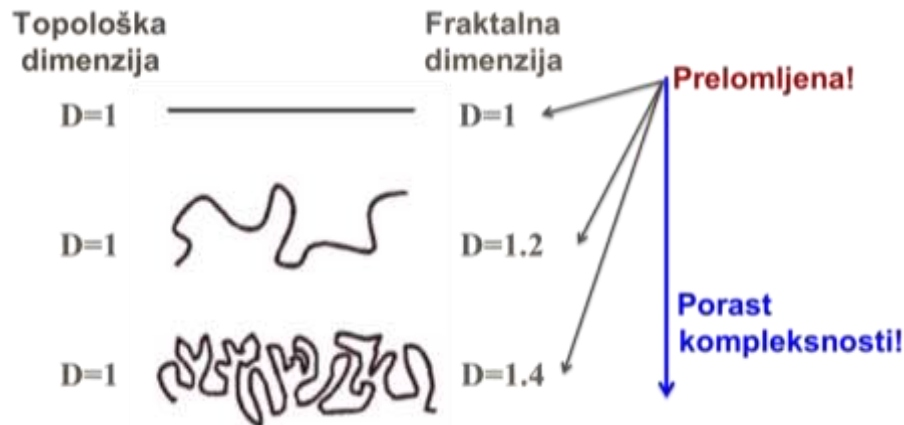


Slika 4. Samosličnost u prirodi (Brokoli, *Brassica oleracea*) (web2)

S druge strane, pojam dimenzionalnosti je malo teže objasniti. U Euklidovoj geometriji dimenzija je vrlo jasno i precizno definisana, geometrijska tačka ima dimenziju 0, prava linija ima dimenziju 1, ravan dimenziju 2 (ujedno i ravni geometrijski objekti kao što su krug, kvadrat, trougao isl.), i prostor ima dimenziju 3 (npr. svi geometrijski objekti koji poseduju zapreminu, poput sfere, kvadra, kupe itd), i ove dimenzije su isključivo celobrojne i ne mogu imati vrednosti između celih brojeva.

U fraktalnoj geometriji pak, dimenzije mogu imati „prelomljenu“ odnosno necelobrojnu vrednost, i takva dimenzija se onda naziva fraktalna dimenzija. Fraktalna dimenzija je tako opštiji i nadređen pojam topološkoj dimenziji koja se koristi u Euklidovoj geometriji, i topološka dimenzija zapravo samo predstavlja onda specijalan slučaj fraktalne dimenzije. Tako u fraktalnoj geometriji linija može imati dimenziju između 1 i 2 u zavisnosti od toga u kolikoj meri popunjava ravan u kojoj se nalazi.

Na Slici 5 data je komparacija topološke dimenzije i fraktalne dimenzije za nekoliko primera linija. Svaka od tri linije predstavljene na slici 5 ima istu topološku odnosno Euklidovu dimenziju i ona je jednaka 1. Međutim, kao što se može primetiti, ove tri linije su među sobom veoma različite i topološka dimenzija nije dovoljna da se svaka od njih opiše. Fraktalna dimenzija, o čijem izračunavanju će biti reči kasnije, je različita za ove linije i ona uzima u obzir kako one ispunjavaju ravan u kojoj se nalaze. Na taj način, fraktalna dimenzija bolje opisuje svojstva date linije, i sadrži zapravo više informacija o samoj liniji, od njene topološke dimenzije. Štaviše, sa slike 5, jasno se vidi da fraktalna dimenzija raste kako raste kompleksnost linije i zato se fraktalna dimenzija može koristiti kao mera kompleksnosti datog oblika. Na ovom primeru se jasno uviđa i značaj fraktalne geometrije u smislu većeg informacionog potencijala u odnosu na klasičnu geometriju.



Slika 5. Razlika u topološkoj i fraktalnoj dimenziji

1.3. Metode za određivanje fraktalne dimenzije

Postoji mnogo tipova fraktalne dimenzije i metoda za njihovo određivanje. Ovde će biti objašnjene samo neke od njih koje se najčešće koriste, a detaljan pregled tipova fraktalnih dimenzija, njihovih oznaka i literaturnih izvora u kojima je objašnjeno njihovo računanje, pregledno je dato u Tabeli 1.

Formalno, Mandelbrot je 1982. godine, definisao fraktal kao skup čija je Hausdorfova dimenzija (D_H) veća od njegove topološke dimenzije (D_T) (Mandelbrot, 1982). Hausdorfova (Felix Hausdorff (1869-1942), je nemački matematičar koji je prvi i uveo pojam necelobrojne dimenzije), ili kako se još naziva Hausdorff-Besikovičeva (Hausdorff - Besicovitch) dimenzija se definiše na sledeći način.

Posmatra se ograničen skup S , u n -dimenzionalnom Euklidskom prostoru. Zatim se ovaj skup prekriva sa S konačnih podskupova prečnika d_i , pri čemu je prečnik podskupa najveće rastojanje između bilo koje dve tačke u skupu S . Definiše se mera skupa S kao:

$$H_\varepsilon^D(S) = \inf_{d_i < \varepsilon} \sum d_i^D,$$

gde je $D > 0$ realna veličina. Granična vrednost $H_\varepsilon^D(S)$ kada ε teži nuli, jeste Hausdorfova mera skupa S . Vrednost D kada veličina H^D naglo menja vrednost sa ∞ na nula je kasnije nazvana Hausdorffova ili Hausdorff-Besikovičeva dimenzija (Peitgen et al., 1992).

Kasnije je izvedeno više načina za određivanje fraktalne dimenzije (Peitgen et. al, 1992). Na primer, za strukturu kao što je Kohova kriva, data na slici 5 može se odrediti tzv. dimenzija samosličnosti na sledeći način.

Za skup koji je ograničen u Euklidskom n -dimenzionalnom prostoru kaže se da je samosličan ako je on unija N razdvojenih (nepreklapajućih) sopstvenih kopija, od kojih je svaka naredna skalirana faktorom $r < 1$ po svim dimenzijama prostora. Između navedenih veličina postoji sledeća veza:

$$Nr^{Ds} = 1,$$

odakle je dimenzija samosličnosti jednaka:

$$D_s = -\frac{\ln N}{\ln r}.$$

Korišćenjem ovog izraza za Kohovu krivu se dobija da je njena dimenzija samosličnosti:

$$D_s = -\frac{\ln 4}{\ln(\frac{1}{3})} \cong 1,262,$$

jer se njena struktura formira tako što se polazna linija (inicijator), čija je topološka dimenzija 1, skalira faktorom 1/3, jer se kriva deli na tri jednaka dela, čime se dobija nova struktura, tj. generator, sastavljena od N=4 delova i zatim se postupak ponavlja.

Tabela 1. Fraktalne dimenzije i njihove oznake, drugi nazivi i kontekst upotrebe (adaptirano na osnovu Cross, 1994)

Dimenzija	Simbol	Ostali nazivi	Kontekst	Reference
Fraktalna dimenzija	D		Opšti naziv za fraktalnu dimenziju	Mandelbrot, 1982
Hausdorfova dimenzija	D_H	Hausdorf-Besikovičeva dimenzija	Najviše se primenjuje u matematici, ne može se primeniti na prirodne objekte	Mandelbrot, 1982 Falconer, 1990 Gulick, 1992
Minkovski-Buliganova dimenzija	D_{MB}	Kolmogorovljeva dimenzija	Često identična sa D _H , lakše se izračunava	Mandelbrot, 1982
Dimenzija sličnosti	D_S		Često ekvivalentna D _H	Peitgen et al. 1992
Dimenzija prebrojavanja boksova (blokova, kvadrata)	D_B	Blokovna dimenzija, dimenzija kapaciteta	Veoma korišćena u primeni na biološke podatke	Mandelbrot, 1982 Falconer, 1990 Gulick, 1992 Peitgen et al., 1992
Dimenzija delitelja	D_D	Dimenzija koračnog obima, kaliperna dimenzija	Veoma korišćena u primeni na biološke podatke	Mandelbrot, 1982 Falconer, 1990 Peitgen et al., 1992
Ljapunovljeva dimenzija	D_L		Merenje dimenzije čudnih atraktora	Gulick, 1992
Dimenzija pakovanja	D_P		Slična D _B i D _H , ali se koriste gusta pakovanja razdvojenih optica različitog prečnika	Falconer, 1990

Za fraktalne strukture koje nisu dobijene strogo definisanim pravilima, kao što su različite strukture prisutne u prirodi, fraktalna dimenzija se ne može odrediti kao dimenzija samosličnosti. U tim slučajevima primenjuju se različite druge metode. Jedna od najviše primenjivanih metoda je tzv. metoda prebrojavanja boksova (box-counting method), koja se još naziva i dimenzija blokova, dimenzija kapaciteta, ili dimenzija prekrivanja.

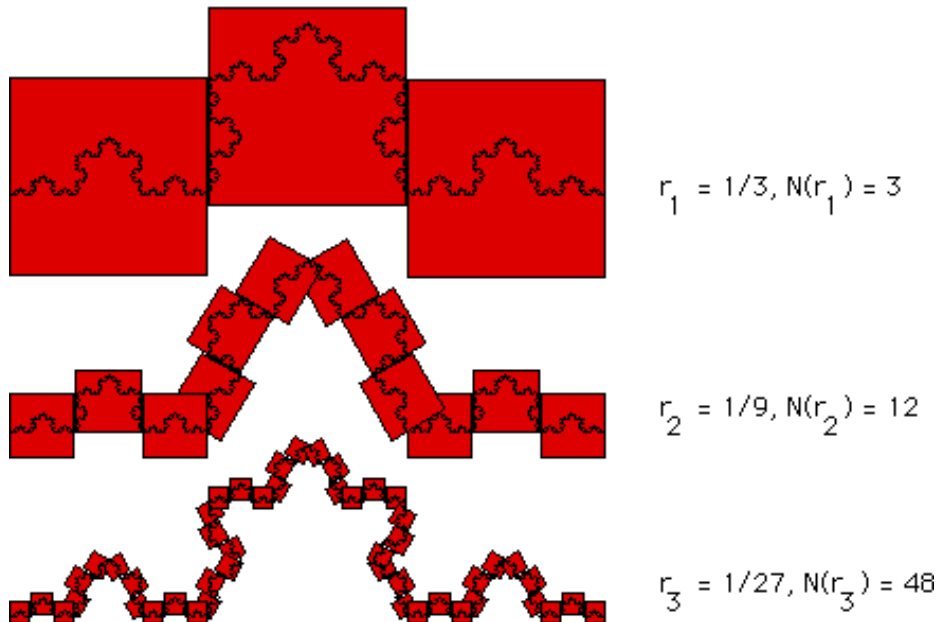
Ovaj metod su predstavili Russel i saradnici 1980. godine (Russel et al., 1980) i od tada, ovo je jedan od najviše i najčešće primenjivanih metoda.

Metoda se zasniva na prekrivanju fraktalnog objekta mrežom kvadrata (blokova, boksova). Dimenzije ivice kvadrata su ϵ . Zatim se određuje broj kvadrata koji nisu prazni tj. koji prekrivaju fraktalni objekat $N(\epsilon)$. Iterativnim procesom se uzimaju kvadrati različitih dimenzija i prekriva ostatak objekta. U graničnom procesu, uzimanjem kvadrata sve manjih ivica, D_B kao fraktalna dimenzija, ili kako se još naziva dimenzija kapaciteta dobija se kao:

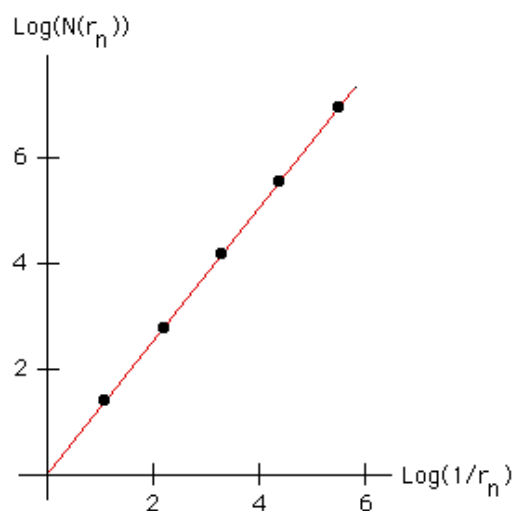
$$D_B = - \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{\log N(\epsilon)}{\log(1/\epsilon)}$$

S obzirom da se granična vrednost 0, ne može upotrebiti u slučaju nematematičkih, odnosno prirodnih objekata, ova dimenzija se računa grafičkim putem, i jednaka je nagibu krive na log-log dijagramu na kojem se daje zavisnost $\log N(\epsilon)$ od $\log(1/\epsilon)$.

Na slici 6 data je ilustracija metode brojanja kvadrata na primeru Kohove krive, a na slici 7 rezultujući log-log dijagram preko kojeg se može odrediti dimenzija kapaciteta D_B .

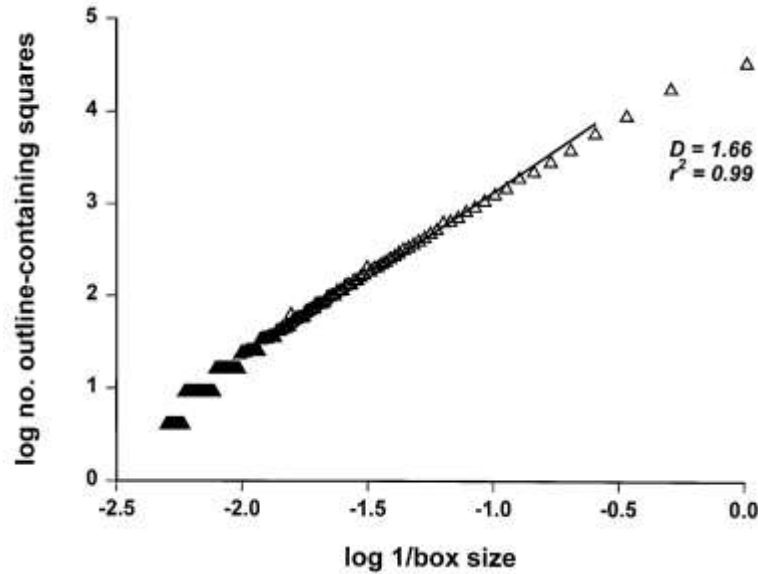


Slika 6. Ilustracija prekrivanja Kohove krive kvadratima različitih dimenzija – primer primene metode prebrojavanja kvadrata (web3)



Slika 7. Rezultujući log-log dijagram preko kojeg se određuje D_B za Kohovu krivu (web3)

U slučaju primene metode prebrojavanja kvadrata za određivanje fraktalne dimenzije nekog biološkog entiteta datog na digitalnoj slici, kao što je već rečeno, ivica najmanjeg bloka u poslednjoj iteraciji ne može biti jednaka nuli, već zavisi od rezolucije slike. U takvim slučajevima, log-log grafik izgleda kao na slici 8, i D_B se određuje kao nagib krive na segmentu koji je linearan.



Slika 8. Log-log dijagram korišćen za izračunavanje fraktalne dimenzije metodom prebrojavanja kvadrata za digitalne slike kolorektalnog kancera. Ovi podaci dobijeni su za analizu ivica kolorektalnog kancera. Nagib krive na lineranom segmentu uzet je kao vrednost fraktalne dimenzije i iznosi 1.66 (Cross, 1994)

Metod delitelja (Divider method) je sličan metodu prebrojavanja kvadrata, samo što se umesto kvadrata, za prekrivanje ivica fraktalne krive koriste segmenti (korak, tetiva) različite dužine (poput lenjira, zato se metod često naziva i metoda lenjira) i broji se koliko je ovakvih segmenata potrebno da se pokrije cela kontura. Zajedničko za ove dve metode, je da se mogu primeniti samo za opisivanje konture fraktalnog objekta. To im je ujedno i nedostatak.

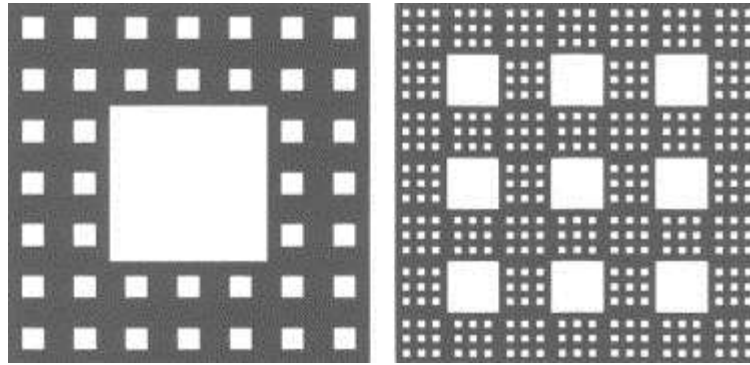
Fraktalna dimenzija je samo jedan od alata u fraktalnoj analizi, koja daje indeks kapaciteta posmatranog fraktalnog objekta da popuni prostor u kojem se nalazi. Međutim, ona ne daje informaciju o obrascu popunjavanja. Mandelbrot je kao rešenje, predložio jednu drugu dimenziju koja se naziva lakunarnost (*lacuna* – lat. praznina, rupa, jezero) (Mandelbrot, 1982). Lakunarnost se može shvatiti kao mera dubinske neravnomernosti teksture posmatranog objekta. Što je veća dubina, veća je lakunarnost. Dok metode kao što su prebrojavanje kvadrata ili metod delitelja samo analiziraju konturu, obrazac varijacija u teksturi (npr. nivoi sivog na *gray scale* digitalnoj slici) mogu biti opisani preko mere fraktalne teksture, odnosno lakunarnosti. Ova mera, data je kao:

$$A(\varepsilon) = \lambda \varepsilon^{2-D_L},$$

gde su $A(\varepsilon)$ površina površi merena kvadratima ivice dužine ε , λ – skalirajući faktor, a D_L je fraktalna dimenzija, ili mera teksture površine. U primeni na obradu digitalne slike, algoritam uzima svaku tačku (piksel) digitalnog snimka i dodeljuje mu „visinu“ odnosno „dubinu“ koja odgovara vrednosti nijanse sive. Razlika u ovako definisanim visinama, ili dubinama, susednih piksela se meri preko cele posmatrane površine i fraktalna tekstura se računa prema izrazu:

$$A(\varepsilon) = \sum_{x,y} \varepsilon^2 + \sum_{x,y} \varepsilon |I[x,y] - I[x+1,y]| = |I[x,y] - I[x,y+1]|,$$

gde je $I(x,y)$ intezitet visine za izračunate za određenu vrednost ε , preko osrednjavanja vrednosti za okolne piksele da bu se dobili blokovi čije su ivice ε (Cross, 1994). Fraktalna dimenzija se određuje preko dvostrukog logaritamskog dijagrama na kojem se daju vrednosti $\log A(\varepsilon)$ u zavisnosti od $\log(1/\varepsilon)$, i jednaka je nagibu ove krive.



Slika 9. Dva fraktalna objekta koji imaju istu fraktalnu dimenziju, ali različitu teksturu, pa samim tim im je lakunarnost različita. Iz toga razloga lakunarnost je mera koja bolje razlikuje ova dva objekta

Lakunarnost kao fraktalna dimenzija koja opisuje teksturu fraktalnog objekta može se shvatiti kao dopunska mera koja pruža dodatne informacije o fraktalnom objektu, pored već izračunate fraktalne dimenzije kao što je npr. Hausdorfova ili druge, i vrlo je korisna za razdvajanje ili klasifikaciju objekata koji imaju istu fraktalnu dimenziju, ali različitu lakunarnost kao što je prikazano na slici 9.

Ova metodologija ima široku primenu u obradi i analizi digitalnih medicinskih snimaka.

1.4. Primena fraktalne geometrije u obradi i analizi digitalnih slika

Dijagnostička interpretacija medicinskih snimaka jedan je od značajnih zadataka čiji je cilj otkrivanje potencijalnih abnormalnosti. Primena fraktalne geometrije u analizi slike svodi se na evaluaciji fraktalne dimenzije ili lakunarnosti. Postoji više metoda za određivanje, od kojih su neke pomenute u prethodnom poglavlju. Hausdorfova dimenzija u ovim slučajevima nije primenljiva, i zato su razvijani i usavršavani brojni algoritmi koji iako različiti počivaju na 3 zajednička koraka koji mogu biti sumirani kao (Lopes et al., 2007):

- Kvantifikacija entiteta koji opisuju fraktalni objekat korišćenjem različitih veličina entiteta
- Grafički prikaz na dvostrukom logaritamskom dijagramu zavisnosti izbrojanih entiteta i veličine entiteta i fitovanje linije provučene kroz dobijene tačke metodom najmanjih kvadrata
- Procena fraktalne dimenzije na osnovu nagiba regresione linije

Pomenuti algoritmi se mogu svrstati u tri klase u zavisnosti od metode na kojoj počivaju na: klasu metoda prebrojavanja kvadrata, klasu metoda fracionog Braunovog kretanja, i klasu metoda merenja površine. Međutim, ovde će biti objašnjena jedna od relativno novih metoda koja uvodi novi tip dimenzije takozvanu Higučijevu dimenziju (Klonowski et. al, 2010).

Kao što je poznato digitalna Slika 3.6 - predstavlja obrazac koji se u memoriji računara pamti kao matrica podataka. Sive (grayscale) slike su predstavljene kao matrice u kojima elementi matrice imaju vrednosti od $g_{\min}=0$ do $g_{\max}=(2^b-1)$ gde je b broj bitova ($g_{\max}=255$ za $b=8$). Većina slika u boji zapravo predstavlja kombinaciju tri monohromatske slike.

U metodi koju su predložili Klonowski i saradnici, digitalna slika ima dve Higučijeve dimenzije – horizontalnu i vertikalnu, i one se dobijaju na sledeći način.

Idući jednu po jednu vrstu u matrici sive slike koja ima dužinu N piksela i visinu M piksela, računa se suma vrednosti nijanse sivog za svaku vrstu G_m , za $m=1, \dots, M$. Vršiti se zatim normalizacija za svaku vrstu deljenjem sa odgovarajućom maksimalnom vrednošću nijanse sive za tu vrstu $G_{m\max}$, i na taj način dobija se serija realnih brojeva $NGS_{\varepsilon}[0 \ 1]$ koja se naziva „horizontalni pejzaž“:

$$NGS_m = G_m / G_{m\max} \quad (m=1, \dots, M)$$

i za ovu seriju se računa Higučijeva dimenzija i tako dobijena dimenzija označava se D_h .

Na sličan način, ide se po kolonama matrice $N \times M$ piksela, računa se suma vrednosti sive u svakoj koloni G_n , za $n=1, \dots, N$, zatim se ove vrednosti normalizuju za svaku kolonu tako što se podele sa

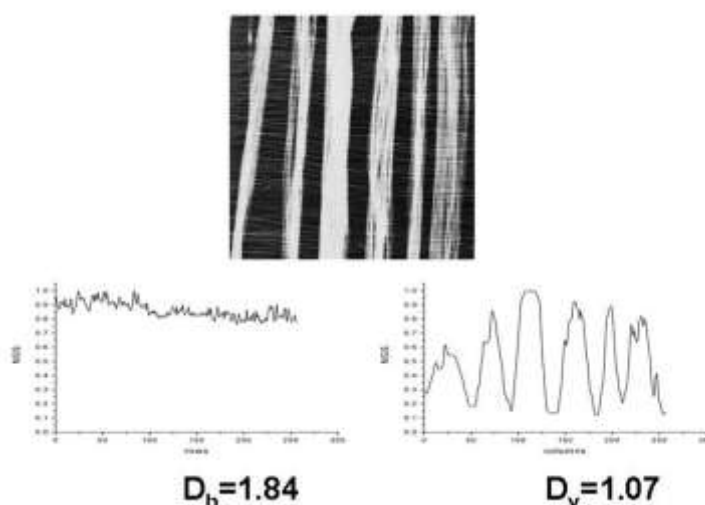
maksimalnom vrednosti sive nijanse u toj koloni G_{nmax} i dobija se opet serija realnih brojeva $NGS_n[0,1]$ koja se naziva „vertikalni pejzaž“:

$$NGS_n = G_n / G_{nmax} \quad (n=1, \dots, N),$$

i Higučijeva fraktalna dimenzija za ovu seriju se iznačava sa D_v .

Higučijeva fraktalna dimenzija računa se za datu krivu definisanu svakom k-tom tačkom, tako što se vrši evaluacija ukupne „dužine“ krive $L(k)$ i zatim se određuje dimenzija D_f tako da je $L(k)$ proporcionalno k^{-D_f} (Higuchi, 1988).

Oba pejzaža se zatim analiziraju korišćenjem Higučijevog metoda (Higuchi, 1988, Klonowski, 2000). Na slici 10 data je ilustracija korišćenja ovog metoda za karakterizaciju teksture površine. Sa slike se vidi da Higučijeve dimenzije kvantitativno karakterišu teksturu površine u oba pravca.



Slika 10. Primer procene površinske teksture korišćenjem fraktalne analize i Higučijevog metoda (Klonowski, 2010)

Ovaj metod je od naročitog značaja za procenu površinske hrapavosti implantata i ortopedskih proteza, kontaktnih sočiva, i sl., a primenjen je i u klasifikaciji različitih tipova kancera (Klonowski, 2010)

1.5. Primena fraktalne analize u biomedicinskom inženjerstvu

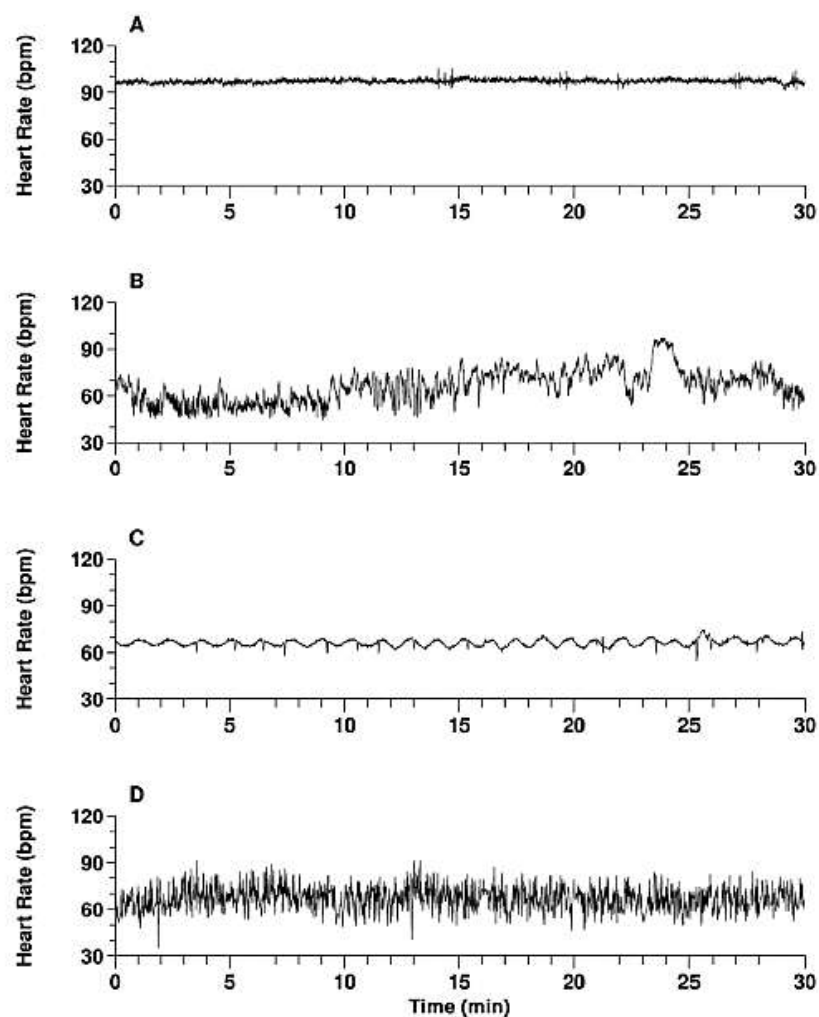
Kao što se već intuitivno moglo zaključiti na osnovu prethodnih poglavlja, primena fraktalne analize u biomedicinskom inženjerstvu podrazumeva analizu morfologije pojedinih anatomskih struktura kao što su na primer, mreža krvnih sudova, mreža neurona i drugog. Slična analiza može biti primenjena i na otkrivanje razlika između zdravog i bolesnog tkiva, ili na primer na oblik ivica kožnih lezija.

Fraktalna geometrija je u veoma širokoj primeni u oblasti analize slike, odnosno digitalne fotografije i mikrofotografije u medicini. Međutim, fraktalna analiza može biti primenjena i na fiziološke fenomene poput varijacija u srčanom ritmu ili elektroencefalografske moždane talase. U ovim slučajevima, promenljivost parametara može biti izražena preko krive na čiju morfologiju se može primeniti fraktalna analiza.

Metode fraktalne analize našle su primenu u sledećim biomedicinskim oblastima interesa:

- analiza biosignala, prepoznavanje oblika
- analiza radioloških i ultrazvučnih snimaka
- ćelijska morfometrija, organizacija hromatina, ekspresija gena

- fiziološka i patološka stanja nervnog sistema i mozga, srca i kardiovaskularnog sistema, pluća i pulmonranog sistema
- analiza vezivnog tkiva, remodeliranje tkiva
- angiogeneza, morfogeneza, grananje krvnih sudova, evoucioni obrasci
- kompleksnost, samoorganizacija i haos u tumorima
- membrane i ćelijske organele u toku rasta i smrti (apoptoza, nekroza)
- starenje, imunološki odgovor, autoimune i hronične bolesti
- kompleksnost, samoorganizacija i haos u metaboličkim i signalnim putevima
- struktura biopolimera (proteini, nukleinske kiseline, DNK)



- **Slika 10.** Ilustracija fraktalnosti fizioloških procesa ljudskog organizma. Koji od primera srčanog ritma odgovara normalnom, zdravom srcu? Odgovor je: B. A i C su primeri sinusnog ritma pacijenata sa kongestivnim srčanim zastojem, dok je D, srčani ritam pacijenta sa aritmijom i prikazuje atrijalnu fibrilaciju. Zdrav srčani ritam, B, daleko je od homeostatski konstantnog stanja, što je vizuelno očigledno – ritam deluje nestacionarno i isprekidano. Ove karakteristike potiču od fraktalnosti i nelinearnih svojstava fizioloških procesa u organizmu. Nastanak i razvoj bolesti se povezuje upravo sa pojavom ekscesivne regulaornosti kao što je to dato u primerima (A) i (C), ili kao u slučaju (D) nekorelisanih slučajnosti (adaptirano iz Goldberger et. al, 2002)

Osnovna odlika svih bioloških sistema je njihova neobična kompleksnost. Nestacionarnost i nelinearnost signala koji se generišu u živim organizmima protivureče tradicionalnim mehanicističkim pristupima zasnovanim na principu održavanja homeostaze.

Prema klasičnom konceptu fiziološke kontrole, zdravi biološki sistemi su samoregulatorni i to u cilju smanjenja varijabilnosti i održavanja fizioloških konstanti. Suprotno od pretpostavki homeostaze, izlazni parametri velikog broja bioloških sistema, kao što je npr. normalni srčani ritam, pokazuju fluktuacije na jedan veoma kompleksan način, čak i u stanju mirovanja organizma. Nelinearni regulatorni sistemi funkcionišu drugačije od jednostavnog održavanja ravnoteže, i održavanje parametara sistema konstantnim nije uopšte cilj fiziološke kontrole. Štaviše, upravo kod organizama koji su u opasnosti od iznenadne smrti (npr. usled srčanog udara) fraktalna organizacija sistema je narušena (Goldberger et al., 2002).

Slika 10 ilustracija je interne fraktalnosti procesa organizma na primeru srčanog ritma. Prikazan je srčani ritam 4 pacijenta u periodu od 30min. Samo jedan od prikazanih srčanih ritmova odgovara zdravom organizmu, dok preostala tri primera srčanog ritma odgovaraju bolestima srca koji životno ugrožavaju pacijente. Koji srčani ritam na Slici 10 je ritam zdravog srca?

Suprotno od očekivanja, upravo oni ritmovi koji izgledaju pravilno i uređeno su ritmovi koji odgovaraju ozbiljnim bolestima srca. Ritam zdravog srca dat je na slici 10B. 10A i 10C su primeri sinusnog ritma pacijenata sa kongestivnim srčanim zastojem, dok je D, srčani ritam pacijenta sa aritmijom i prikazuje atrijalnu fibrilaciju. Zdrav srčani ritam, B, daleko je od homeostatski konstantnog stanja, što je vizuelno očigledno – ritam deluje nestacionarno i isprekidano. Ove karakteristike potiču od fraktalnosti i nelinearnih svojstava fizioloških procesa u organizmu. Nastanak i razvoj bolesti se povezuje upravo sa pojavom ekscitabilne regularnosti kao što je to dato u primerima (A) i (C), ili kao u slučaju (D) nekorelisanih slučajnosti. Pojava uređene dinamike u patološkim stanjima (koja se paradoksalno često nazivaju poremećajima!) primer je kako se u bolesti ili starenju zapravo narušava kompleksnost ljudskog organizma (Goldberger et al., 2002).

1.6. Fraktalna analiza u sistemskom biološkom pristupu kanceru

Uprkos velikim pomacima u razumevanju molekularnih mehanizama kancera, najveći deo dijagnoze danas se i dalje dobija putem vizuelnog pregleda radioloških snimaka, mikroskopije uzoraka dobijenih biopsijom ili direktnim pregledom tkiva. Ova ispitivanja se tipično interpretiraju na kvalitativan način, od strane medicinskog osoblja obučenog za klasifikaciju abnormalnih karakteristika kao što su strukturne nepravilnosti u tkivu ili visoki indeksi mitoze. Kompjuterska analiza medicinskih snimaka predstavlja kvantitativan i reproducibilan proces, koji može da posluži kao veoma koristan pomoćni pristup u dijagnostici. Upravo u kompjuterskoj analizi leži potencijal fraktalne analize kao morfometrijske mere nepravilnosti struktura tipičnih za rast tumora (Baish, et al. 2000). Postoje primeri u literaturi koji pokazuju da se fraktali mogu primeniti kao veoma korisna mera patologije vaskularne arhitekture, ivice tumor/parenhim i ćelijske/nuklearne (ćelijskog jedra) morfologije.

Kancer se vrlo često karakteriše kao haotični, slabo regulisani rast ćelija. Nepravilan oblik ćelija kancera, tumora i vaskulature ne može se opisati preko tradicionalne Euklidove geometrije koja se bazira na glatkim geometrijskim elementima kao što su linija, ravan, valjak ili sfera i slično. Nasuprot njoj, fraktalna geometrija omogućuje da se objekat sa nepravilnostima različitih dimenzija, može opisati ukoliko se pronađe kako je broj određenih karakteristika jedne dimenzije, povezan sa brojem slično oblikovanih karakteristika drugih dimenzija. Praćenjem nepravilnosti u rastu tumora, radije nego praćenjem samo jedne karakteristike kao što je prečnik ili zapremina ćelije, fraktalna geometrija može omogućiti kvantifikovanje onih morfoloških karakteristika koje su patolozi najčešće koristili samo u kvalitativnom smislu za opisivanje maligniteta (Baish et al., 2000)

Ukoliko se dakle, usvoji neka kompleksna mera kao deskriptor oblika, ovaj deskriptor se može iskoristiti kao pokazatelj makrostanja ćelije. U dijagnostici kancera kao i drugih bolesti, oblik ćelija ili tkiva je značajan pokazatelj patoloških stanja. Oblik ćelija i struktura koje one formiraju je posledica fizičkih sila koje deluju na citoskelet kao i na ekstracelularni matriks. Stoga, oblik ćelije može poslužiti kao pokazatelj organizacije citoskeleta i time je i povezan sa čitavim nizom metaboličkih događaja. Fizičke sile (kao što su mikrogravitacija i nanogravitacija) mogu proizvesti dramatične promene u ekspresiji gena i promeniti ćelijski oblik (Stein et al., 1999). Nedostatak dovoljno jake teorije da objasni relaciju između biohemijških

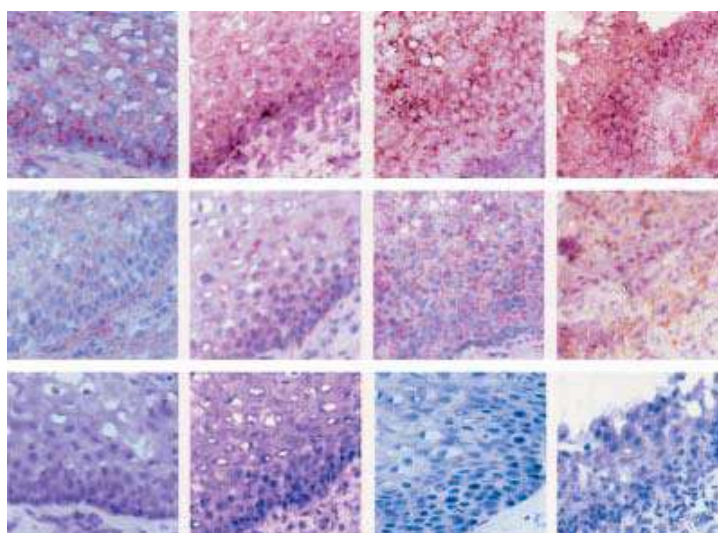
aktivnosti unutar ćelije i ćelijskog oblika, je posledica nedovoljnog poznavanja povezanosti biohemijskih reakcija koje su u vezi sa citoskeletom, ali i nedostatka standardizovane i široko prihvaćene mere kompleksnosti ćelijskog oblika. Kvantitativan metod koji se može iskoristiti za karakterizaciju kompleksnih nepravilnih struktura, pa samim tim i ćelijskog oblika je upravo fraktalna analiza (Bizzarri et al. 2011).

1.7. Fraktalna analiza u dijagnostici i utvrđivanju stadijuma cervikalnog kancera

Kancer grlića materice je jedan od najčešćih kancera kod žena i treći je po uzroku smrti posle kancera dojke i pluća (Ferlay et al., 2004). Kancer grlića materice je bolest koja nastaje usled abnormalnog rasta i deobe ćelija cerviksa.

Skoro svaki kancer grlića materice nastaje od ćelija koje čini unutrašnji sloj cerviksa. Kada kontrola ćelijskog ciklusa biva narušena, ove ćelije se dele veoma često i većom brzinom.

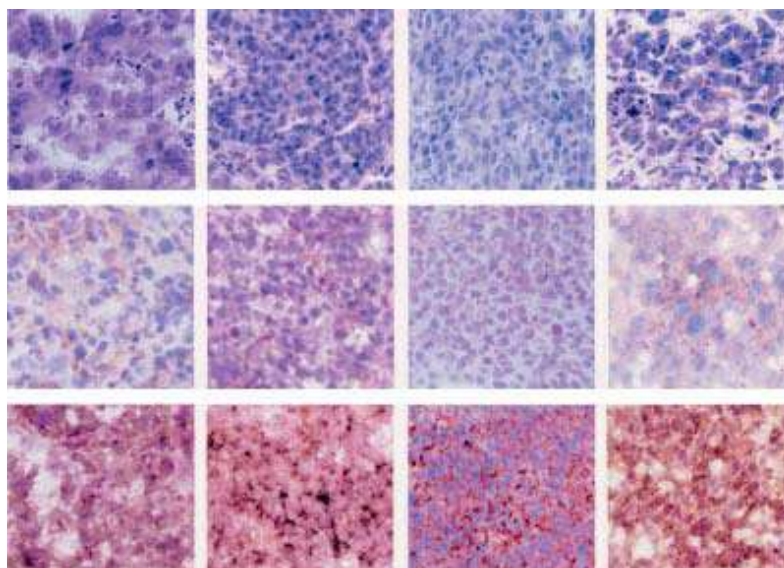
U istraživanju koje su predstavili Jayalitha i saradnici fraktalna analiza je primenjena za prepoznavanje kancera grlića materice na osnovu histoloških slika (Jayalitha et al., 2009). U istraživanju je primenjena metoda brojanja kvadrata i specijalizovani Harfa programme software za računanje fraktalnih dimenzija zdravih i kanceroznih ćelija cerviksa (Slike 11 i 12). Lakunarnost je takođe određena u cilju procene teksture tkiva (Slika 13).



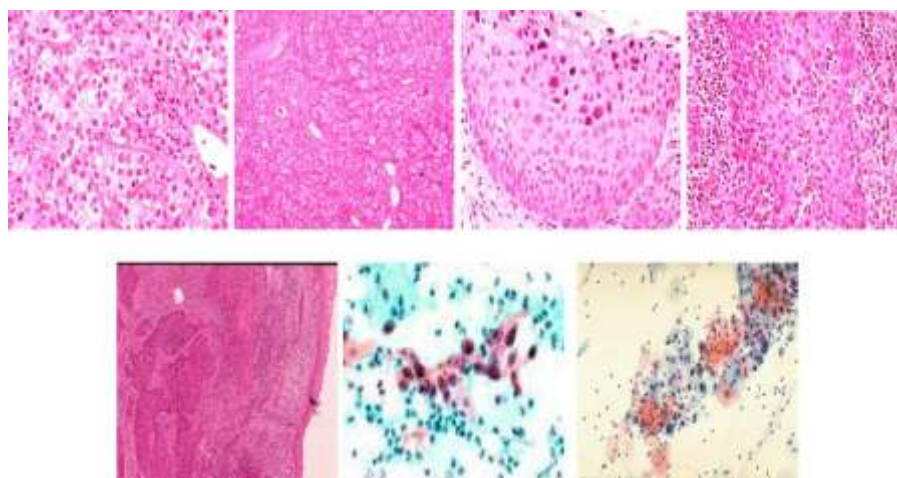
Slika 11. Normalne ćelije cerviksa (Jayalalitha et al. 2011)

Jayalitha i saradnici su se rukovodili prostom logikom da će se fraktalna dimenzija ćelija povećavati zajedno sa rastom ćelije i zato su na histološke mikrofotografije zdravih i kanceroznih ćelija (slike 11 i 12) primenili metod brojanja kvadrata radi dobijanja karakteristične fraktalne dimenzije za normalne ćelije cerviksa i abnormalne ćelije. Kako je njihova analiza pokazala, ova dimenzija iznosi 1,1 za normalnu ćeliju, dok je za abnormalnu 1,26. Isti tim je u daljem istraživanju na osnovu fraktalne dimenzije utvrđivao stepen kancera (Jayalitha et al. 2011). Kako je utvrđeno, veće vrednosti fraktalne dimenzije odgovaraju kasnijem stadijumu razvoja kancera. Odnosno, kako su istraživači zaključili, stadijum kancera zavisi od dimenzije ćelija. Lakunarnost je u vezi sa distribucijom praznina između ćelija. Fraktalni objekti koji imaju malu lakunarnost su zapravo homogeni, jer su sve praznine iste veličine, dok visoka lakunarnost govori o heterogenosti. U pomenutoj studiji, analizom lakunarnosti, došlo se do zaključka da veća dimenzija lakunarnosti odgovara širenju kancera. Lakunarnost pokazuje kako se pojačava izražena tekstura između ćelija zahvaćenim kancerom. Utvrđeno je da i kako se lakunarnost povećava tako cerviks na slikama poprima braon boju, što je i inače jedan od pokazatelja kancerom zahvaćenog tkiva.

Zaključeno je da fraktalna dimenzija D_B i lakunarnost mogu biti od velike pomoći u patologiji pri dijagnozi kancera cerviksa, kao i utvrđivanja stadijuma razvoja kancera i tako olakšati odluku o adekvatnoj terapiji.



Slika 12. Abnormalne ćelije cerviksa (Jayalalitha et al. 2011)



Slika 13. Teksturni obrazac ćelija cerviksa (Jayalalitha et al. 2011)

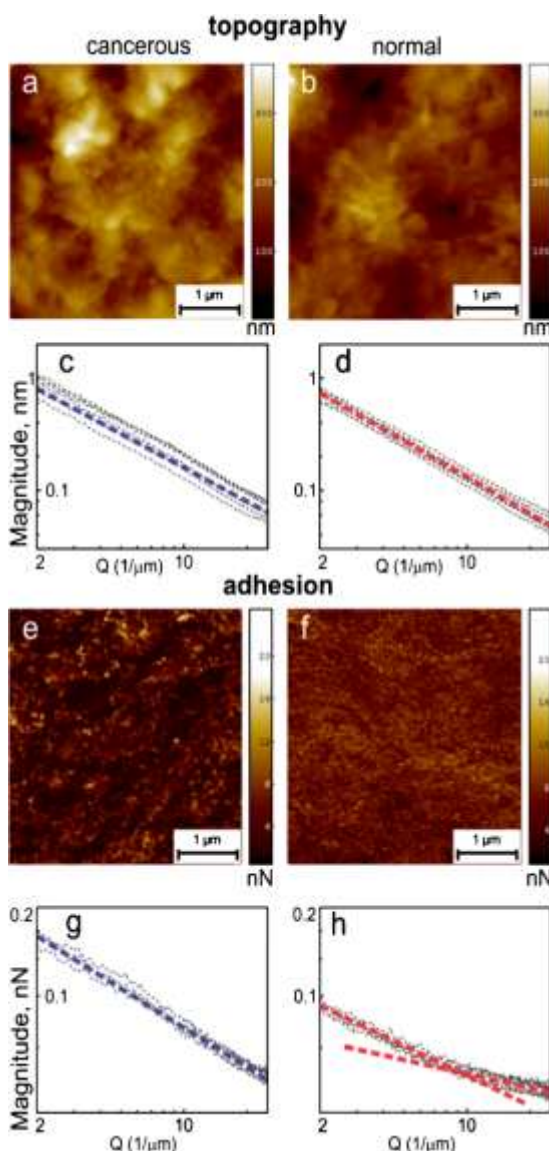
Svojstva epitelnih ćelija grlića materice istraživana su i od strane Dokukina i saradnika (Dokukin et al. 2011) i to u cilju otkrivanja da li se fraktalna svojstva normalnih ćelija razlikuju od svojstava kancerovnih ćelija. U ovoj studiji pošlo se od ideje da oba tipa ćelija ispoljavaju fraktalna svojstva, ali sa različitom dimenzionalnošću. Kako u ovoj studiji i jeste pokazano, površina kancerovne ćelije razvija drugačija fraktalna svojstva od normalne ćelije. Analiza fraktalnih svojstava urađena je na nano-nivou korišćenjem AFM mikroskopa i specijalnog HarmoniX moda, koji ne samo da omogućuje imidžing ćelijske površine već i daje mape površinske distribucije modula smicanja, energije disipacije i mape adhezionih svojstava. Na slici 14 prikazane su slike dobijene pomoću AFM mikroskopa i odgovarajuće adhezione mape.

Topografija površine kancerovnih i normalnih ćelija nije pokazala značajne razlike. Međutim, adhezione mape normalne i kancerovne ćelije pokazale su različita fraktalna svojstva. Na slici 15, dati su histogrami distribucije fraktalne dimenzije adhezionih mapa. Sa slike se vidi da je razdvajanje fraktalne dimenzije za

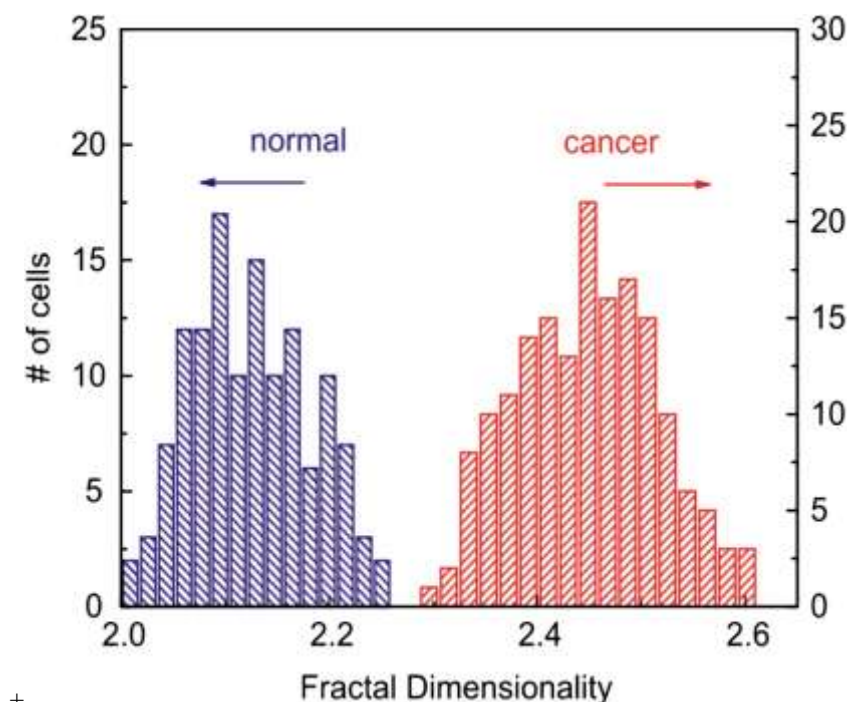
zdrave i bolesne ćelije apsolutno 100%. Može se postaviti pitanje, šta ovo razdvajanje fraktalnih dimenzija znači u biološkom smislu, odnosno šta je to različito kod kanceroznih i normalnih ćelija što daje adhezione mape ovako različitih fraktalnih svojstava.

Treba napomenuti da su adhezione mape, mape svojstava ispoljenih na nanometarskom nivou. Dakle, razlika koja se pokazuje u fraktalnoj dimenziji potiče od nepravilnosti ćelijske membrane na nano nivou, odnosno od hrapavosti same ćelijske membrane (kortikalni sloj citoskeleta), malih mikrovila i/ili glikokaliksa na površini ćelije. Tako da razlika u fraktalnim svojstvima upravo potiče od malignih transformacija unutar same ćelije.

Istraživanje Dokukina i saradnika je jedno od retkih istraživanja gde su pokazana svojstva fraktalnosti na nano nivou, zahvaljujući korišćenju naprednih metoda i tehnika AFM tehnologije. Istraživanja ovakvog tipa mogu da pruže uvid i u mehanizam nastanka kancera, ne samo klasifikaciju i selekciju zdravih i bolesnih tkiva ili ćelija.



Slika 14. Reprezentativni AFM HarmoniX snimci i Furijeovi spektri kanceroznih i normalnih ćelija. (a) i (b) predstavljaju topografske slike, dok su (e) i (f) adhezione mape površine ćelija. Odgovarajući Furijeovi spektri za topografske slike dati su na (c) i (d), odnosno za adhezione mape na (g) i (h). Levi deo slike odgovara kanceroznim, a desni normalnim ćelijama.



Slika 15. Distribucija fraktalne dimenzije za adhezione mape kancerovnih i normalnih epitelnih ćelija grlića materice.

1.8. Fraktalna analiza u dijagnostici kancera dojke

Mamografija je za sada najbolji dostupan metod za rano otkrivanje kancera dojke. Redovan mamografski pregled smatra se najboljom preventivom i preporučuje se i asimptomatičnim ženama.

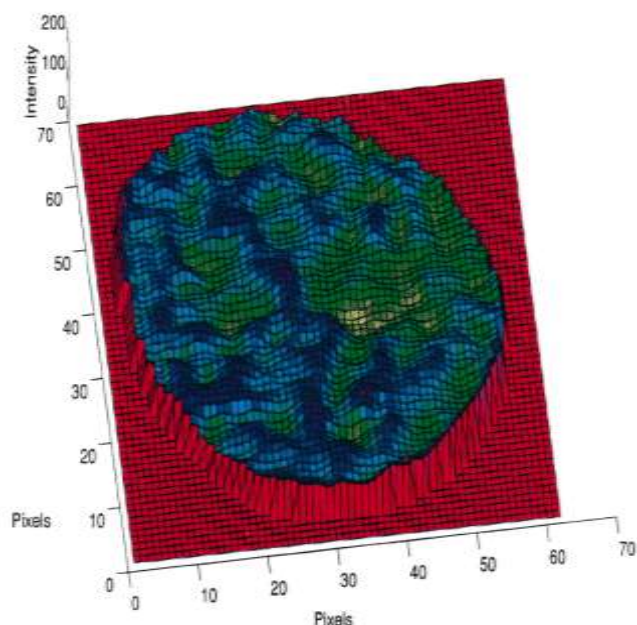
Implementacija različitih kompjuterskih metoda za obradu digitalne slike ima za cilj povećanje tačnosti analize i samim tim povećanje tačnosti i pouzdanosti utvrđene dijagnoze u kompjuterski podržanoj dijagnostici (CAD – Computer Aided Diagnostics). Ključni zahtev za redukciju stope mortaliteta usled kancera dojke, je identifikovanje i uklanjanje malignih tumora u najranijem stadijumu pre metastaziranja.

Postojanje tumora dojke je obično indikovano na mamogramu prisustvom gustih masa i/ili promenama u teksturi ili pojavama distorzije u tkivu dojke (Rangayyan et al., 2007). Kako se čini prema literaturnim izvorima, fraktalna analiza je našla najveću primenu upravo u dijagnostici kancera dojke i to u kako u analizi mamograma, tako i u analizi histopatoloških preparata i citologiji.

Jedna od sad već pionirskih studija primene fraktalne analize u istraživanju kancera dojke, izvršena je 1998. godine od strane Einsteina i saradnika (Einstein et al. 1998). Ova studija primenila je fraktalnu analizu za numeričku deskripciju izgleda hromatina u citologiji epitelnih ćelija dojke dobijenih biopsijom za 19 pacijenata sa benignim epitelijalnim lezijama i 22 pacijenta sa invazivnim duktalnim karcinomom.

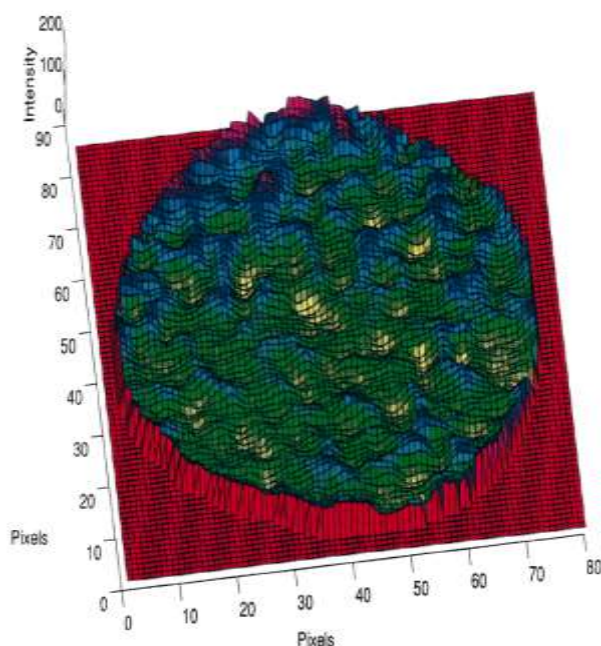
Za svaki od pripremljenih preparata nezavisno je potvrđena dijagnoza od strane patologa i izvršena je akvizicija digitalnih fotografija pomoću mikroskopa opremljenog sa kamerom. Na svakoj slici je nasumično odabrano jedno ćelijsko jedro i izvršena je segmentacija slike.

U ovom istraživanju za karakterizaciju površine jedra normalnih i tumorskih ćelija korišćena je Minkovski-Buliganova (Minkowski-Bouligand) i računata je lakunarnost preko metode klizećih kvadrata (gliding box method).

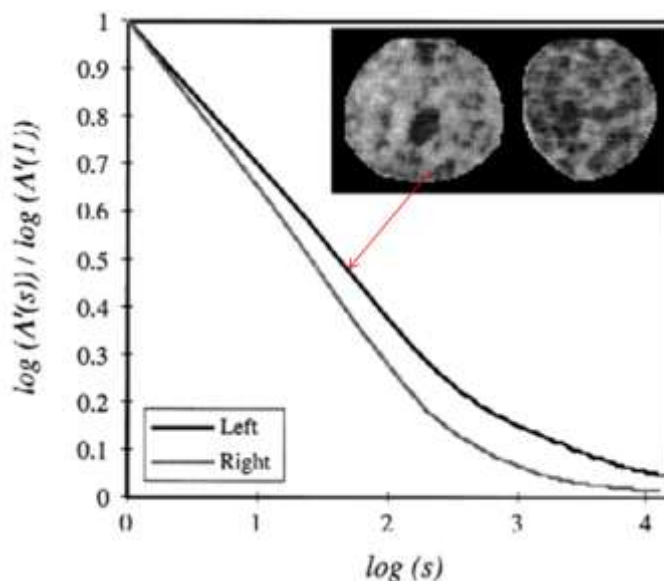


Slika 16. Površina jedra epitelijalne ćelije benignog tumora (Einstein et al. 1998).

Dimenzija Minkovskog za benigne tumore iznosila je 2,527 dok je za maligne bila 2,510 i ova razlika je u maloj meri bila statistički signifikantna ($p=0.067$). U slučaju lakunarnosti (Slika 18) dobijena je statistički značajna razlika između benignih i malignih slučajeva. Kao što se može i ustanoviti vizuelnim pregledom na slikama 17 i 18, jedro malignih ćelija pokazuje mnogo izraženiju teksturu u poređenju sa jedrom benigne ćelije. Lakunarnost u ovom slučaju se pokazala kao vrlo korisna dijagnostička informacija koja karakteriše izgled hromatinske teksture. Za klasifikaciju između benignih i malignih jedara primenjena je veštačka neuronska mreža sa internom metodom verifikacije (*leave-one-out*) i tačnost klasifikacije iznosila je 95.1% slučajeva.



Slika 17. Površina jedra epitelijalne ćelije malignog tumora



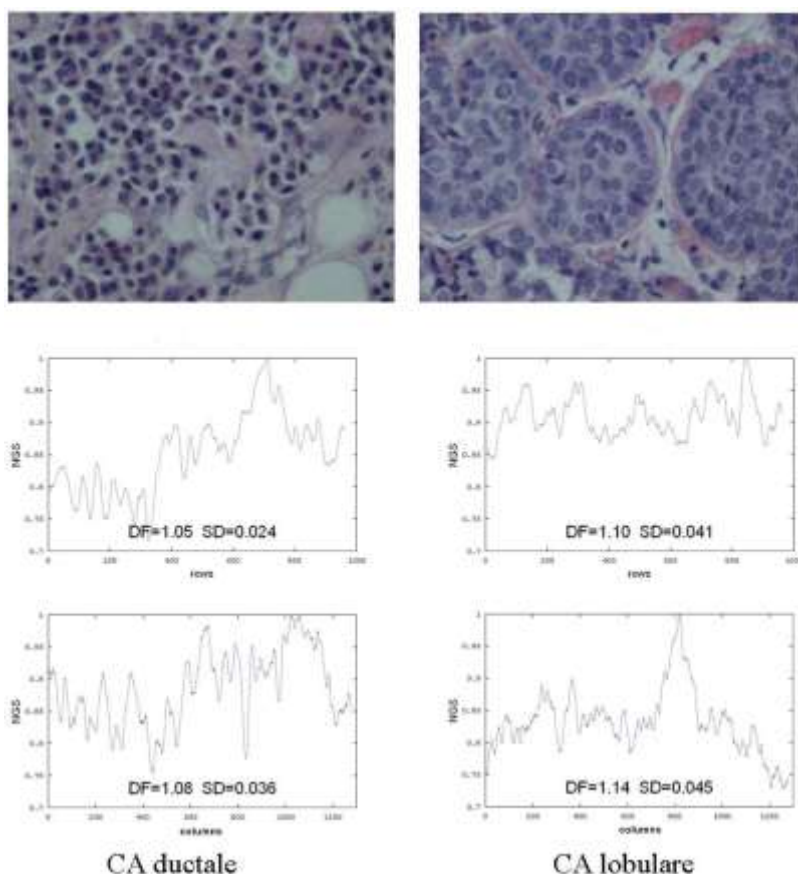
Slika 18. Dva jedra epitelijalnih ćelija sa istom Minkovski-Buliganovom dimenzijom, ali sa različitom lakunarnošću – jedru na levoj strani odgovara veća lakunarnost.

Da je lakunarnost mera koja bolje opisuje svojstva kanceroznih ćelija, pokazalo je i istraživanje Borysa i saradnika 10 godina kasnije (Borys et al. 2008) i to takođe na ćelijama tumora dojke, ali su oni pažnju usmerili na izgled površine vakuola unutar ćelija. Ispitivane su dve linije ćelija tumora dojke, jedne sa snažnim metastatičkim potencijalom i jedne linije sa slabim metastatičkim potencijalom. Za određivanje lakunarnosti korišćen je metod kliznih kvadrata. Zaključak ove studije je da je veća lakunarnost povezana sa ćelijama koji imaju snažniji metastatički potencijal. Ovaj zaključak je u saglasnosti sa povećanom endocitotskom aktivnošću i vezikularnom aktivnošću metastatičkih ćelija.

Već pomenuti Higučijev metod iskorišćen je i za klasifikaciju različitih kancera dojke tzv. Carcinoma ductale i Carcinoma lobulare na osnovu mikroslika histoloških preparata tkiva dojke (Klonowski et al. 2010).

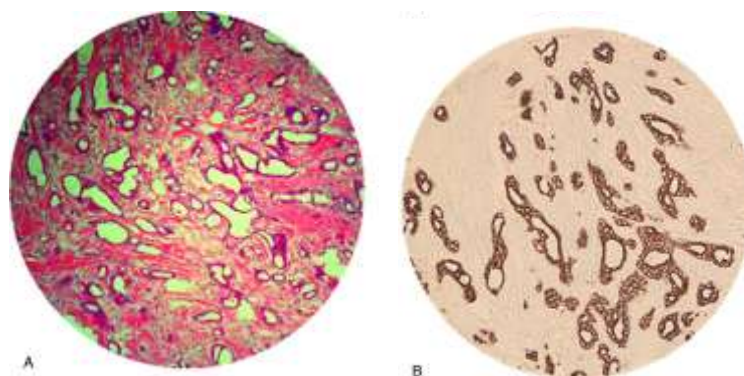
Odgovarajuće mikrofotografije i njihovi određeni horizontalni i vertikalni pejzaži prikazani su na slici 19. Za razliku od prethodnih studija ova studija fokusirala se na određivanje fraktalne dimenzije kontura koje čine benigne i maligne tvorevine, pa lakunarnost nije bila od interesa. Utvrđeno je da su konture benignih tvorevina pokazivale višu Higučijevu fraktalnu dimenziju u poređenju sa dimenzijom malignih tumora dojke. Nažalost, studija nije podrazumevala i analizu mamografskih snimaka, jer nisu bili na raspolaganju. Ipak, kako je zaključeno, konture benignih tvorevina pokazuju veću pravilnost u poređenju sa konturom maligniteta, i fraktalna dimenzija malignih tumora je manja od fraktalne dimenzije benignih tumora. Pod uveličanjem, konture benignih tvorevina pokazuju mnoge sitne nepravilnosti – fluktuacije, dok maligne tvorevine nemaju ovu karakteristiku.

Tambasco i Magliocco su fraktalnu analizu primenili u cilju istraživanja nezavisnog i reproducibilnog sistema za određivanje stadijuma kancera dojke (Tambasco et al. 2007). U praksi je najšire prihvaćen Blum-Ričardsonov sistem za određivanje stadijuma kancera dojke, koji uzima u obzir 3 karakteristike histološkog uzorka: broj mitoza (kao meru ćelijske deobe), polimorfizam ćelijskih jedara (mera promene veličine i oblika ćelija) i tubularne formacije (procenat kancera koji je sastavljen od tubularnih struktura) (Tambaco et al., 2004). Svako od ovih karakteristika dodeljuje se vrednost od 1 do 3 u zavisnosti od toga koliko se razlikuje u odnosu na normalan epitel dojke. Svaka od ovih karakteristika može različito biti ocenjena od strane različitih patologa i otuda potreba za nezavisnom, kvantitativnom merom koja može da obezbedi veću reproducibilnost.



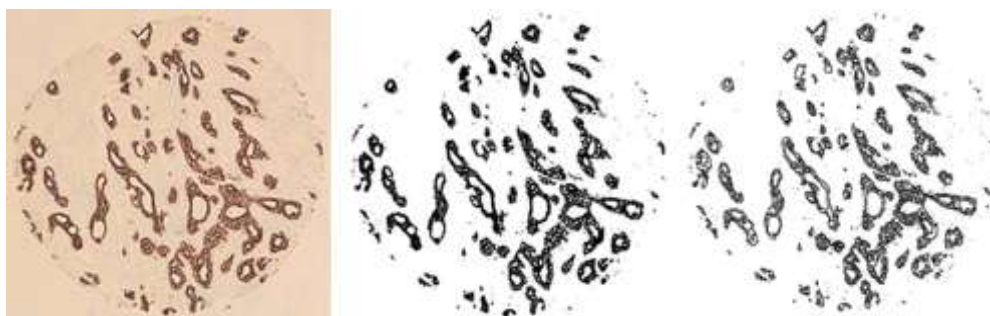
Slika 19. Mikroskopske slike dva tipa karcera dojke – Carcinoma ductale (levo) i Carcinoma Lobulare (desno), kao i odgovarajućih horizontalnih i vertikalnih pejzaža i njihovih Higučijevih dimenzija (Klonowski, 2010)

U istraživanju su korišćena 32 uzorka tumora stadijuma 1, 41 uzorak tumora u stadijumu 2, i 24 uzoraka tumora stadijuma 3. Uzorci su bojeni sa hematoksilinom i eozinom (H&E, Slika 20A), što je deo standardne procedure i stadijum tumora je ocenjen od strane patologa prema Blum-Ričardsonovom sistemu. Međutim, kako je utvrđeno u radu, ova procedura bojenja nije optimalna za fraktalnu analizu jer osim epitelijalnih ćelija, ovaj tip bojenja takođe zahvata i stromalne ćelije, kao i ekstracelularne strukture poput kolagena i elastina, i zbog toga predstavlja problem za izdvajanje struktura od interesa. Iz tog razloga urađeno je i bojenje pan-keratinom (Slika 20B) koje obezbeđuje bolju selekciju objekata od interesa. Uzorci bojeni pan-keratinom su snimani korišćenjem mikroskopa i digitalne kamere sa uvećanjem od 100 puta i rezolucijom 3090x3090piksela.



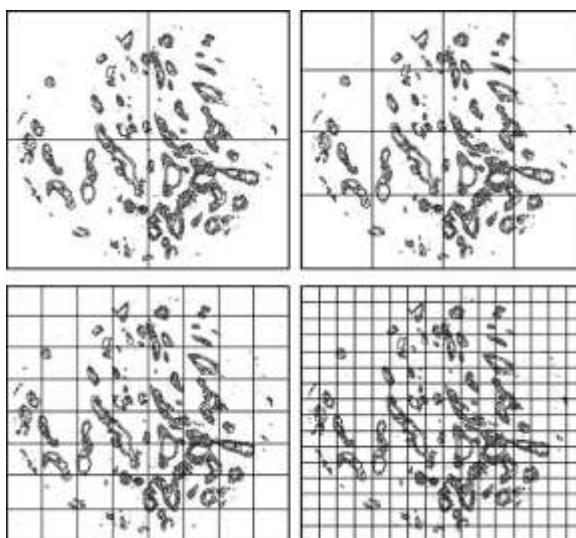
Slika 20. Histološki preparati tkiva dojke bojeni A) H&E, B) pan-keratinom (Tambasco et al., 2004)

Originalna pan-keratinom bojena slika je podvrgnuta binarizaciji kao što je to prikazano na slici 21 i zatim su sa binarne slike (predstavljena u sredini) izvlačene samo arhitekturne karakteristike (konture) od interesa na koju je primenjena metoda brojanja kvadrata za određivanje fraktalne dimenzije.



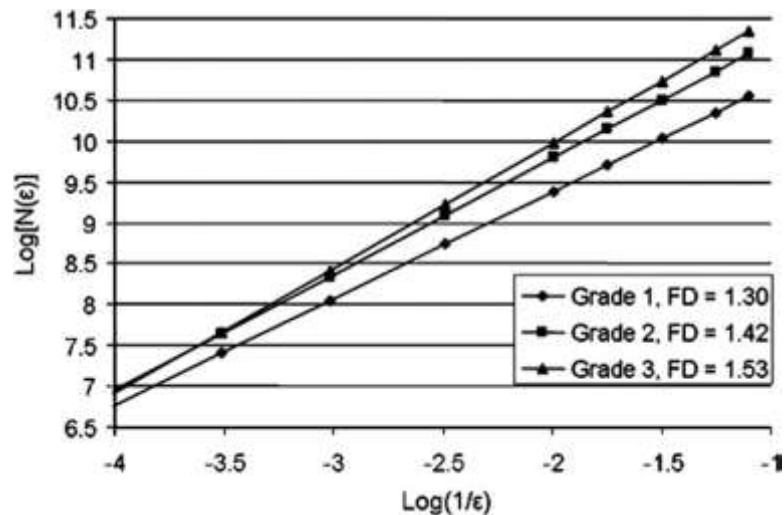
Slika 21. Originalna slika pan-keratinom bojenog preparata tumora stadijuma 1 (levo), konvertuje se u binarnu sliku (sredina), i zatim se sa nje izvlače samo konture od interesa za analizu (desno)(Tambasco et al., 2004)

Strukture od interesa bile su isključivo epitelijalne karakteristike. Slika 22 ilustruje proces primene metode brojanja kvadrata na dobijenu sliku. Slika je podeljena na mrežu kvadrata različitih dužina ivice ϵ , i broj kvadrata $N(\epsilon)$ potrebnih da se prekriju sve strukture od interesa se računa. Nagib krive $\log[N(\epsilon)]$ u zavisnosti od $\log[1/\epsilon]$ daje fraktalnu dimenziju (Slika 23).

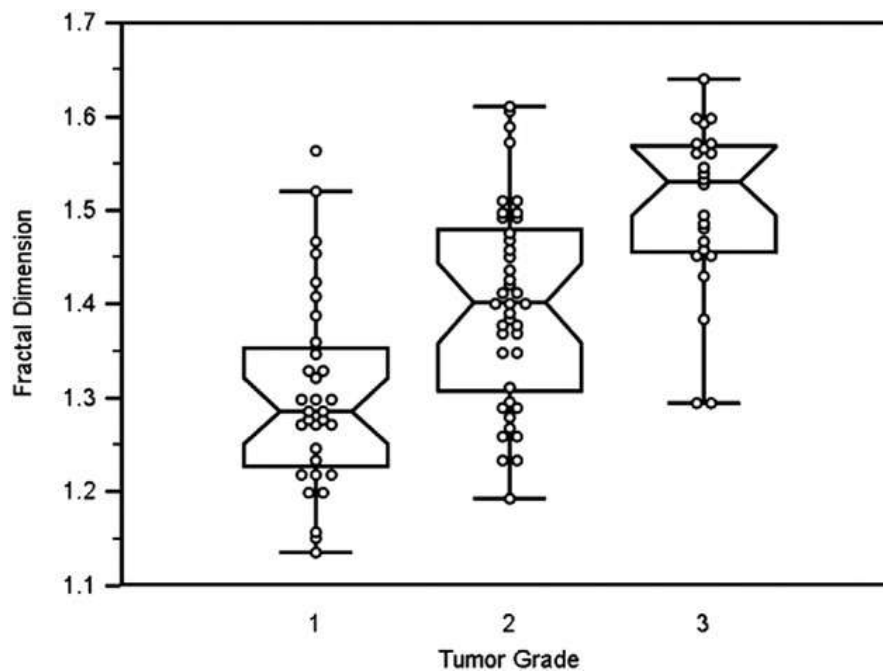


Slika 22. Grafički prikaz metode prebrojavanja kvadrata: binarna slika (na kojoj se nalaze strukture od interesa) se prekriva blokovima različitih veličina i računa se broj kvadrata potrebnih da se pokriju sve konture struktura od interesa (Tambasco et al., 2004)

Rezultati analize obrađeni su statistički i prikazani na box-plotu na slici 24. Kao što se može videti srednja vrednost fraktalne dimenzije i generalna distribucija fraktalne dimenzije se povećavaju sa višim stadijumom razvoja tumora, što je indikuje da kompleksnost epitelijalnih struktura raste sa kako se diferencijacija tumora smanjuje. Ovo takođe pokazuje da je fraktalna dimenzija objektivna i ponovljiva mera ove kompleksnosti i može se koristiti za utvrđivanje stadijuma razvoja tumora. Iako je u ovom istraživanju fraktalna analiza korišćena za razlikovanje stadijuma tumora, može se zaključiti da ona pokazuje i potencijal za razlikovanje benignih od malignih tumora pošto je očekivano da između njih postoji još veća razlika u kompleksnosti.



Slika 23. Reprezentativni grafik koji se koristi za određivanje fraktalne dimenzije. Fraktalna dimenzija dobija se kao nagib linije u log-log dijagramu (Tambasco et al., 2004)

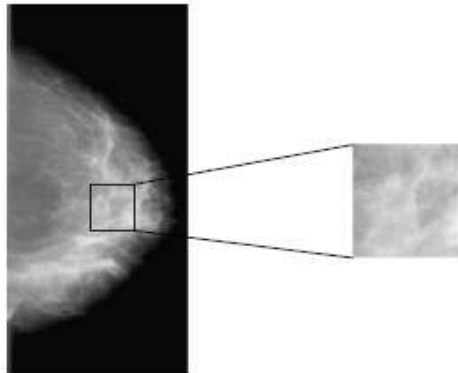


Slika 24. Box-plot prikaz distribucije fraktalne dimenzije za tumore stadijuma 1, 2 i 3 (Tambasco et al. 2004)

Kao što je već pomenuto, obrada i analiza mamograma je vrlo interesatno područje praktične primene fraktalne analize. Opšte je prihvaćeno mišljenje da ljudski vizuelni sistem nije dovoljno dobar u diskriminaciji slika, naročito kompleksnih kao što su mamogrami, a s druge strane, različite osobe različito vide, pa je tako dijagnoza na osnovu mamograma zapravo zavisna od ljudskog faktora. Rešenje za ovu problematiku može se naći u primeni fraktalne analize mamograma.

Jedno od prvih takvih istraživanja uradili su Li i saradnici (Li et al. 2004). Istraživanje je obuhvatalo komparativnu evaluaciju kompjuterski izdvojenih karakteristika tekture parenhima dojke na mamogramu. U studiji su analizirani mamogrami 172 ispitanika, od koji je 30 ispitanika imalo mutacije na genima BRCA1 ili BRCA2 koji su povezani sa povećanim rizikom od nastanka raka dojke. Sa mamograma je izdvajao region od interesa kako je prikazano na slici 25, iz centralnog regiona dojke iza bradavice. Sa ovako izdvojenog regiona, izračunate su različite fraktalne teksturne karakteristike parenhima.

Najbolji rezultati dobijeni su u poređenju mere asimetričnosti koja je u vezi sa većom gustinom parenhima kako se vidi na mamogramu. Ova vrednost je iznosila 0,72 za populaciju žena nosioca mutiranih gena i povećanim rizikom za nastanak raka dojke, dok je iznosila 0,74 za ispitanice sa normalnim rizikom. Fraktalna dimenzija nije pokazala potencijal za razlikovanje grupe sa povećanim rizikom od grupe sa normalnim rizikom.



Slika 25. Ekstrakcija regiona od interesa na mamogramu (Li et al., 2004)

Drugi tip analize mamograma uradili su Rangayyan i Nguyen (Rangayyan et al. 2007). Prisustvo tumora je obično na mamogramu indikovano pojavom gustih masa ili promenom u strukturi. Tipična benigna tvorevina je ovalna i glatka, sa jasno definisanom konturom, dok maligna masa ima razućenu konturu, sa mnoštvom oštrih krakova, hrapave je površine i ima zamućenu konturu (Rangayyan et al. 2007).

Fraktalna analiza primenjena je na karakterizaciju oblika i kompleksnosti skale nijansi sivog na mamogramu. Na skupu podataka od 111 kontura tipičnih i atipičnih masa i tumora dojke, računata je fraktalna dimenzija i to korišćenjem različitih metoda – metodom prebrojavanja kvadrata i metodom delitelja. Pored ovih fraktalnih dimenzija oni su predložili još dve mere, takozvane faktore oblika: kompaktnost i indeks razućenosti (spiculation index SI).

Kompaktnost kao mera koliko efikasno kontura zatvara obuhvaćeno područje data je kao:

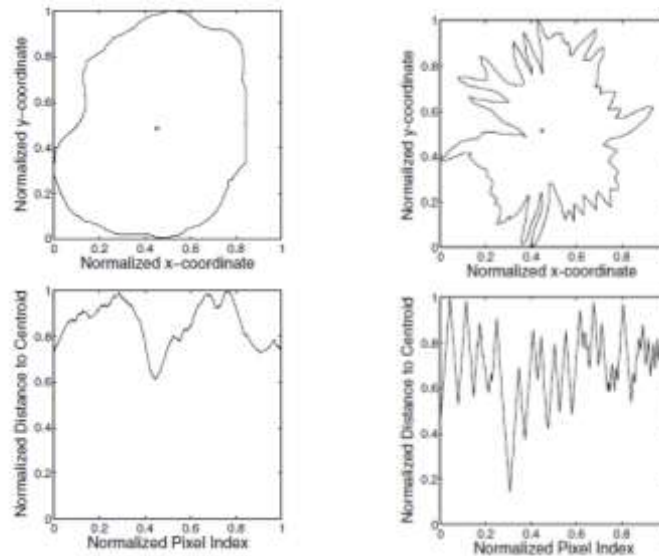
$$C = 1 - \frac{4\pi A}{P^2},$$

gde su P i A obim konture i površina obuhvaćena konturom, respektivno. Visoka kompaktnost znači da kontura velikog obima obuhvata malu površinu. Tako, tipična benigna masa bi imala male vrednosti kompaktnosti u poređenju sa malignom masom (Slika 26).

Indeks razućenosti SI je mera izvedena kombinovanjem dužine izraštaja (kraka, pika, izrasline) i osnove svakog pojedinačnog izraštaja na konture posmatrane mase (Rangayyan et al. 2007).

Benigne mase su obično ovalne i glatke, i zato imaju manje vrednosti indeksa razućenosti u poređenju sa malignim masama.

Kako su pokazali rezultati, fraktalne dimenzije računata obema metodama pokazale su potencijal klasifikacije između tipičnih i atipičnih masa i tumora i to u stepenu komparabilnom sa faktorima oblika. Fraktalna dimenzija je pokazivala bolju mogućnost klasifikacije između benignih tumora od faktora oblika, ali je bila manje tačna kada je u pitanju razlikovanje malignih tumora. Fraktalna dimenzija u kombinaciji sa faktorima oblika kao što su indeks razućenosti i kompaktnost, davala je bolju tačnost klasifikacije malignih tumora.



Slika 26. Primer konture benignog tumora dojke (levo) i konture malignog tumora (desno) i njihove odgovarajuće fraktalne karakteristike (Rangayyan et al. 2007).

Ovi rezultati sugerišu da se fraktalna dimenzija, sama ili u kombinaciji sa dodatno definisanim fraktalnim karakteristikama oblika može primeniti na klasifikaciju benignih i malignih tumora dojke na osnovu mamograma i tako pomoći u dijagnostici tumora dojke.

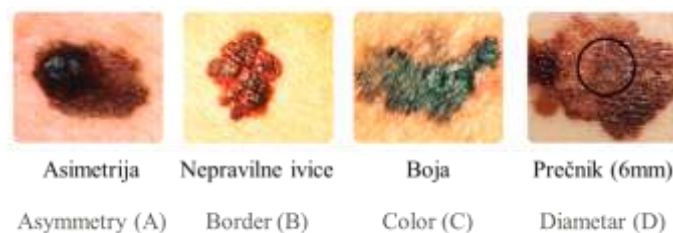
1.9. Fraktalna analiza u dijagnostici kancera kože

Koža je najveći organ ljudskog organizma koji ima zaštitnu ulogu. Koža zadržava vodu i druge telesne tečnosti unutar tela, pomaže u regulisanju telesne temperature i vrši brojne kompleksne funkcije.

Kancer kože je jedan od najčešćih vrsta kancera, koji čini 50% od svih slučajeva kancera. Kancer kože predstavlja malignu izraslinu na koži koja može nastati usled različitih uzroka, a najčešće usled izlaganja kože ultraljubičastom zračenju (Uthayakumar et al., 2009). Kancer kože se generalno razvija u epidermisu, krajnjem spoljnom površinskom sloju kože, pa je usled toga tumor uglavnom vidljiv što znači da se može otkriti u ranim fazama razvoja.

Postoje tri tipa kancera kože: bazocelularni karcinom (*Basal cell carcinoma - BCC*), planocelularni karcinom (*Squamous cell carcinoma - SCC*) i maligni melanom, koji predstavlja jedan od najopasnijih karcinoma jer ima izuzetno veliki potencijal za nastanak metastaza. Sve tri vrste karcinoma, čak i najopasniji melanom, se mogu vrlo lako lečiti ukoliko se otkriju na vreme.

Karakterizacija kože i kožnih lezija se vrši najčešće sa aspekta fizičkih karakteristika kao što su oblik, ivice, boja i tekstura kože. Za dijagnozu kancera kože se koriste tzv Menziesov metod ili ABCD metod (ilustracija prikazana na slici 27); oba metoda se zasnivaju na analizi fizičkih karakteristika. Senzitivnost ovih metoda u kliničkoj praksi dijagnostifikovanja malignog melanoma iznosi samo 65-80% (Mastrolonardo et al., 2006).



Slika 27. ABCD pravilo za prepoznavanje malignog melanoma na osnovu fizičkih karakteristika (adaptirano na osnovu izvora: web3)

Pionirski poduhvat u primeni fraktalne analize na detekciju kancera kože učinili su indijski matematičari Uthayakumar i Jayalalitha (Uthayakumar, Jayalalitha, 2009), koji su značajan doprinos dali i u oblasti detekcije i utvrđivanja stadijuma kancera grlića materice. U ovom istraživanju oni su primenili metod brojanja kvadrata i Sosidžov metod (Sausage) za određivanje fraktalne dimenzije kožnih lezija u cilju utvrđivanja kancera kože i stadijuma kancera kože. Istraživanje je izvršeno na uzorku od 20 različitih kožnih lezija (Slika 3.6 - 28).



Slika 3.6 - 28. Uzorci kožnih lezija (Slike 1-6 su atipične lezije, 7-13 benigne lezije, 14-20 melanom) (Uthayakumar, Jayalalitha, 2009)

Eksperimentalni rezultati su jasno pokazali da u zavisnosti od tipa kožne lezije, atipične, benigne ili malignog melanoma, fraktalne dimenzije računane po metodu brojanja kvadrata ili metodu Sosidža se menjaju. Svaka od ovih lezija ima svoj tip nepravilnosti ivica kojem odgovara različita fraktalna dimenzija. U zavisnosti od fraktalne dimenzije može se proceniti i stadijum kancera, i što je fraktalna dimenzija veća, to je u pitanju kasniji stadijum kancera.

Istraživanja primene fraktalne analize u ranoj dijagnostici melanoma su prilično retka. Razlog tome je broj faktora koje treba uzeti u obzir kada je u pitanju melanom je prilično visok. Kako naglašavaju Mastrotonardo i saradnici, postoje tri obavezne kategorije svojstava koje se moraju uzeti u razmatranje u dijagnostici melanoma (Mastrotonardo et al. 2006).

Kao prvo, postoji veliki broj morfoloških karakteristika koje treba uzeti u obzir pri kompjuterskoj analizi, koje opet pokazuju veliku varijabilnost i kod benignih i kod malignih lezija. Druga važna kategorija koja se mora imati na umu je dimenzija lezije, koja se vrlo često zapostavlja usled prevelike fokusiranosti na boju lezije. Dakle, metod koji ima za cilj dijagnostifikovanje melanoma na osnovu digitalne slike, mora osim boje i varijabilnosti boja karakterističnih za melanom, uzeti u obzir i dimenzije ovih lezija, kao i njihovu varijabilnost.

Treća neophodna kategorija uzima u obzir nepravilnost, odnosno iregularnost melanoma, koja se može opisati samo sa stanovišta ne-linearnih teorija i metodologija, pri čemu se naročita važnost treba dati analizi šuma i dinamike haosa. Metod koji uzima u obzir simultano analizu boje, analizu visoke varijabilnosti karakteristika lezija i fraktalne prirode ivice lezija, mora koristiti nelinearnu metodologiju (Mastrotonardo et al. 2006).

Ovako definisane potrebe koje jedan algoritam za ranu detekciju melanom treba da ispuni predstavljaju težak zadatak za buduće istraživače. Za sada su predložene samo dve metode zasnovane na primeni fraktalne analize – Variogram metoda (Mastrotonardo et al. 2006) i metod multifraktalne analize koji koristi lokalni Hurstov eksponent (Pasoni et al. 2003). Obe metode, za razliku od svih prethodno pominjanih, koriste RGB slike kako bi uključile više uticajnih faktora, s tim što metoda variograma se primenjuje na makro slike lezija dok je druga metoda primenjena na analizu histopatoloških preparata. Obe studije prijavile su ohrabrujuće preliminarne rezultate.

1.10. Reference

- Baish J.W., Jain R.K., Fractals and Cancer, *Cancer Res*, Vol.60, pp.3683-3688, 2000
- Bizzarri M., Guliani A., Cucina A., D'Anselmi F., Soto A.M., Sonnenschein C., Fractal analysis in a systems biology approach to cancer, *Seminars in Cancer Biology*, Vol.21, pp.175-182, 2011
- Borys P., Krasowska M., Grzywna Z.J., Djamgoz M.B.A., Mycielska M.E., Lacunarity as a novel measure of cancer cells behavior, *Byosystems*, Vol. 94, pp.276-281, 2008
- Cross, S.C., The Application of Fractal Geometric Analysis to Microscopic Images, *Micron*, Vol.25, No.1, pp.101-113, 1994
- Dokuin M.E., Guz N.V., Gaikwad R.M., Woodworth C.D., Sokolov I., Cell surface as fractal: normal and cancerous cervical cells demonstrate different fractal behaviour of surface adhesion maps at the nanoscale, *Physical Review Letters*, Vol.107, No.2 pp. 028101-1-4, 2011
- Einstein A.J., Wu H-S., Sanchez M., Gil J., Fractal characterization of chromatin appearance for diagnosis in breast cytology, *Journal of Pathology*, Vol. 185, pp.366-381, 1998
- Falconer K., *Fractal Geometry: Mathematical Foundations and Applications*, Joh Wiley, Chicester, 1990
- Ferlay J., Bray P., Pisani P. et al. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, IARC Cancer Base, No.5, Version 2.0, IARC press, Lyon, 2004
- Goldberger A.L., Amaral L.A.N., Hausdorff J.M., Ivanov P.Ch., Peng C.-K., and Stanley H.E., Fractal dynamics in physiology: Alterations with disease and aging, *PNAS*, Vol. 99, Suppl.1, pp.2466-2472, 2002
- Gulick D., *Encounters with Chaos*, McGraw-Hill, New York, 1992
- Higuchi T., Approach to an irregular time series on the basis of the fractal theory, *Physica D: Nonlinear Phenomena*, Vol.31, No.2, pp.277-283, 1988
- Jayalitha G., Uthayakumar, Recognition of Cervical Cancer Based on Fractal Dimension, *Advances in Recent Technologies in Communication and Computing*, ARTCOM International Conference on. IEEE, pp. 532-536, 2009
- Jayalitha G., Uthayakumar, Fractal approach to identify the grade of cervical cancer, *Fractals*, Vol. 19, No.1, pp.125-139, 2011
- Klonowski W., Signal and image analysis using chaos theory and fractal geometry, *MacGraphVis*, Vol.9, No.1/2, pp.403-431, 2000
- Klonowski W., Stepien R., Stepien P., Simple fractal method of assessment of histological images for application in medical diagnostics, *Nonlinear Biomedical Physics*, Vol.4, No.7, 2010
- Li H., Giger M.L., Olopade O.I., Margolis A., Lan L., Bonta I., Computerized texture analysis of mamographic parenchymal patterns of digitized mammograms, *International Congress Series*, Vol. 1268, pp.878-881, 2004
- Lopes R., Betrouni N., Fractal and multifractal analysis: A review, *Medical Image Analysis*, Vol. 13, pp.634-349, 2009
- Mandelbort B.B. Stochastic models for the Earth's relief, the shape and the fractal dimension of the coastlines, and the number-area rule for islands. *Proc Natl Acad Sci USA* Vol. 72, pp. 3825-8, 1975

Mandelbrot B.B. The Fractal Geometry of Nature, New York: W.H. Freeman, 1982

Mastrolonardo M., Conte E., Zbilut J.P., A fractal analysis of skin pigmented lesions using the novel tool of the variogram technique, Chaos, Solitons and Fractals, Vol. 28, pp.1119-1135, 2006 enhancement using local Hurst exponent, Fractals, Vol. 12, No.1, pp.87-93, 2004

Pasoni L.I., Arizmendi C.M., Melanoma detection with histopathology image

Peitgen H.-O., Jurgens H., Sauper D., Fractals in the Classroom: Part One – Introduction to Fractals and Chaos, Springer, New York, 1992

Rangayyan R.M., Nguyen T.M., Fractal Analysis of Contours of Breast Masses in Mammograms, Journal of Digital Imaging, Vol. 20, No.3, pp.223-237, 2007

Russel D., Hanson J., Ott E., Dimension of strange attractors, Physical Review Letters, Vol 45, No. 14, pp.1175-1178, 1980

Stein G.S., Van Wijnen A.J., Stein J.L., Lian J.B., Pocwinse S.H., McNeil S., Implications for interrelationships under microgravity conditions. FASEB J Vol.13, pp.157-66, 1999

Tambasco M., Magliocco A.M., Relationship between tumor grade and computed architectural complexity in breast cancer specimens, Human pathology, Vol.39, pp.740-746, 2008

Uthayakumar R., Jayalalitha G., Border detection of skin cancer cells with fractal dimension, Fractals, Vol. 17, No.2, pp.171-180

1. <http://www.scielo.br/img/fbpe/bjp/v28n2/28n2a7f5.gif>
2. <http://fromaardvarkstozinc.blogspot.com/2008/11/math-fractal.html>
3. <http://classes.yale.edu/fractals/fracanddim/boxdim/KochBoxDim/KochBoxDim.html>
4. <http://www.webmd.com/melanoma-skin-cancer/abcs-of-melanoma-skin-cancer>