

## Titolo

Una piattaforma digitale multi-parametrica per la didattica laboratoriale della patologia tissutale e per testare i metodi di analisi di immagini sviluppati all'interno della Fisica Applicata

## Descrizione degli obiettivi del progetto di ricerca

Al fine di: 1. armonizzare la didattica laboratoriale della Patologia Generale tra i campus di Medicina dell'Università di Bologna; 2. consentire agli studenti del corso di Fisica Applicata di testare i metodi di analisi della patologia dei tessuti; 3. fornire ai ricercatori in campo biomedico dell'Ateneo un metodo accessibile di indagine di biomarcatori di malattia; **ci proponiamo di: (a) creare un database digitale di campioni istopatologici** che non si limiti alla descrizione morfologica attraverso la colorazione ematossilina eosina (EE), ma che comprenda marcatori tissutali, evidenziati tramite immunistochimica (IHC) ed immunofluorescenza (IF), caratterizzanti alcune patologie dal punto di infiammatorio e immunologico; **(b) sviluppare un software di analisi della distribuzione spaziale di vari componenti cellulari, della matrice tissutale e dei marcatori da essi espressi.** Questo progetto rappresenta il punto di partenza per lo sviluppo di una disciplina di didattica integrata dell'Ateneo utile per l'indagine clinico-diagnostica.

**(a) Creazione del database digitale.** Verranno selezionati campioni istologici, rappresentanti le condizioni istopatologiche trattate comunemente nei moduli didattici del corso di Laurea di Medicina: flogosi, degenerazioni, tumori epiteliali benigni e maligni. Dalle inclusioni in paraffina saranno allestiti vetrini seriali da processare con EE, IHC e IF. Per le colorazioni useremo i seguenti anticorpi: marcatori cellule del sistema immunitario (CD3, linfociti; CD4 T, helper; CD8, T citorossici; CD19, Linfociti B; CD16, Natural killer; CD11b, macrofagi; CD14, dendritiche), marcatori di flogosi (CD31, endotelio; CD106/VCAM1), e marcatori tumorali (Ki67, proliferazione; HER2, mammella; PSA, prostata; PD-L1, polmone). I preparati istopatologici saranno scansionati tramite l'Olympus Slideview VS200 disponibile al Dipartimento di Medicina Specialistica, Diagnostica e Sperimentale (DIMES). L'utilizzo del sistema VS200 consentirà l'acquisizione di immagini a risoluzione variabile (da 2x a 100x) e l'osservazione in fluorescenza dei preparati con differenti modalità: immagini singole, multicanale, z-stack e multiplexing. Il database generato verrà reso disponibile per i Corsi di Studio di Medicina e Fisica Applicata, e ad eventuali Corsi di Studio che ne facciano richiesta, all'interno di una piattaforma dedicata che verrà integrata sulla piattaforma di Microscopia Digitale dell'Università di Bologna (<https://unibo.smartzoom.com/>). In caso di incompatibilità con i formati immagine generati, sulla facility disponibile presso il Dipartimento di Fisica e Astronomia (20 rack da 1000 Core, 100 TB di spazio Disco, 100 TB di spazio Tape).

**(b) Sviluppo del software di analisi.** I campioni scansionati verranno analizzati con tecniche statistiche e di Intelligenza Artificiale. I tasks da implementati riguarderanno: i) segmentazione e conteggio cellule; ii) quantificazione della colorazione; iii) riconoscimento dei tipi cellulari e analisi di pattern morfologici (cellule tumorali, nuclei, divisioni cellulari, dotti, vasi sanguigni, doi:10.1007/s00428-019-02594-w); iv) classificazione dei vetrini e modelli predittivi basati sull'integrazione delle misure ottenute usando diversi marcatori; v) estrazione di misure di statistica spaziale a partire dagli elementi segmentati per introdurre nei modelli di classificazione un ulteriore strato di informazione, oltre che di predire specifici pattern molecolari per migliorare la diagnosi personalizzata (Figura 1).

I risultati ottenuti verranno utilizzati per l'implementazione di modelli di Intelligenza Artificiale per la predizione delle diverse patologie presenti nei vetrini del database. I modelli finali e una spiegazione del loro funzionamento e dei risultati (potere predittivo, errore, esempi di classificazione, ecc.) ottenuti verranno inclusi nel repository contenente gli algoritmi generati sotto forma di tutorials fruibili dagli operatori finali: studenti e ricercatori.

## **Illustrazione del Piano di Attività**

Di seguito l'elenco delle attività che verranno svolte nel corso del progetto di patomica in arco di tempo di 12-15 mesi.

### **Tasks per la parte di istopatologia:**

- Selezione dei preparati istopatologici per l'impiego nella didattica (per il laboratorio di Patologia Generale del terzo anno del corso di Studio in Medicina) (2 mesi)
- Preparazione e colorazione dei vetrini (2-6 mesi)

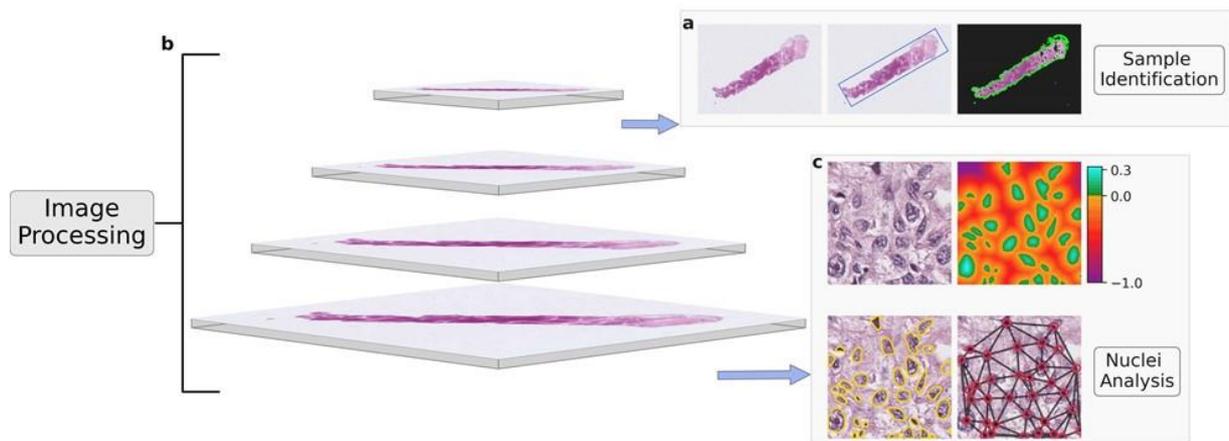
### **Tasks per la parte computazionale:**

- Messa a punto di un protocollo di scansione e gestione dello scanner (1 mese)
- Scansione dei vetrini (2 mesi)
- Creazione di una piattaforma contenente il database di vetrini scansionati (1 mese)
- Sviluppo e implementazione di metodi statistici e di Intelligenza Artificiale per la segmentazione e l'analisi dei vetrini (2 mesi)
- Creazione di un repository contenente gli algoritmi sviluppati che sarà messo a disposizione dei Corsi di Studio di Medicina e Fisica Applicata e divulgazione del database e del repository presso i Corsi di Studio di Medicina e di Fisica Applicata (1 mese)

**I compiti dell'assegnista** finanziato in questo contesto saranno quelli di procedere alla colorazione, alla scansione dei vetrini, alla gestione dello scanner, all'implementazione di algoritmi per l'analisi delle immagini e alla produzione di materiale divulgativo, manuale d'uso e tutorial di supporto al database e agli algoritmi sviluppati.

Nella scelta e nell'allestimento dei preparati istologici, la PI e l'assegnista collaboreranno con l'Anatomia Patologica dell'Ospedale Maggiore di Bologna. L'assegnista potrà utilizzare lo scanner disponibile al DIMES e verrà formato sul suo utilizzo dai componenti del gruppo di Fisica Applicata del DIMES.

Per quanto riguarda il processing computazionale delle immagini, l'assegnista avrà a disposizione la facility del gruppo di Fisica Applicata disponibile presso il Dipartimento di Fisica e Astronomia.



**Figura 1.** Rappresentazione grafica del processing delle immagini scansionate usando la libreria OpenHiP. OpenHiP garantisce una gestione completa dei files WSI usando metodi di multi-risoluzione per l'esportazione totale dei dati. **a)** Usando livelli a bassa risoluzione, è possibile ottenere una rapida ed accurata segmentazione e identificazione del campione. **b)** OpenHiP fornisce un insieme di algoritmi per il processing completo dell'immagine: standardizzazione, correzione del contrasto, decomposizione dei colori. **c)** Usando i livelli ad alta risoluzione OpenHiP fornisce una serie di modelli supervisionati e non supervisionati per l'identificazione dei nuclei, la caratterizzazione di features morfologiche e la segmentazione. Queste informazioni possono essere poi usate come input per l'analisi statistica spaziale e per i task di classificazione (gentilmente concesso da N. Curti gruppo Fisica Applicata DIMES, sottomesso per la pubblicazione).