



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
"ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ"**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σύστημα αυτόματης διάγνωσης καρκίνου θυρεοειδούς αδένα
από κυτταρολογικές εικόνες**

Βασιλική Γ. Τσιμπίδα

Επιβλέπων: Διονύσης Κάβουρας, Καθηγητής ΤΕΙ-Α

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2013

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Σύστημα αυτόματης διάγνωσης καρκίνου θυρεοειδούς αδένα από κυτταρολογικές
εικόνες

Βασιλική Γ. Τσιμπίδα

A.M.: ΠΙΒ11 - 069

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Διονύσης Κάβουρας, Καθηγητής ΤΕΙ-Α

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: Διονύσης Κάβουρας, Καθηγητής ΤΕΙ-Α
Μανώλης Σαγκριώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ
Σπύρος Κωστόπουλος, Μεταδιδακτορικός ερευνητής ΤΕΙ-Α

Ιούλιος 2013

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη αλγορίθμων αναγνώρισης προτύπων για το σχεδιασμό συστήματος ταξινόμησης καρκίνου του θυρεοειδούς αδένου (καλοήθεια-κακοήθεια), μέσω της επεξεργασίας και ανάλυσης κυτταρολογικών εικόνων.

Η διαδικασία περιλαμβάνει την ψηφιοποίηση εικόνων μικροσκοπίας από πρωτογενές υλικό, σε ειδικά παρασκευασμένα πλακίδια, επεξεργασμένο με χρώση Αιματοξυλίνης-Ιωσίνης. Το υλικό περιλαμβάνει είκοσι δείγματα βιοψίας θυρεοειδούς αδένου από αντίστοιχα περιστατικά, διαγνωσμένα από έμπειρο ιστοπαθολόγο ιατρό.

Για το σχεδιασμό και την υλοποίηση του συστήματος χρησιμοποιήθηκαν δέκα (10) εικόνες καλοήθειας και δέκα (10) εικόνες κακοήθειας θυρεοειδούς αδένου. Το σύστημα αρχικά περιλαμβάνει αλγόριθμους προ-επεξεργασίας και τμηματοποίησης κυτταρολογικών εικόνων για την εύρεση των περιοχών ενδιαφέροντος (πυρήνες). Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν αλγόριθμοι τμηματοποίησης εικόνων μικροσκοπίας (κατωφλίωση με σταθερό κατώφλι, κατωφλίωση με προσαρμοζόμενο κατώφλι, μέθοδος Otsu) για την εύρεση της βέλτιστης λύσης και συγκρίθηκαν με αντίστοιχα εμπορικά πακέτα, όπως ImPro, όπου παρατηρήθηκε ότι οι εικόνες αυτού του πακέτου ήταν ευδιάκριτες σε πολύ μεγάλο βαθμό, χωρίς αλληλοεπικαλύψεις κυτταρικών πυρήνων. Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του ImPro, από τις εικόνες καλοήθειας προέκυψαν 217 τμηματοποιημένοι κυτταρικοί πυρήνες και από τις εικόνες κακοήθειας 328 τμηματοποιημένοι κυτταρικοί πυρήνες. Στη συνέχεια από αυτούς τους πυρήνες έγινε εξαγωγή πέντε (5) μορφολογικών χαρακτηριστικών και δώδεκα (12) χαρακτηριστικών υψής. Κατόπιν, υλοποιήθηκαν οι ταξινομητές Ελάχιστης Απόστασης, Πλησιέστερου Γείτονα, Μπαεσσανός και Πιθανοκρατικό Νευρωνικό Δίκτυο για την ταξινόμηση των κυτταρικών πυρήνων σε δύο κατηγορίες. Για κάθε έναν ταξινομητή, βρέθηκε ο βέλτιστος συνδυασμός χαρακτηριστικών, εφαρμόζοντας μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών τη Sequential Backward Selection και την εξαντλητική αναζήτηση. Το προτεινόμενο σύστημα αξιολογήθηκε με Leave-One-Out μέθοδο αξιολόγησης. Η ακρίβεια του συστήματος σε 'νέα' δεδομένα αξιολογήθηκε με την External Cross Validation.

Οχτώ (8) χαρακτηριστικά παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.001$) σύμφωνα με το στατιστικό τεστ Wilcoxon. Το σύστημα ταξινόμησε με 95% επιτυχία τους κυτταρικούς πυρήνες στις δύο κατηγορίες, χρησιμοποιώντας το ταξινομητή 3 Πλησιέστερων Γειτόνων. Το προτεινόμενο σύστημα ταξινομεί 'νέους' κυτταρικούς πυρήνες με 93% ακρίβεια.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Επεξεργασία και Ανάλυση Εικόνας

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: τμηματοποίηση, εξαγωγή χαρακτηριστικών, αναγνώριση προτύπων, καρκίνος θυρεοειδούς, μικροσκοπία

ABSTRACT

The purpose of the present thesis is the study of classification algorithms for the design of a pattern recognition system to characterize thyroid gland cancer to benign or malignant categories, based on the processing and analysis of cytological images.

The process includes the digitization of microscopy images from the cytological material, in specially prepared specimens, processed with Hematoxylin-Eosin stain. The material includes twenty (20) thyroid gland biopsy samples from corresponding cases, diagnosed by an experienced histopathologist physician.

For the design and the implementation of the system, ten (10) benign and ten (10) malignant images of the thyroid gland were used. Initially, the system embraces pre-processing and segmentation algorithms of cytological images for finding the regions of interest (nuclei). Specifically, segmentation algorithms for microscopy images were studied (thresholding with global threshold, thresholding with adaptive threshold, Otsu method) for finding the optimal solution and were compared with corresponding commercial packages, such as ImPro. The resulted images of this package were distinctive at very large degree, without overlapping of cellular nuclei. Based on ImPro segmentation, 217 segmented nuclei were obtained from benign images and 328 segmented nuclei were found from malignant images. Next, five (5) morphological features and twelve (12) textural features were extracted from the nuclei regions. Then, the Minimum Distance, the Nearest Neighbor, the Bayesian and the Probabilistic Neural Network classifiers were implemented for the classification of nuclei in two classes. For each classifier, the optimal combination of features was found, using the Sequential Backward Selection and the Exhaustive Search as feature selection methods. The proposed system was evaluated by Leave-One-Out method. The accuracy of the system in 'new' data was evaluated by External Cross Validation method.

Eight (8) features were presented statistically significant differences ($p < 0.001$) according to Wilcoxon statistical test. The system classified with 95% overall accuracy the nuclei of the thyroid gland in the two classes (benign/malignant), using the 3 Nearest Neighbor classifier. The proposed system is capable to classify 'an unknown' nuclei with 93% accuracy.

SUBJECT AREA: Image Processing and Analysis

KEYWORDS: segmentation, feature extraction, pattern recognition, thyroid cancer, microscopy

Στην οικογένειά μου και τη γιαγιά μου τη Νώττα...

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την εκτίμηση και τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, κ. Διονύσιο Κάβουρα, Καθηγητή του Τμήματος Τεχνολογίας Ιατρικών Οργάνων του Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Αθηνών, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με αυτό το τόσο ενδιαφέρον θέμα, καθώς και για την καθοδήγηση που μου προσέφερε.

Πολύ ουσιαστική ήταν και η συμβολή του κ. Σπύρου Κωστόπουλου, ο οποίος με τις παρατηρήσεις και τα σχόλιά του συνέβαλε ουσιαστικά στη διαμόρφωση της εργασίας, και τον ευχαριστώ πάρα πολύ γι' αυτό.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους του Εργαστηρίου ΤΙΟ για την πρόσβαση που μου παρείχαν σε Ηλεκτρονικό Υπολογιστή και Μικροσκόπιο, αλλά και για την ευχάριστη ατμόσφαιρα που δημιουργήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια της συγγραφής της εργασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, Γεώργιο και Αικατερίνη και στις αδελφές μου, Γαρυφαλλιά και Ιωάννα για τη στήριξη που μου παρείχαν, καθώς και στη γιαγιά μου Παναγιώτα για τη φιλοξενία της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	14
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
1.1 Κυτταροπαθολογία	15
1.1.1 Το υγιές κύτταρο.....	15
1.1.2 Κυτταρικός κύκλος.....	15
1.1.3 Το καρκινικό κύτταρο	16
2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ	17
2.1 Εισαγωγή	17
2.2 Ανατομία θυρεοειδούς αδένα	17
2.3 Φυσιολογία θυρεοειδούς αδένα	18
2.4 Ιστολογία θυρεοειδούς αδένα	20
2.5 Θυρεοειδοπάθειες	22
2.6 Καρκίνος θυρεοειδούς αδένα	24
2.6.1 Στατιστικά στοιχεία του καρκίνου του θυρεοειδούς.....	24
2.6.2 Ταξινόμηση θυρεοειδικών όγκων κατά τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO - 1988).....	27
2.7 Ανασκόπηση βιβλιογραφίας	28
3. ΨΗΦΙΑΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ	31
3.1 Βιολογική Όραση	31
3.2 Τα κύτταρα κάτω από το Μικροσκόπιο	31
3.2.1 Είδη Μικροσκοπίου	32
3.2.2 Τα βασικά χαρακτηριστικά του Μικροσκοπίου.....	34
4. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΨΗΦΙΑΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ	35
4.1 Εισαγωγή	35
4.2 Ψηφιακή Ιατρική Εικόνα	35

4.3 Ψηφιακή Επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας	36
4.4 Προ-επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας	37
4.5 Κατάτμηση Ιατρικής Εικόνας	38
4.5.1 Κατωφλίωση με χρήση καθολικού κατωφλίου	38
4.5.2 Κατωφλίωση με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου	39
4.5.3 Κατωφλίωση με χρήση της μεθόδου Otsu	39
4.6 Εξαγωγή χαρακτηριστικών	41
4.6.1 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Πρώτης Τάξης	42
4.6.2 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Δεύτερης Τάξης.....	42
4.6.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	44
4.7 Επιλογή χαρακτηριστικών	44
4.7.1 Wilcoxon Rank-Sum Test	44
4.7.2 Exhaustive Search (Εξαντλητική Αναζήτηση).....	45
4.7.3 Sequential Backward Selection.....	45
4.8 Μέθοδοι αξιολόγησης συστήματος	46
4.8.1 Leave-One-Out Method (LOO).....	46
4.8.2 External Cross Validation	47
4.9 Ταξινομητές	47
4.9.1 Minimum Distance Classifier.....	48
4.9.2 k- Nearest Neighbours (kNN)	49
4.9.3 Bayes Classifier.....	50
4.9.4 PNN Classifier.....	50
5. ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΙ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	53
5.1 Προέλευση κυτταρολογικών εικόνων	53
5.2 Διαδικασία λήψης κα ψηφιοποίησης κυτταρολογικής εικόνας	53
5.3 Προ-επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας	54
5.4 Κατάτμηση Ιατρικής Εικόνας	61
5.4.1 Κατωφλίωση με χρήση καθολικού κατωφλίου	61
5.4.2 Κατωφλίωση με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου	62
5.4.3 Κατωφλίωση με χρήση της μεθόδου Otsu	64
5.4.4 Πακέτο Λογισμικού: Image Processing (ImPro).....	65

5.5	Εξαγωγή χαρακτηριστικών	67
5.5.1	Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Πρώτης Τάξης	68
5.5.2	Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Δεύτερης Τάξης	68
5.5.3	Μορφολογικά Χαρακτηριστικά	69
5.6	Επιλογή χαρακτηριστικών	70
5.6.1	Wilcoxon Rank-Sum Test	70
5.6.2	Exhaustive Search (Εξαντλητική Αναζήτηση)	70
5.6.3	Sequential Backward Selection	71
5.7	Μέθοδοι αξιολόγησης συστήματος	71
5.7.1	Leave-One-Out Method (LOO)	71
5.7.2	External Cross Validation	71
5.8	Πίνακες αποτελεσμάτων μεθόδων	72
5.8.1	Στατιστικώς σημαντικά διαχωρίσιμα χαρακτηριστικά	72
5.8.2	Αποτελέσματα Sequential Backward Selection – Leave-One-Out	73
5.8.3	Αποτελέσματα Exhaustive Search – Leave-One-Out	75
5.8.4	Αποτελέσματα Exhaustive Search – External Cross Validation (ECV)	77
6.	ΣΥΝΟΨΗ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	79
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ	81
	ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	82
	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	83
	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	84

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Στατιστικά στοιχεία παιδιατρικού καρκίνου θυρεοειδούς (1993-1997). Τα γραφικά βασίζονται στο ευρωπαϊκό μητρώο καρκίνου. Ωστόσο, το μητρώο δεν περιέχει επιδημιολογία για τον νεανικό καρκίνο του θυρεοειδούς στη Ρωσία και την Ουκρανία [5].....	26
Σχήμα 2: Παθολογία σποραδικού νεανικού θηλώδους καρκινώματος στη Λευκορωσία (δεδομένα από 95 ασθενείς) [5].....	27
Σχήμα 3: Ταξινόμηση όγκων θυρεοειδούς αδένα [11]	28
Σχήμα 4: Τυπικό σύστημα εξαγωγής και χρήσης χαρακτηριστικών [15].....	42
Σχήμα 5: Παράδειγμα ενός 2-class minimum distance classifier [18]	48
Σχήμα 6: Ταξινόμηση αγνώστου προτύπου με kNN [28].....	49
Σχήμα 7: Οργάνωση για την ταξινόμηση των προτύπων σε κατηγορίες [30]	52

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Κυτταρικός κύκλος - Ογκοκατασταλτικά γονίδια [4].....	16
Εικόνα 2: Ανατομία θυρεοειδούς και παραθυρεοειδούς αδένα [6]	18
Εικόνα 3: Σύνθεση ορμονών θυρεοειδούς [6].....	19
Εικόνα 4: Έλεγχος TSH (Thyroid Stimulating Hormone) [6].....	20
Εικόνα 5: Μια χαμηλής ανάλυσης ιστολογική εικόνα θυρεοειδούς αδένα με πολλά θυλάκια γεμάτα από ηωσινόφιλα κολλοειδή και κυβοειδή επιθήλια [6].....	21
Εικόνα 6: Μια υψηλής ανάλυσης ιστολογική εικόνα θυρεοειδούς αδένα με θυλάκια και κυβοειδή επιθήλια [6].....	21
Εικόνα 7: Ομάδες ήπιων θυρεοειδικών κυττάρων σε μια διάταξη μικροθυλακίων, γυμνοί πυρήνες κυττάρων θυρεοειδούς και υγρού κολλοειδούς στο φόντο της εικόνας. Λίγα μακροφάγα επίσης παρουσιάζονται. Αυτό το πρότυπο σχετίζεται με καλοήγη νόσο [6].....	23
Εικόνα 8: Το ανθρώπινο μάτι [13]	31
Εικόνα 9: Διαμόρφωση συστατικών σύγχρονου μικροσκοπίου [13].....	33
Εικόνα 10: Αντικειμενικοί φακοί μικροσκοπίου [13].....	34
Εικόνα 11: Πειραματική διάταξη για λήψη και ψηφιοποίηση εικόνων [12].....	53
Εικόνα 12: Η αρχική εικόνα προς επεξεργασία.....	54
Εικόνα 13: Η φιλτραρισμένη εικόνα.....	55
Εικόνα 14: Ιστόγραμμα αρχικής εικόνας.....	55
Εικόνα 15: Ιστόγραμμα φιλτραρισμένης	56
Εικόνα 16: Η εικόνα με αυξημένη αντίθεση χρωμάτων	56
Εικόνα 17: Ιστόγραμμα εικόνας με αυξημένη αντίθεση χρωμάτων	57
Εικόνα 18: Η εικόνα ύστερα από την εξισορρόπηση ιστογράμματος.....	58
Εικόνα 19: Ιστόγραμμα της εικόνας ύστερα από την εξισορρόπηση ιστογράμματος	58
Εικόνα 20: Η εικόνα ύστερα από το erosion	59
Εικόνα 21: Η εικόνα ύστερα από το opening	60
Εικόνα 22: Η εικόνα ύστερα από το closing	60

Εικόνα 23: Τελική εικόνα με χρήση καθολικού κατωφλίου.....	61
Εικόνα 24: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση καθολικού κατωφλίου.....	62
Εικόνα 25: Τελική εικόνα με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου	63
Εικόνα 26: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου	63
Εικόνα 27: Τελική εικόνα με χρήση της μεθόδου Otsu.....	64
Εικόνα 28: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση της μεθόδου Otsu	65
Εικόνα 29: Η εικόνα με χρήση μάσκας	66
Εικόνα 30: Η εικόνα με χρήση τελεστή κλίσης Sobel	66
Εικόνα 31: Τελική εικόνα μέσω Impro.....	67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πίνακας co-occurrence για τη διεύθυνση 0	43
Πίνακας 2: Πίνακας σφαλμάτων ταξινόμησης [25].....	46
Πίνακας 3: Μέτρα σφάλματος ή ακρίβειας ταξινόμησης [25].....	47
Πίνακας 4: Τα 8 στατιστικώς σημαντικά διαχωρίσιμα χαρακτηριστικά	72
Πίνακας 5: Αποτελέσματα Sequential Backward Selection - Leave-One-Out.....	73
Πίνακας 6: Αποτελέσματα Exhaustive Search - Leave-One-Out.....	75
Πίνακας 7: Αποτελέσματα ECV στο υποσύνολο δοκιμής 30%.....	77

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών μου σπουδών στο τμήμα Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών στο Δ.Π.Μ.Σ. «Τεχνολογίες της Πληροφορικής στην Ιατρική και τη Βιολογία», διενεργήθηκε η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία. Ένα μέρος αυτής διεξήχθη στο εργαστήριο του τμήματος Τεχνολογίας Ιατρικών Οργάνων (ΤΙΟ) στο ΤΕΙ Αθήνας με αντικείμενο μελέτης την ψηφιακή επεξεργασία ιατρικής εικόνας μικροσκοπίου.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Κυτταροπαθολογία

1.1.1 Το υγιές κύτταρο

Όλα τα έμβια όντα αποτελούνται από κύτταρα, μικρές μονάδες, οι οποίες περιβάλλονται από μεμβράνη και είναι γεμάτες με ένα πυκνό υδατικό διάλυμα χημικών ουσιών. Διαθέτουν την αξιοσημείωτη ικανότητα να αυξάνουν και να διαιρούνται στα δύο, δημιουργώντας αντίγραφα του εαυτού τους. Οι απλούστερες μορφές ζωής είναι μονήρη κύτταρα. Οι ανώτεροι οργανισμοί, όπως ο άνθρωπος, είναι κοινότητες κυττάρων που προέρχονται από την αύξηση και διαίρεση ενός αρχικού κυττάρου. Ενώ τα κύτταρα αποτελούν τα συστατικά μεγαλύτερων έμβιων όντων, πραγματικά έμβιο δεν μπορεί να θεωρηθεί τίποτε μικρότερο από ένα κύτταρο (π.χ. ιοί) [1].

Τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού αποτελούνται από γενετικό υλικό (DNA), το οποίο οργανώνεται σε χρωμοσώματα. Είναι όμως εφικτό να δημιουργήσουν διαφορετικά όργανα, χάρη στις διαδικασίες της κυτταρικής διαίρεσης και της διαφοροποίησης [1].

Μέσω της κυτταρικής διαίρεσης, τα υγιή κύτταρα διπλασιάζονται και εξειδικεύονται, για να διεκπεραιώσουν κάποιες λειτουργίες (διαφοροποίηση). Η κυτταρική διαίρεση είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του οργανισμού, σε περίπτωση που εσωτερικές ή εξωτερικές επιδράσεις προκαλέσουν κάποια κυτταρική απώλεια. Είναι αποδεδειγμένο ότι σε έναν ιστό, όσο πιο διαφοροποιημένα είναι τα κύτταρα που τον αποτελούν, τόσο πιο σπάνια πολλαπλασιάζονται. Αυτό σημαίνει ότι ένας ιστός που αποτελείται από πολύ διαφοροποιημένα κύτταρα αποκαθίσταται δυσκολότερα μετά από τραυματισμό, από ότι ένας ιστός με λιγότερο διαφοροποιημένα κύτταρα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται ελάχιστα και συνεπώς πολλαπλασιάζονται πιο γρήγορα μετά από κάποια βλάβη στο δέρμα. Αντιθέτως, τα ηπατικά κύτταρα, επειδή διαφοροποιούνται σε μεγάλο βαθμό, λόγω εκτέλεσης σύνθετων λειτουργιών, πολλαπλασιάζονται και με πιο αργό ρυθμό [1].

1.1.2 Κυτταρικός κύκλος

Ένα κύτταρο αναπαράγεται διεκπεραιώνοντας μια ιεραρχική ακολουθία γεγονότων κατά τη διάρκεια των οποίων διπλασιάζει το περιεχόμενό του και κατόπιν διαιρείται στα δύο. Αυτός ο κύκλος διπλασιασμού και διαίρεσης, γνωστός ως κυτταρικός κύκλος (cell cycle), είναι ο βασικός μηχανισμός με τον οποίο αναπαράγονται όλα τα έμβια όντα [1].

Ο κυτταρικός κύκλος των ευκαριωτικών κυττάρων παραδοσιακά διαιρείται σε τέσσερα στάδια ή φάσεις. Παρατηρώντας με ένα μικροσκόπιο, τα δύο πιο εντυπωσιακά γεγονότα είναι η διαίρεση του πυρήνα, μια διεργασία γνωστή ως μίτωση (mitosis) και η διαίρεση του κυττάρου, γνωστή και ως κυτταροκίνηση (cytokinesis). Από κοινού, οι δυο αυτές διεργασίες συνιστούν τη φάση M του κυτταρικού κύκλου [1].

Η περίοδος που παρεμβάλλεται ανάμεσα σε δύο φάσεις M αποκαλείται μεσόφαση (interphase). Στο μικροσκόπιο, η μεσόφαση έχει την απατηλή όψη ενός ήρεμου διαλείμματος, κατά τη διάρκεια του οποίου το κύτταρο απλώς αυξάνει σε μέγεθος. Στην πραγματικότητα όμως, η μεσόφαση είναι μια πολύ δραστήρια περίοδος για το κύτταρο και διαιρείται στις υπόλοιπες τρεις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Κατά τη διάρκεια της φάσης S (S=synthesis, σύνθεση), το κύτταρο αντιγράφει το DNA του πυρήνα του,

απαραίτητη προϋπόθεση για να συμβεί η κυτταρική διαίρεση. Η φάση S πλαισιώνεται από δύο φάσεις κατά τις οποίες το κύτταρο συνεχίζει να αυξάνεται. Η φάση G1 (G=gap) είναι το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης M και την αρχή της φάσης S (σύνθεση του DNA), ενώ η φάση G2 το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης S και την αρχή της φάσης M (Εικόνα 1). Τα κύτταρα που βρίσκονται στις τέσσερις αυτές φάσεις ονομάζονται πολλαπλασιαζόμενα [1].

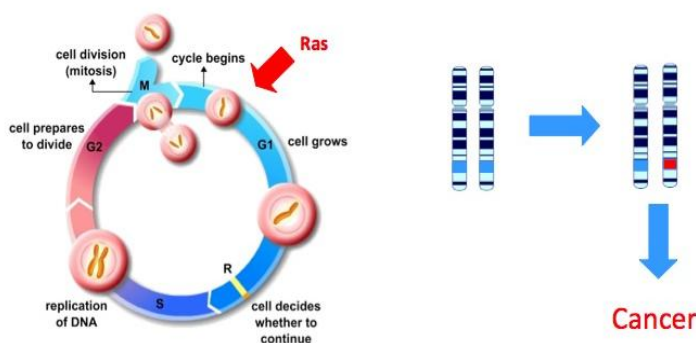
1.1.3 Το καρκινικό κύτταρο

Ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα υγείας που συμβαίνουν σήμερα στις αναπτυγμένες χώρες είναι ο καρκίνος. Οι στατιστικές μαρτυρούν ότι, μετά τις καρδιοπάθειες, αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου. Συνήθως, προσβάλλει ηλικιωμένους ανθρώπους, υπάρχουν όμως και μορφές καρκίνου που εμφανίζονται σε νεαρής ηλικίας άτομα, ακόμη και σε παιδιά [2].

Ο όρος «καρκίνος» δεν αναφέρεται σε μία και μόνη ασθένεια, αλλά σε μια ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζονται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά κύτταρα, τα οποία αυξάνονται, διαιρούνται και πεθαίνουν με έναν αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο, τα καρκινικά κύτταρα διαφέρουν, διότι συνεχίζουν να διαιρούνται ανεξέλεγκτα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μιας μάζας κυττάρων, που ονομάζεται όγκος. Οι όγκοι μπορεί να είναι καλοήθεις ή κακοήθεις. Η κατάσταση στην οποία τα κύτταρα του όγκου αρχίζουν να εισβάλλουν σε άλλα μέρη του σώματος ονομάζεται *μετάσταση*. Οι γενετικές αλλαγές που σχετίζονται με τους καρκινικούς όγκους δεν είναι συγκεκριμένες, αλλά διαφορετικές σε κάθε άτομο, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι και η εξέλιξη της ασθένειας, αλλά και η θεραπεία που πρέπει να ακολουθηθεί διαφέρει από ασθενή σε ασθενή [2].

Τα καρκινικά κύτταρα βρίσκονται μέσα στον κυτταρικό κύκλο για τη χρονική περίοδο που ευνοούν οι συνθήκες (οξυγόνο, τροφή). Σε περίπτωση που το περιβάλλον τους δεν είναι πια ευνοϊκό, εισέρχονται στη φάση G0, όπου δεν αναπαράγονται. Αν οι συνθήκες δεν ευνοούν, τα κύτταρα από τη φάση G0 μεταβαίνουν στη φάση της νέκρωσης (N) και μετά στη φάση της λύσης (L). Στη φάση N, το κύτταρο εξακολουθεί να υπάρχει μορφολογικά, αλλά δεν αναπαράγεται. Μετά τη φάση L, το κύτταρο δεν υπάρχει πια ούτε μορφολογικά, ούτε λειτουργικά [3].

Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένοι ερευνητές ορίζουν τον κυτταρικό κύκλο ως το διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών μιτώσεων. Είναι γνωστό ότι τα ογκοκατασταλτικά γονίδια φυσιολογικά λειτουργούν για να αποτρέψουν την αύξηση και διαίρεση του κυττάρου. Για να οδηγήσουν σε καρκίνο, θα πρέπει και τα δύο αντίγραφα του γονιδίου να μεταλλαχθούν (μαρκαρισμένα με κόκκινο) (Εικόνα 1) [4].



Εικόνα 1: Κυτταρικός κύκλος - Ογκοκατασταλτικά γονίδια [4]

2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ

2.1 Εισαγωγή

Οι λειτουργίες του σώματος ρυθμίζονται και ελέγχονται από την συνεργασία του νευρικού και του ενδοκρινικού συστήματος. Το νευρικό σύστημα συντονίζει την παραγωγή ταχείας και ακριβούς απάντησης, έναντι ερεθισμάτων με τη χρήση των δυναμικών της μεμβράνης. Αντίθετα, το ενδοκρινικό σύστημα διατηρεί την ομοιόσταση του οργανισμού με την παραγωγή χημικών ουσιών που ονομάζονται «ορμόνες».

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρήθηκε έξαρση των παθήσεων του θυρεοειδούς αδένα. Πιο συγκεκριμένα, από τη δεκαετία του '80 και μετά τα πυρηνικά ατυχήματα του Τσερνομπίλ, Κοζλοντούι και Three Island Mind, οι ερευνητές ισχυρίστηκαν για την περαιτέρω συσχέτιση ραδιενέργειας και παθήσεων του θυρεοειδούς αδένα, δίχως όμως να αποτελεί και τη μοναδική αιτία αυτών των παθήσεων [5].

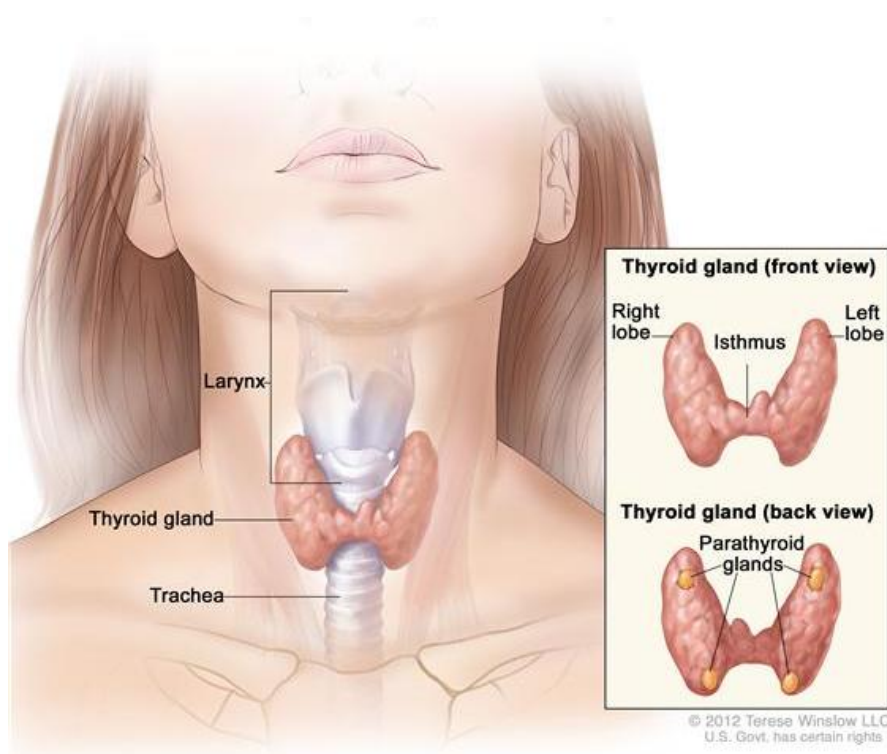
2.2 Ανατομία θυρεοειδούς αδένα

Ο θυρεοειδής αδένας είναι ένα ενδοκρινές όργανο, το οποίο βρίσκεται στο πρόσθιο μέρος του τραχήλου. Η θέση του, κοντά στο θυρεοειδή χόνδρο, έδωσε στο όργανο το όνομά του από την ελληνική λέξη «θύρος», που σημαίνει ασπίδα. Αρχικά θεωρούνταν ότι προστατεύει τον λάρυγγα [6].

Εμβρυολογικά, ο θυρεοειδής αναπτύσσεται στην βάση της γλώσσας από την ένωση τριών δομών και κατεβαίνει από εκεί κατά την διάρκεια της κύησης στην τελική του θέση στο πρόσθιο τμήμα του τραχήλου [6].

Ο ώριμος θυρεοειδής αδένας αποτελείται από δύο λοβούς, τον δεξιό και τον αριστερό, που ενώνονται στον ισθμό και περιβάλλονται από μία λεπτή κάψα. Το παρέγχυμα του θυρεοειδούς χωρίζεται με ινώδη χιτώνα σε λόβια, καθένα από τα οποία αποτελείται από πολυάριθμες λειτουργικές μονάδες, γνωστές ως θυλάκια. Κάθε θυλάκιο καλύπτεται από κυβοειδή θυλακιώδη κύτταρα και είναι γεμάτο με κολλοειδές που περιέχει θυροσφαιρίνη [6].

Ο θυρεοειδής αδένας είναι ιδιαίτερα αγγειοβριθές όργανο και έχει ένα ευρύ δίκτυο από τριχοειδή και αρτηρίες, το οποίο περιβάλλει και τροφοδοτεί τα θυλάκια. Κάθε θυλάκιο περιβάλλεται από βασική μεμβράνη, ανάμεσα στις οποίες βρίσκονται τα παραθυλακιώδη κύτταρα, τα οποία περιέχουν καλσιτονίνη (εκκριτικά κύτταρα C). Οι δύο τύποι κυττάρων μπορούν εύκολα να διακριθούν, ειδικά με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, καθώς διαφέρουν μορφολογικά. Τα θυλακιώδη κύτταρα έχουν έναν πυρήνα τοποθετημένο στην βάση του κυττάρου, με ομοιογενή χρωματίνη και τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, το οποίο είναι καλά σχηματισμένο. Υπάρχουν επίσης στην κορυφή του κυττάρου εκκριτικά κυστίδια και μικρά μιτοχόνδρια. Αντιθέτως, τα κύτταρα C έχουν πολυάριθμα νευροεκκριτικά κοκκία που περιέχουν καλσιτονίνη [6]. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η δομή του θυρεοειδούς και του παραθυρεοειδούς αδένα.

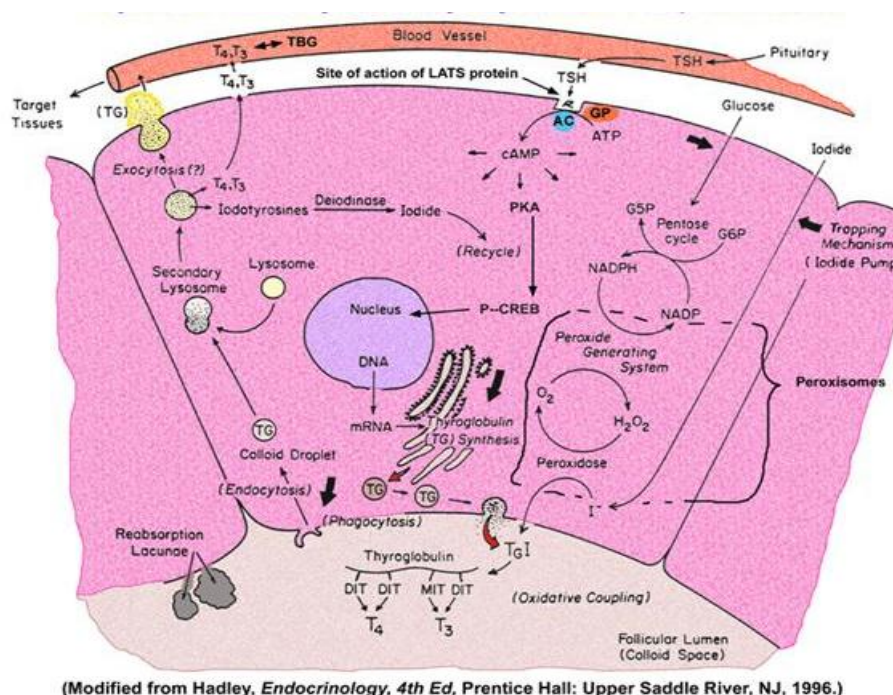


Εικόνα 2: Ανατομία θυρεοειδούς και παραθυρεοειδούς αδένα [6]

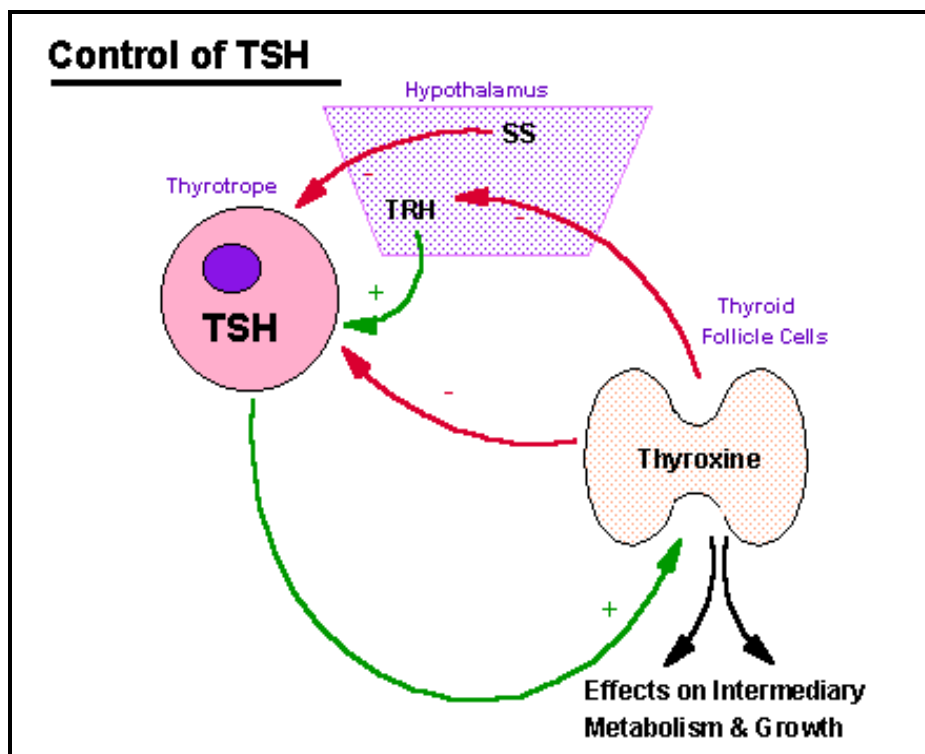
2.3 Φυσιολογία θυρεοειδούς αδένα

Ο θυρεοειδής αδένας εκκρίνει τις θυρεοειδικές ορμόνες θυροξίνη (T4) και τριιωδοθυρονίνη (T3), οι οποίες παίζουν ζωτικό ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου και στο σύνολο σχεδόν των μεταβολικών λειτουργιών σε όλη την υπόλοιπη ζωή του ανθρώπου. Παράγεται περισσότερη T4 από ότι T3, αλλά η T4 μετατρέπεται σε κάποιους περιφερικούς ιστούς (όπως το ήπαρ, ο νεφρός, οι μύες) στην πιο δραστήρια T3 με αποϊωδίωση. Η σύνθεση αυτών περιλαμβάνει τη συμπύκνωση του ιωδίου από τα θυλακιώδη κύτταρα, χρησιμοποιώντας μία Na⁺-K⁺-ATPase αντλία. Όταν το ιώδιο βρεθεί μέσα στα κύτταρα οξειδώνεται γρήγορα σε μία πιο δραστήρια μορφή. Αυτή στη συνέχεια, ενώνεται με αμινοξέα τυροσίνης για να σχηματίσει την θυρεοσφαιρίνη. Πριν την έκκριση της θυρεοσφαιρίνης μέσα στο κολλοειδές υφίσταται αντίδραση σύζευξης (coupling) για να σχηματίσει T3 ή T4, η οποία παραμένει προσκολλημένη στην πρωτεΐνη. Όταν διεγείρονται τα θυλακιώδη κύτταρα από την θυρεοτροπίνη (thyroid stimulating hormone ή TSH) που παράγεται από την υπόφυση, το κολλοειδές απορροφάται από τα κύτταρα με ενδοκύτωση, όπου τα ένζυμα διασπούν την θυρεοσφαιρίνη και απελευθερώνουν τις ιωδιωμένες μονάδες. Ο έλεγχος της απελευθέρωσης της TSH ρυθμίζεται από μία άλλη ορμόνη που ονομάζεται θυρεοτροπιο-εκλυτική ορμόνη (thyrotrophin releasing hormone, TRH), η οποία συντίθεται και εκκρίνεται από τον υποθάλαμο. Ο έλεγχος ολόκληρου του συστήματος γίνεται δια μέσου ενός αρνητικού τροφοδοτικού μηχανισμού με δράση της T3 και της T4 στην υπόφυση και τον υποθάλαμο για να αποτρέψουν ή να περιορίσουν την απελευθέρωση της TSH και της TRH αντιστοίχως [6].

Όταν η T3 και η T4 ελευθερώνονται στην κυκλοφορία, ενώνονται με πρωτεΐνες του πλάσματος, κυρίως την θυροδεσμευτική σφαιρίνη (thyroxine-binding globulin, TBG). Λιγότερο από το 1% αυτών των ιωδοθυρονινών είναι ελεύθερες στην κυκλοφορία και οι οποίες αποτελούν τις δραστικές μορφές. Η δράση των T3 και T4 στην περιφέρεια συμπεριλαμβάνει την αύξηση του βασικού μεταβολισμού των περισσότερων κυττάρων του ανθρωπίνου σώματος, αυξάνοντας την λιπόλυση και τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, ενδυναμώνοντας την επίδραση των κατεχολαμινών στην καρδιά και το κεντρικό νευρικό σύστημα και την αύξηση του μεταβολισμού των πρωτεϊνών, ιδιαίτερα την διάσπαση. Είναι σαφές ότι οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας των ορμονών του θυρεοειδούς αδένα, όπως σε υπερ- ή υπό-θυρεοειδισμό θα υπάρξουν δραστικές αλλαγές στο σώμα. Στις παρακάτω εικόνες απεικονίζονται η σύνθεση των ορμονών και ο έλεγχος της TSH αντίστοιχα [6].



Εικόνα 3: Σύνθεση ορμονών θυρεοειδούς [6]



Εικόνα 4: Έλεγχος TSH (Thyroid Stimulating Hormone) [6]

2.4 Ιστολογία θυρεοειδούς αδένα

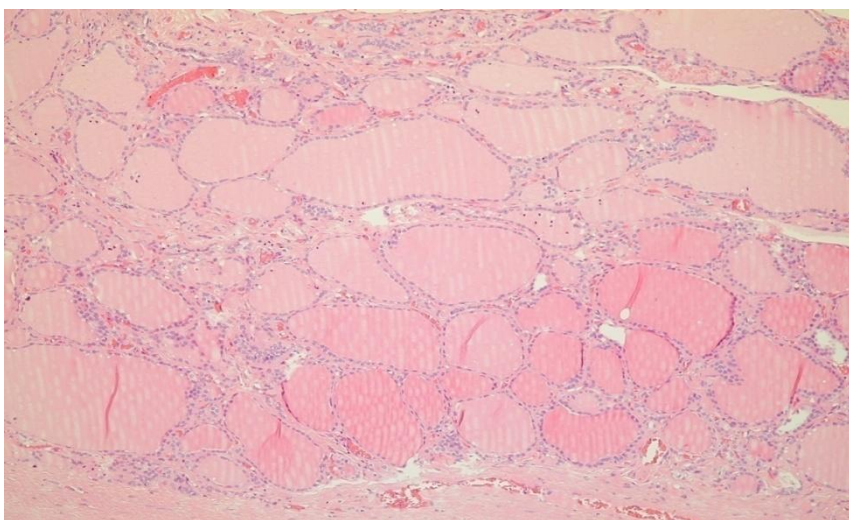
Πιστεύεται ευρέως ότι η κυτταρολογική διάγνωση των θυλακιωδών νεοπλασμάτων έχει φτωχή ειδικευση. Ωστόσο, ο παραδοσιακός ιστολογικός ορισμός της νεοπλασίας των θυλακιωδών, συνήθως θεωρείται ως το χρυσό πρότυπο, που ενδεχομένως να έχει φτωχή ευαισθησία. Ένα παραδοσιακό ιστολογικό κριτήριο είναι η παρουσία μιας ινώδους κάψουλας, αλλά δεν είναι εγγενώς προφανές ότι η απουσία μιας κάψουλας γύρω από ένα καλά περιγεγραμμένο όζο με υψηλή πυρηνική πυκνότητα θα πρέπει να αποκλείει την πιθανότητα της νεοπλασίας.

Ο θυρεοειδής αδένας μπορεί να έχει πολλαπλά θυλακιώδη αδενώματα, ακριβώς όπως το στήθος μπορεί να έχει πολλαπλά ινοαδενώματα. Το επόμενο βήμα στην εξέλιξη παθολογικών εννοιών θα μπορούσε να είναι ότι ο αδеноματώδης όζος αναγνωρίζεται ως μια μορφή θυλακιώδους αδενώματος. Όταν και εάν αυτή η θεωρία γίνει αποδεκτή, θα έχει αποδειχθεί ότι η ιστολογική διάγνωση παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με την κυτταρολογική διάγνωση, με ποσοστό έλλειψης συσχέτισης μόνο το 6,5% των περιπτώσεων [7].

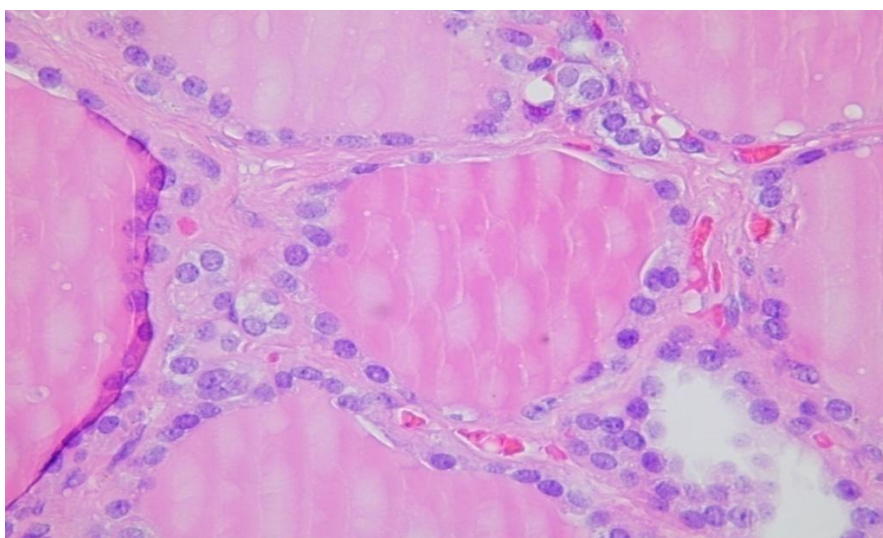
Μικροσκοπικώς, ο θυρεοειδής αδένας αποτελείται από σφαιρικά θυρεοειδικά θυλάκια ή κυστίδια. Το καθένα από τα οποία αποτελείται από βασικό υμένα, ο οποίος επαλείφεται από ένα στοίχο κυβοειδών αδενικών κυττάρων, τα οποία παράγουν κολλοειδές έκκριμα που γεμίζει την κοιλότητα των θυλακίων. Η διάμετρος των θυλακίων κυμαίνεται από 20 έως 900 μm, ενώ το ύψος των κυβοειδών κυττάρων είναι 15 μm.

Η κορυφή των θυλακιωδών κυττάρων κατευθύνεται προς τον αυλό του θυλακίου, ενώ η βάση τους επικάθεται στη βασική μεμβράνη. Τα κύτταρα έχουν ποικίλο ύψος που εξαρτάται από τη δραστηριότητα του αδένος και την πρόσληψη του ιωδίου. Περίπου 20-40 θυλάκια διαχωρίζονται από διαφράγματα και σχηματίζουν ένα λόβιο, το οποίο

αιματώνεται από έναν αρτηριακό κλάδο. Τα θυλάκια περιέχουν τη θυρεοσφαιρίνη, μορφή εναποθήκευσης των θυρεοειδικών ορμονών, η ποσότητα της οποίας επαρκεί για 100 ημέρες φυσιολογικής έκκρισης των θυρεοειδικών ορμονών [8]. Οι παρακάτω εικόνες αφορούν χαμηλή και υψηλή ανάλυση ιστολογικής εικόνας θυρεοειδούς αδένα αντίστοιχα. Στην ιστολογική εικόνα υψηλής ανάλυσης η μεταβλητότητα στην διάμετρο του πυρήνα (anisocytosis) είναι ένα φυσιολογικό χαρακτηριστικό των ενδοκρινών αδένων και δε πρέπει να ερμηνευθεί ως ύποπτη.



Εικόνα 5: Μια χαμηλής ανάλυσης ιστολογική εικόνα θυρεοειδούς αδένα με πολλά θυλάκια γεμάτα από ηωσινόφιλα κολλοειδή και κυβοειδή επιθήλια [6]



Εικόνα 6: Μια υψηλής ανάλυσης ιστολογική εικόνα θυρεοειδούς αδένα με θυλάκια και κυβοειδή επιθήλια [6]

2.5 Θυρεοειδοπάθειες

Γενετική προδιάθεση και παράγοντες, όπως το κάπνισμα, το οργανικό ή ψυχολογικό στρες, ιογενείς και μικροβιακές λοιμώξεις, καθώς και περιβαλλοντικές τοξίνες και ρύποι ενδέχεται να έχουν αρνητικές επιδράσεις στη λειτουργία του θυρεοειδούς.

Οι συχνότερες παθήσεις του θυρεοειδούς αδένα είναι ο υποθυρεοειδισμός (υπολειτουργία), ο υπερθυρεοειδισμός (υπερλειτουργία) και τα οζίδια του θυρεοειδούς (διογκώσεις από ομάδες κυττάρων του θυρεοειδούς). Αυτές οι παθήσεις είναι συχνότερες στις γυναίκες και συμβαίνουν με αυξημένη συχνότητα σε μέλη της ίδιας οικογένειας [8].

A) Υποθυρεοειδισμός

Υποθυρεοειδισμός είναι η παθολογική κατάσταση, κατά την οποία παρατηρείται μειωμένη έκκριση θυρεοειδικών ορμονών. Ο υποθυρεοειδισμός μπορεί να είναι είτε πρωτοπαθής, δηλ. να οφείλεται σε βλάβη του ίδιου του θυρεοειδούς, είτε δευτεροπαθής να οφείλεται δηλ. σε βλάβη της υπόφυσης, η οποία, όπως έχει ήδη σημειωθεί, παράγει τη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH), η οποία με τη σειρά της μαστιγώνει φυσιολογικά το θυρεοειδή για την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών.

B) Υπερθυρεοειδισμός

Ως υπερθυρεοειδισμός χαρακτηρίζεται η κλινική κατάσταση, στην οποία υπάρχει αυξημένη παραγωγή και απόδοση στην κυκλοφορία των θυρεοειδικών ορμονών. Η υπερλειτουργία, όταν αφορά ολόκληρο τον αδένα ονομάζεται διάχυτη τοξική βρογχοκήλη, ενώ όταν αφορά ένα τμήμα αυτού ονομάζεται τοξικό αδένωμα [8].

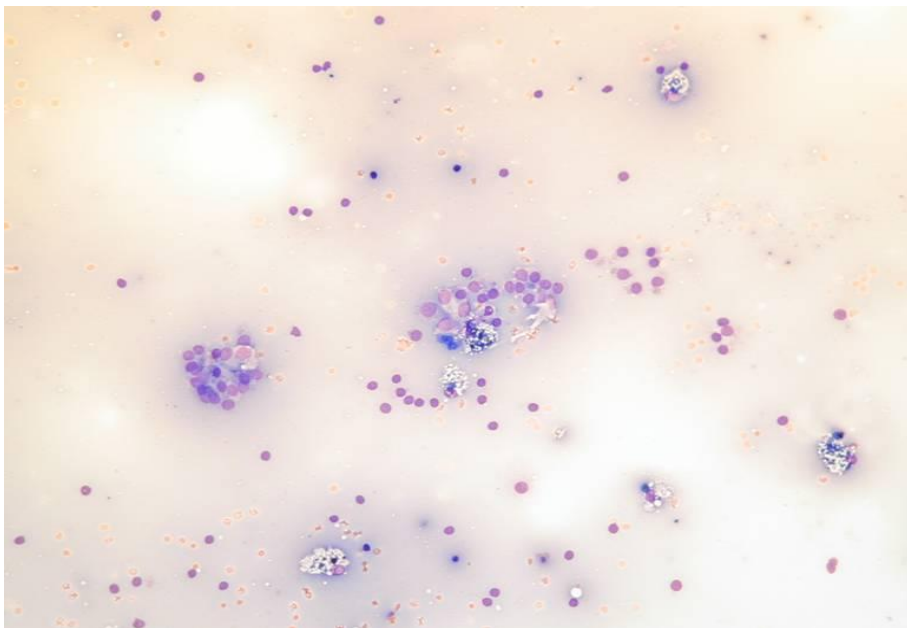
Γ) Οζίδια θυρεοειδούς

Οι όζοι του θυρεοειδούς είναι αρκετά διαδεδομένοι στον πληθυσμό των ΗΠΑ, με ψηλαφητά οζίδια που εμφανίζονται στο 4-7% και σε μη ψηλαφητά οζίδια στο 60% του πληθυσμού. Μόνο περίπου το 5% από τα οζίδια αυτά περιέχουν κακοήθεια που απαιτούν χειρουργική επέμβαση. Η βιοψία θυρεοειδούς με αναρρόφηση λεπτής βελόνας (FNAB) έχει αναδειχθεί ως μία αποτελεσματική μέθοδο για τον διαχωρισμό των ασθενών, των οποίων τα οζίδια μπορούν να αντιμετωπιστούν με κλινική παρακολούθηση από εξειδικευμένους χειρουργούς [9].

Οι χειρουργικές παθήσεις του θυρεοειδούς αδένα διακρίνονται σε βρογχοκήλες (τοξική, μη τοξική ή απλή), θυρεοειδίτιδες και νεοπλασμάτα θυρεοειδούς.

A) Πολυοζώδης βρογχοκήλη

Πρόκειται για οζώδη υπερπλασία του αδένα, λόγω ανωμαλιών στην παραγωγή ορμονών, η οποία είναι συνήθως ασύμμετρη και μερικές φορές υπερβολική. Τα θυλακιώδη κύτταρα υφίστανται υπερπλασία που οδηγεί στην δημιουργία αρκετών οζιδίων. Τα οζίδια, τα οποία συνήθως περιβάλλονται από κάψα, μπορεί να ποικίλουν σημαντικά στη μικροσκοπική τους εμφάνιση. Μερικά από αυτά αποτελούνται από μεγάλα μακροθυλάκια γεμάτα με κολλοειδές και άλλα είναι περισσότερο κυτταροβριθή με λίγο κολλοειδές. (Βλ. Εικόνα παρακάτω) Η ανάπτυξη τέτοιων οζιδίων οδηγεί σε αιμορραγία, ουλοποίηση, σχηματισμό μικροκύστεων και δυστροφική ασβεστοποίηση.



Εικόνα 7: Ομάδες ήπιων θυρεοειδικών κυττάρων σε μια διάταξη μικροθυλακίων, γυμνοί πυρήνες κυττάρων θυρεοειδούς και υγρού κολλοειδούς στο φόντο της εικόνας. Λίγα μακροφάγα επίσης παρουσιάζονται. Αυτό το πρότυπο σχετίζεται με καλοήγη νόσο [6]

B) Οξεία θυρεοειδίτιδα

Η οξεία θυρεοειδίτιδα είναι μία πολύ σπάνια κατάσταση που οφείλεται σε βακτηριακές λοιμώξεις και συνήθως διαγιγνώσκεται κλινικά, χωρίς τη χρήση της λεπτής βελόνας FNA. Οι παρακεντήσεις αποτελούνται κυρίως από ουδετερόφιλα, ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα είναι σπάνια και εκφυλισμένα [6].

Γ) Νεοπλάσματα θυρεοειδούς

Ο καρκίνος ή το κακόηθες νεόπλασμα είναι μία ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζεται από (i) μη φυσιολογική και ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων, (ii) την ικανότητα εισβολής σε γειτονικούς ιστούς και απομακρυσμένα όργανα και (iii) ενδεχομένως τον κίνδυνο της λειτουργίας του οργανισμού, ο οποίος τελικά μπορεί να οδηγηθεί σε θάνατο. Σε παγκόσμιο επίπεδο, περίπου 10 εκατομμύρια άνθρωποι διαγιγνώσκονται με καρκίνο και 6 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν από καρκίνο κάθε έτος [10].

Τα νεοπλάσματα του θυρεοειδούς αδένα ταξινομούνται σε καλοήγη, όπως τα λιπώματα και σε κακοήγη που έχουν διάφορες μορφές. Οι πιο συχνές μορφές νεοπλασμάτων του θυρεοειδούς αδένα με κακοήθεια είναι ο θηλώδης και ο θυλακιώδης καρκίνος.

Ο θηλώδης καρκίνος του θυρεοειδούς είναι η πιο συχνή κακοήθεια (>80% των καρκίνων του θυρεοειδούς). Μπορεί να παρατηρηθεί σε οποιαδήποτε ηλικία, αλλά οι περισσότεροι ασθενείς είναι μεταξύ 30 και 50 ετών. Οι περισσότεροι από αυτούς είναι γυναίκες (γυναίκες : άνδρες = 3 : 1). Συχνά παρουσιάζεται ως μη λειτουργικό (ψυχρό) οζίδιο, που μερικές φορές συνοδεύεται από αυχενική λεμφαδενοπάθεια, λόγω μετάστασης. Η πρόγνωση γενικά είναι καλή.

Τα θυλακιώδη καρκινώματα είναι σπάνια μακροθυλακιώδη, τα οποία συνήθως αποτελούνται από μικροθυλάκια ή «χορδές» από συνωστισμένα κύτταρα. Η παρουσία τέτοιων σχηματισμών κάνει ένα οζίδιο να διαγνωστεί ως κυτταρολογικά ύποπτο. Η κυτταροβρίθεια, το μέγεθος των κυττάρων και το ποσό του κολλοειδούς βοηθούν την αξιολόγηση του δείγματος.

Οι λιγότερο συχνές μορφές νεοπλασμάτων του θυρεοειδούς αδένα με κακοήθεια είναι το μυελοειδές καρκίνωμα, το λέμφωμα, το αναπλαστικό καρκίνωμα και ο μεταστατικός καρκίνος.

Το μυελοειδές καρκίνωμα αφορά περίπου το 5% των καρκίνων του θυρεοειδούς. Σε αντίθεση με τα άλλα καρκινώματα, τα οποία αναπτύσσονται από τα θυλακιώδη κύτταρα, το μυελοειδές καρκίνωμα αναπτύσσεται από τα παραθυλακιώδη κύτταρα (κύτταρα C) του θυρεοειδούς, τα οποία συνθέτουν καλσιτονίνη. Περίπου το 80-90% αυτών παρατηρούνται σε ενήλικες, ενώ τα υπόλοιπα παρατηρούνται σε παιδιά με σύνδρομο που ονομάζεται πολλαπλή ενδοκρινική νεοπλασία (Multiple Endocrine Neoplasia-MEN).

Το πρωτοπαθές μη-Hodgkin λέμφωμα του θυρεοειδούς είναι ένα σπάνιο νεόπλασμα, το οποίο παρατηρείται σε ηλικιωμένες γυναίκες που έχουν ιστορικό θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Ο κίνδυνος για έναν ασθενή με θυρεοειδίτιδα είναι πολύ μεγαλύτερος από τον υπόλοιπο πληθυσμό, αλλά γενικά η επίπτωση του λεμφώματος είναι σπάνια. Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζονται με μεγάλη μάζα στον λαιμό και συχνά υπάρχουν μεταστάσεις στους τραχηλικούς λεμφαδένες.

Το αναπλαστικό καρκίνωμα αφορά λιγότερο από το 5% των καρκίνων του θυρεοειδούς και έχει φτωχή πρόγνωση. Κλινικά παρουσιάζεται ως μάζα στον αυχένα με μέγεθος που αυξάνεται γρήγορα και το οποίο έχει ήδη διηθήσει τους γειτονικούς ιστούς κατά τον χρόνο που γίνεται η διάγνωση. Περίπου στο ένα τρίτο των περιπτώσεων, το αναπλαστικό καρκίνωμα συνοδεύεται από ένα καλά διαφοροποιημένο θυρεοειδικό καρκίνωμα (όπως το θηλώδες ή το θυλακιώδες).

Ο μαστός, ο νεφρός και οι πνεύμονες είναι οι πιο συχνές πρωτοπαθείς εστίες των όγκων που δίνουν μεταστάσεις στον θυρεοειδή. Το μεταστατικό καρκίνωμα θα πρέπει να θεωρείται ως πιθανότητα, όταν τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά διαφέρουν από αυτά των νεοπλασμάτων του θυρεοειδούς ή όταν ο ασθενής έχει ιστορικό καρκίνου αλλού. Σε αρκετές περιπτώσεις, εντούτοις, δεν υπάρχει κλινικό ιστορικό καρκίνου σε άλλο όργανο.

Οι πιο συχνά εμφανιζόμενες παθήσεις του θυρεοειδούς είναι ο υπερθυρεοειδισμός και ο υποθυρεοειδισμός [6].

2.6 Καρκίνος θυρεοειδούς αδένα

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς δεν ήταν πολύ συχνός πριν από τριάντα χρόνια. Η αυξητική τάση την τελευταία εικοσαετία κάνουν την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία πολύ σημαντικές, γιατί στις περισσότερες περιπτώσεις είναι ίασιμος. Ο καρκίνος του θυρεοειδούς αδένα μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία. Είναι πιο συχνό στις γυναίκες και οι περισσότερες περιπτώσεις εκδηλώνονται μετά την ηλικία των 35 ετών.

2.6.1 Στατιστικά στοιχεία του καρκίνου του θυρεοειδούς

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς αδένα θεωρείται πολυπαραγοντική νόσος. Περιλαμβάνει 1% - 2% όλων των κακοηθειών και εμφανίζεται σε όλο τον κόσμο. Τέσσερα χρόνια μετά την καταστροφή του Τσερνομπίλ τον Απρίλιο 1986, οι περιπτώσεις κακοήθειας του θυρεοειδούς παρατηρήθηκε ότι είχαν αυξηθεί στις γύρω περιοχές με συχνότητα εμφάνισης 100 φορές, νότια στη Λευκορωσία και 7 φορές, στα βόρεια στις κοντινές περιοχές στην Ουκρανία [5].

Παρόλο που λιγότερο από 5 περιπτώσεις αναφέρθηκαν μεταξύ του 1986 και του 1989, υπήρξαν 29 περιπτώσεις το 1990, 55 περιπτώσεις το 1991 και 62 περιπτώσεις το 1992.

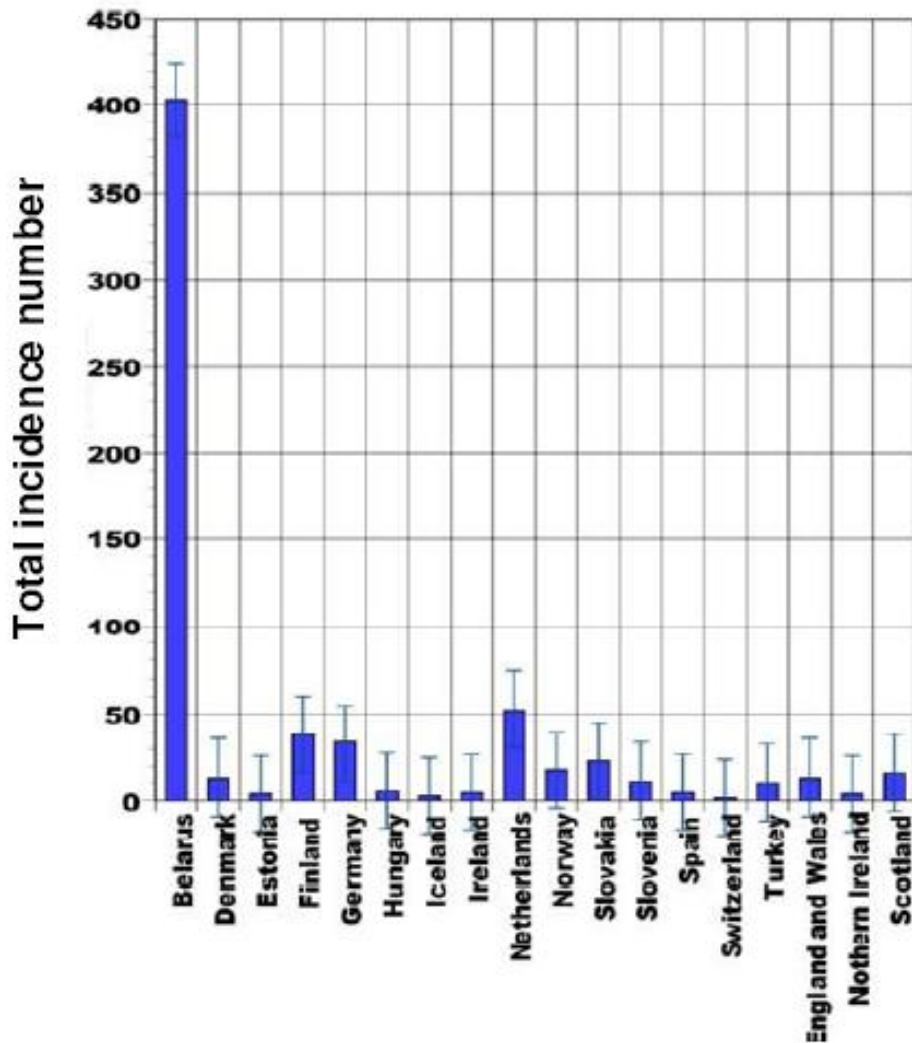
Η εξάρτηση του συνολικού αριθμού των περιπτώσεων καρκίνου του θυρεοειδούς στο διάστημα μετά την έκθεση είναι παρόμοια στις άκρως μολυσμένες περιοχές της Λευκορωσίας και της Ουκρανίας. Η κύρια συμβολή στην εσωτερική δόση ακτινοβολίας προκλήθηκε από διάφορα ισότοπα του ιωδίου [5].

Υποστηρίζεται ότι το νέφος του Τσερνομπίλ είχε επηρεάσει τα ποσοστά του καρκίνου σε διάφορα μέρη, όπως Ασία, Ευρώπη, Σκανδιναβικές χώρες, Αγγλία, Δανία, Τουρκία και Ελλάδα. 246.347 περιπτώσεις καρκίνου είχαν διαγνωστεί το 2007 στο Ηνωμένο Βασίλειο (United Kingdom). Το 2006, 1.933 Βρετανοί υπέστησαν καρκίνο του θυρεοειδούς. Ο θυρεοειδής καρκίνος βρίσκεται εντός των 20 περισσότερων κοινών μορφών καρκίνων στο Ηνωμένο Βασίλειο στις γυναίκες με 1.421 περιπτώσεις, διαγνωσμένες το 2006. Αυτός ο αριθμός συγκρίνεται με 512 περιπτώσεις στους άνδρες με αναλογία, άνδρες:γυναίκες=1:3. Έχει εκτιμηθεί ότι ο κίνδυνος διάρκειας ζωής εμφάνισης καρκίνου του θυρεοειδούς είναι 1 στους 842 άνδρες και 1 στις 324 γυναίκες στο Ηνωμένο Βασίλειο. Αυτά υπολογίστηκαν το Φεβρουάριο του 2009 με δεδομένα επίπτωσης και θνησιμότητας για την περίοδο 2001-2005 [5].

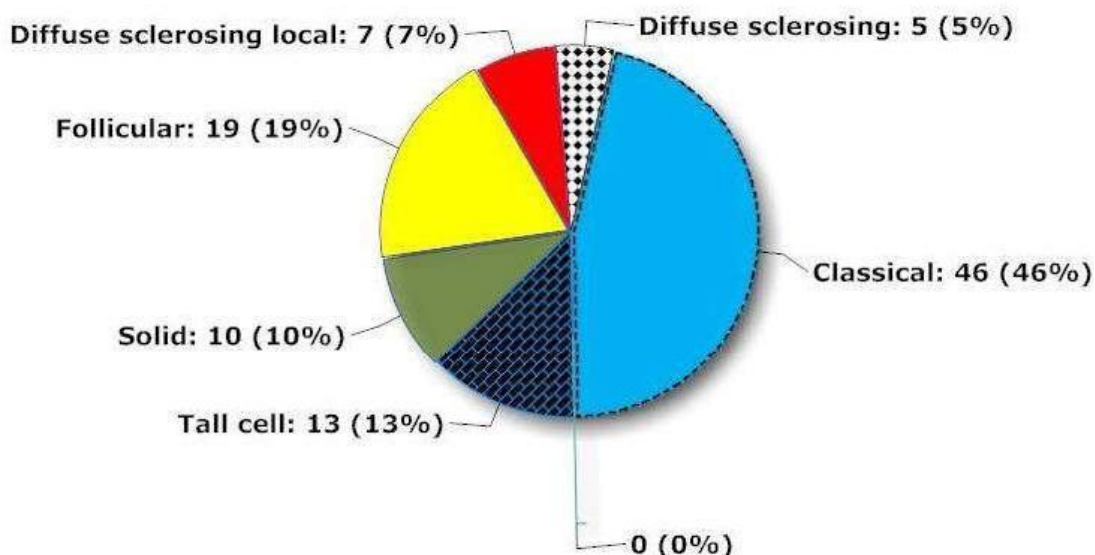
Ο καρκίνος του θυρεοειδούς είναι σπάνιος στα παιδιά, ενώ στους ενήλικες τα ποσοστά εμφάνισης αυξάνονται σταθερά με την ηλικία. Αν και οι συντελεστές είναι υψηλότεροι σε ηλικία πάνω των 75 χρόνων, υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός περιπτώσεων σε νεαρότερη ηλικία. Σχεδόν οι μισές (48%) του συνόλου των περιπτώσεων συμβαίνουν σε άτομα ηλικίας κάτω των 50 ετών.

Τα υψηλότερα ποσοστά για τον καρκίνο του θυρεοειδούς στον κόσμο συμβαίνουν στη Βόρεια Αμερική, όπου τα ποσοστά ηλικίας σε γυναίκες είναι 8,1 ανά 100.000 γυναίκες, σε σύγκριση με 1,4 ανά 100.000 γυναίκες στη Δυτική Αφρική. Η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του θυρεοειδούς ανά εκατομμύριο άτομα στην ηλικία των 15-19 ετών στην Αφρική κατά τη διάρκεια της 1993-1998, ήταν 3,7 και 6,7 για άνδρες και γυναίκες, αντιστοίχως. Συγκριτικά, παρόμοια συχνότητα εμφάνισης στις γυναίκες του Χονγκ Κονγκ ήταν 34,8, στη Σαγκάη 10,4 και στην Ιαπωνία 10,6. Ο καταχωρημένος αριθμός περιπτώσεων των παιδιατρικών καρκίνων θυρεοειδούς στη Λευκορωσία κατά τη διάρκεια 1993-1997 αποτελούνταν από 403 περιπτώσεις, 317 από αυτές εμφανίστηκαν σε παιδιά ηλικίας 10-14 ετών. Το 2002, πάνω από 1000 περιπτώσεις καρκίνου θυρεοειδούς έχουν αναφερθεί μεταξύ περίπου 2 εκατομμυρίων παιδιών μικρότερων από 15 ετών, τα οποία είχαν εκτεθεί σε ραδιενεργό νέφος [5].

Τα τρέχοντα στατιστικά στοιχεία δεν έχουν δημοσιευθεί ακόμη και οι αναμενόμενοι αριθμοί είναι άγνωστοι (Σχήματα 1 και 2). Η δεύτερη ηγετική θέση στις εν λόγω επιδημιολογικές ομάδες ανήκει στην Ολλανδία, με 52 περιπτώσεις (29 άτομα σε ηλικιακές ομάδες 15-19 ετών). Κατά τη διάρκεια της χρονικής περιόδου που περιγράφεται κανένας νεανικός καρκίνος θυρεοειδούς δεν έχει αναφερθεί στην Ελβετία [5].



Σχήμα 1: Στατιστικά στοιχεία παιδιατρικού καρκίνου θυρεοειδούς (1993-1997). Τα γραφικά βασίζονται στο ευρωπαϊκό μητρώο καρκίνου. Ωστόσο, το μητρώο δεν περιέχει επιδημιολογία για τον νεανικό καρκίνο του θυρεοειδούς στη Ρωσία και την Ουκρανία [5]



Σχήμα 2: Παθολογία σποραδικού νεανικού θηλώδους καρκινώματος στη Λευκορωσία (δεδομένα από 95 ασθενείς) [5]

2.6.2 Ταξινόμηση θυρεοειδικών όγκων κατά τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO - 1988)

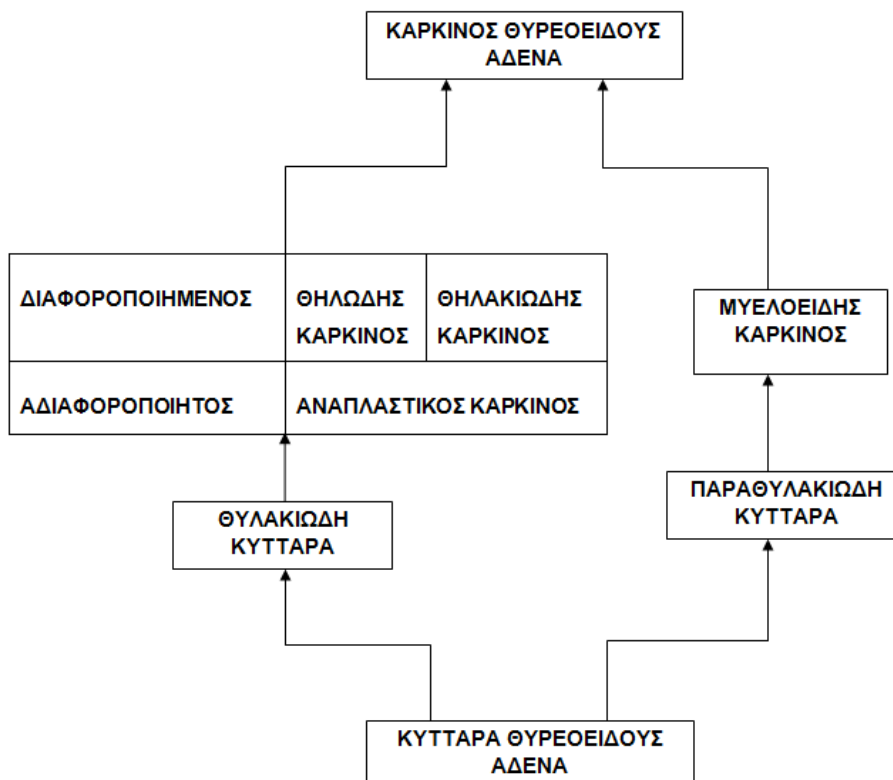
Σε μια έκθεση που δημοσιεύθηκε το 1952, μια επιτροπή Εμπειρογνομόνων για την Στατιστική Υγείας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) συζήτησαν τις γενικές αρχές που πρέπει να διέπουν τη στατιστική ταξινόμηση των όγκων και συμφώνησαν ότι, για να εξασφαλιστεί η αναγκαία ευελιξία και ευκολία της κωδικοποίησης, τρεις ξεχωριστές ταξινομήσεις χρειάστηκαν, σύμφωνα με (α) την ανατομική θέση, (β) τον ιστολογικό τύπο και (γ) το βαθμό κακοήθειας [11].

Τα φυσιολογικά θυλακιώδη κύτταρα διατάσσονται σε θυλάκια ή μονοστοιβάδες φύλλων με κυψελοειδές πρότυπο και σαφώς καθορισμένα όρια και πολωμένους πυρήνες [5]. Είναι σημαντικό λοιπόν να περιγραφεί η ταξινόμηση των ασθενειών που προκαλεί ο καρκίνος θυρεοειδούς, αφού ο ρυθμός ανάπτυξης του καρκίνου είναι καθοριστικός προγνωστικός παράγοντας.

Οι όγκοι διακρίνονται σε επιθηλιακούς, μη επιθηλιακούς, κακοήθη λεμφώματα και διάφορους όγκους. Οι επιθηλιακοί όγκοι, με τη σειρά τους, κατηγοριοποιούνται σε καλοήθεις και κακοήθεις. Στην πρώτη κατηγορία ανήκει το θυλακιώδες αδένωμα και ποικιλίες αυτού και στη δεύτερη ανήκουν το θυλακιώδες αδένωμα συμπεριλαμβανομένου του ελάχιστα διηθητικού, του ευρέως διηθητικού, και των φτωχά διαφοροποιημένων τύπων, το θηλώδες καρκίνωμα και οι τύποι αυτού, συμπεριλαμβανομένων του θηλώδους μικροκαρκινώματος, του θυλακιώδους τύπου και του διάχυτου σκληρυντικού τύπου, το μυελοειδές καρκίνωμα και τύποι, συμπεριλαμβανομένου του μικτού μυελοειδούς-θυλακιώδους καρκινώματος και τέλος το αδιαφοροποίητο (αναπλαστικό) καρκίνωμα. Οι μη επιθηλιακοί όγκοι ταξινομούνται σε καλοήθεις και κακοήθεις, με χαρακτηριστικό παράδειγμα κακοήθους όγκου, το αγγειοσάρκωμα [11].

Τα καρκινώματα των θυλακιδίων κυττάρων λοιπόν, εμπίπτουν σε δύο ομάδες τα διαφοροποιημένα και τα αδιαφοροποίητα. Τα διαφοροποιημένα υποδιαιρούνται σε δύο κατηγορίες, το θηλώδες και το θυλακιώδες, ενώ το αδιαφοροποίητο ονομάζεται

αναπλαστικό. Το καρκίνωμα που προέρχεται από τα παραθυλακιώδη κύτταρα καλείται μυελοειδές και έχει σημαντική διαβάθμιση κακοήθειας (Σχήμα 3). Η διαίρεση των διαφοροποιημένων καρκινωμάτων σε θηλώδη και θυλακιώδη στηρίζεται στον τύπο της κυτταρικής οργάνωσης, η οποία προσλαμβάνει τη μορφή θηλών ή θυλακίων, συγχρόνως όμως έχει και βιολογική σημασία.



Σχήμα 3: Ταξινόμηση όγκων θυρεοειδούς αδένα

2.7 Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

Το 1996, ο Karl έγραψε: «Δεν υπάρχει μέχρι σήμερα καμία ακριβή και αξιόπιστη μέθοδος που να μπορεί να διαφοροποιεί τους καλοήθεις όζους του θυρεοειδούς αδένα από τους κακοήθεις» [5]. Προκειμένου να αναζητήσουν νέα διαγνωστικά και προγνωστικά κριτήρια, ο Καβαντζάς και άλλοι, το 2002 ερεύνησαν τα πυρηνικά και αγγειογενετικά χαρακτηριστικά σε διαφορετικούς τύπους νεοπλασμάτων θυρεοειδούς και έγινε στατιστική σύγκριση μεταξύ διαφορετικών πυρηνικών, μορφομετρικών και αγγειογενετικών παραμέτρων [5]. Το 2006, ο Tseleni-Balafouta και άλλοι πραγματοποίησαν τη συγκριτική μελέτη της αγγειογένεσης σε θυρεοειδή αδένα με GD (νόσος του Graves) και Θυρεοειδίτιδα Hashimoto [5]. Στην έρευνα αυτή, διεξήχθησαν με ανάλυση εικόνας, πολλαπλά μορφολογικά χαρακτηριστικά των μικροαγγείων, όπως major axis length, minor axis length, area, perimeter.

Όσον αφορά τα πακέτα λογισμικού για την επεξεργασία εικόνας των βιομετρικών δεδομένων (Ψηφιακή Παθολογία), το 1980 για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε η υποβοηθούμενη υπολογιστική ανάλυση των ψηφιακών εικόνων για την ποσοτικοποίηση της ανοσοχρώσης. Οι ψηφιακές εικόνες μπορούν να μετατραπούν σε αριθμητικές τιμές, οι οποίες είναι σε θέση να περιγράψουν την ένταση χρώσης ποσοτικά, η οποία θεωρείται πιο ακριβής από την οπτική ποιοτική παρατήρηση. Το 2006, ο De Matos και

άλλοι σύγκριναν την ημι-ποσοτική μέθοδο με τη μέθοδο ποσοτικοποίησης ανοσοχημείας μέσω ψηφιακού υπολογιστή για την αξιολόγηση των καλά διαφοροποιημένων δειγμάτων καρκινωμάτων θυρεοειδούς, τα οποία χρωματίστηκαν με galactin-3 [5]. Σύμφωνα με τους επιστήμονες, και οι δύο μέθοδοι συσχετίστηκαν σημαντικά. Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί, εφαρμόζοντας τη λεγόμενη υπολογιστική μορφομετρία για την ανάλυση πυρηνικών κυττάρων της εικόνας [5].

Η επεξεργασία εικόνας στους τομείς των βιοϊατρικών επιστημών αναπτύσσεται με ταχείς ρυθμούς, σύμφωνα με τις απαιτήσεις των επαγγελματιών υγείας, οι οποίοι χρειάζονται τις τεχνολογίες του υπολογιστή και θα πρέπει να διδάσκονται πώς να χρησιμοποιούν υπολογιστές και πακέτα λογισμικού, προκειμένου να βελτιωθεί η επίδοση στην ιατρική πρακτική και να κάνουν πιο εύκολη την έρευνα. Η ψηφιακή παθολογία και η ανοσοχημεία, όπως η ολοκλήρωση αρκετών βασικών επιστημών έχουν τώρα τα εργαλεία για να εκτελούν τα πειράματα, εφαρμόζοντας τη σύγχρονη προσέγγιση υποβοηθούμενη από υπολογιστή για τη διάγνωση των ασθενειών, οι οποίες απαιτούν την ερμηνεία της εικόνας που αντικατοπτρίζει την εικόνα της νόσου και τους φυσιολογικούς ιστούς. Σε αντίθεση με τα στατιστικά πακέτα, όπου τα φάσματα περιλαμβάνουν πολύτιμες ελεύθερες πηγές, όπως τα γλωσσικά εργαλεία R, στους τομείς της ψηφιακής παθολογίας λείπει το φιλικό προς το χρήστη υψηλής ποιότητας λογισμικό για ανάγκες που σχετίζονται με τις πρακτικές διαγνωστικές δραστηριότητες και τα πολύπλοκα καθήκοντα σε ερευνητικό εργαστήριο, όπως για παράδειγμα ο υπολογισμός των ειδικών ανοσοχρωματισμένων δομών, η εκτίμηση των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών (περιοχή, περίμετρος, μήκος άξονα, χρώμα έντασης). Τα ακόλουθα πακέτα είναι κατάλληλα και διαθέσιμα για την ελεύθερη λήψη και χρήση στους τομείς των βασικών και κλινικών επιστημών υγείας: Angioquant, Image J, ImageLab, GIMP (GNU image manipulation program), Cell Profiler, Cell analyst, AQuaL [5].

Όσον αφορά την έρευνα του καρκίνου θυρεοειδούς με τη χρήση της νανοτεχνολογίας, ως Βιομοριακή Νανοτεχνολογία ορίζεται «η τρισδιάστατη θέση ελέγχου της μοριακής δομής για τη δημιουργία υλικών και συσκευών σε μοριακή ακρίβεια». Οι νανοσυσκευές μπορούν να λάβουν τα φυσικά και χημικά «μηνύματα» που μεταδίδονται από και μεταξύ των κυττάρων απλά με υποκλοπές στη φυσικά μοριακή κίνηση «μηνυμάτων». Φυσικά, μηχανικές (π.χ. κυτταροσκελετικές) και ηλεκτρικές (π.χ. ιοντικές) κυτταρικές παρασιτικές εκπομπές μπορεί επίσης να ανιχνευθούν από νανοσυσκευές [5].

Το 2009, η Mousa και άλλοι περιέγραψαν μεθόδους αντιμετώπισης υποκειμένων με προϋποθέσεις που σχετίζονται με την αγγειογένεση, συμπεριλαμβανομένων της χορήγησης μιας αποτελεσματικής ποσότητας μιας πολυμερούς μορφής νανοσωματιδίων του αγωνιστή ορμόνης του θυρεοειδούς, του μερικού αγωνιστή ή ενός ανταγωνιστή για την προώθηση ή την αναστολή της αγγειογένεσης στον οργανισμό [5]. Ο Huang και άλλοι, το 2010 επέδειξαν την εφαρμογή ενός χρόνου επίλυσης ανάλυσης της φωταύγειας (TRL) για την ευαίσθητη και επιλεκτική ανίχνευση της θυρεοσφαιρίνης (Tg), ενός δείκτη καρκίνου του θυρεοειδούς, σε ομογενές διάλυμα με χρήση υδατοδιαλυτών άλφα-Dmannose, συζευγμένο με nanodots Au [5].

Με τα πλεονεκτήματα της ταχύτητας και της ειδικότητας, αυτή η προσέγγιση, όπως ανέφεραν οι συγγραφείς, παρουσίασε μεγάλες δυνατότητες για τη διάγνωση των καρκίνων. Ο Yalcin και άλλοι, το 2010 έδειξαν πρόσφατα ότι το tetraiodothyroacetic οξύ (tetrac) και το tetraiodothyroacetic οξύ νανοσωματιδίων αναστέλλουν αποτελεσματικά την ανάπτυξη των ανθρώπινων ωοθυλακίων καρκινωμάτων του θυρεοειδούς [5]. Παρόμοια αποτελέσματα του tetrac οξέος παρατηρήθηκαν στην θεραπεία καρκίνου του μαστού. Ο Nickolic και άλλοι, το 2009 πρότειναν ότι η διαδικασία ραδιοσήμανσης θα μπορούσε να έχει πιθανές εφαρμογές στην ακτινοθεραπεία του καρκίνου. Στη μελέτη τους, η υψηλότερη συσσώρευση ραδιοεπισημασμένου nanoC παρατηρήθηκε σε ήπαρ

και σπλήνα, ενώ η συσσώρευση σε θυρεοειδή, στομάχι, πνεύμονες και έντερα ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με το νάτριο (Νάτριο-Ιώδιο-125 ραδιενεργός ιχνηθέτης) [5].

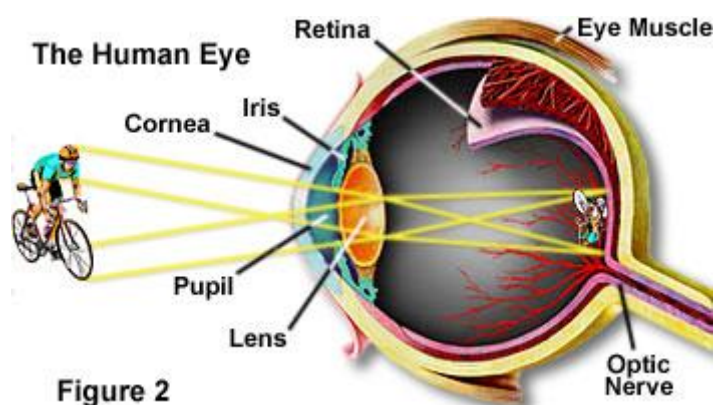
Τα εν λόγω στοιχεία από τη βιβλιογραφία δείχνουν ότι η νανοτεχνολογία παρέχει τα πραγματικά εργαλεία για τη ζωντανή απεικόνιση όγκου, τη διαφορική διάγνωση και την πειραματική θεραπεία. Οι ευκαιρίες για την εφαρμογή ενιαίας και συνδυασμένης πειραματικής ιατρικής θεραπείας είναι σχεδόν ανεξάντλητες.

3. ΨΗΦΙΑΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

3.1 Βιολογική Όραση

Στη βιολογική όραση, ο εγκέφαλος αναλαμβάνει το καθήκον της ανάλυσης εικόνας. Το οπτικό σύστημα των οργανισμών μπορεί να καταλήξει σε συμπεράσματα σχετικά με ποιοτικά χαρακτηριστικά των εικόνων, αλλά δεν μπορεί να εξάγει ποσοτικές πληροφορίες. Για παράδειγμα, το ανθρώπινο οπτικό σύστημα μπορεί να εξάγει την πληροφορία ότι ένα αντικείμενο είναι πολύ φωτεινό (ποιοτική πληροφορία), όμως δεν μπορεί να πει πόσο φωτεινό είναι (ποσοτική πληροφορία). Αντίθετα, οι υπολογιστές μπορούν να δώσουν ποσοτικές πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά μιας εικόνας, χωρίς όμως να μπορούν να δώσουν ποιοτικές πληροφορίες [12].

Η απόλυτη φωτεινότητα (luminance) ενός αντικειμένου είναι ανεξάρτητη από τη φωτεινότητα των γύρω αντικειμένων. Το ανθρώπινο οπτικό σύστημα αντιλαμβάνεται τη σχετική φωτεινότητα (brightness) ενός αντικειμένου, δηλαδή τη φωτεινότητα του αντικειμένου σε σχέση με τη φωτεινότητα του φόντου του. Επιπλέον, η οπτική αντίληψη του ανθρώπινου ματιού είναι ευαίσθητη στις αντιθέσεις φωτεινότητας της εικόνας κι όχι στην καθ' αυτή φωτεινότητα [12]. Το ανθρώπινο μάτι μπορεί να διακρίνει μόνο μερικές δεκάδες αποχρώσεις (επίπεδα) του γκριζου σε γκριζες εικόνες (gray-level images), ενώ είναι σε θέση να διακρίνει χιλιάδες χρώματα σε έγχρωμες εικόνες. (Εικόνα 8)



Εικόνα 8: Το ανθρώπινο μάτι [13]

3.2 Τα κύτταρα κάτω από το Μικροσκόπιο

Τα κύτταρα έχουν μικρό μέγεθος και έτσι, το πρώτο πρακτικό πρόβλημα για τη μελέτη τους έχει να κάνει με τον τρόπο εξέτασής τους. Η ανακάλυψη του μικροσκοπίου τον δέκατο έβδομο αιώνα για πρώτη φορά κατέστησε τα κύτταρα ορατά και για εκατοντάδες χρόνια, ότι γνωρίζαμε σχετικά με τα κύτταρα είχε ανακαλυφθεί με τη βοήθεια αυτής της απλής επινόησης [1]. Το μικροσκόπιο πρέπει να επιτυγχάνει τρία καθήκοντα: να παράγει μια μεγεθυμένη εικόνα του δείγματος (μεγέθυνση), να διαχωρίζει τις λεπτομέρειες της εικόνας (ανάλυση) και να καθιστά τις λεπτομέρειες ορατές με το μάτι, την κάμερα, ή άλλη συσκευή απεικόνισης (αντίθεση) [13].

3.2.1 Είδη Μικροσκοπίου

Ορισμένα μικροσκόπια είναι το οπτικό, το μικροσκόπιο φθορισμού, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης και διέλευσης.

Το οπτικό μικροσκόπιο μας επιτρέπει να μεγεθύνουμε τα κύτταρα έως και χίλιες φορές και να διακρίνουμε λεπτομέρειες μεγέθους έως 0.2 μm . Για την παρατήρηση κυττάρων με το οπτικό μικροσκόπιο υπάρχουν τρεις προϋποθέσεις: α) Ζωηρό φως πρέπει να εστιάζεται πάνω στο δείγμα με τη μεσολάβηση φακών στον συγκεντρωτήρα. β) Το δείγμα πρέπει να έχει υποβληθεί σε κατάλληλη προετοιμασία, έτσι ώστε το φως να το διαπερνά. γ) Δύο κατάλληλοι φακοί (αντικειμενικός και προσοφθάλμιος) πρέπει να διατάσσονται σωστά, προκειμένου το είδωλο του δείγματος να εστιαστεί στον οφθαλμό. Υπάρχουν τρεις τύποι οπτικού μικροσκοπίου: το οπτικό σύστημα (μικροσκοπία φωτεινού πεδίου), το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων και το μικροσκόπιο αντίθεσης – φάσεων συμβολής για την ανάδειξη περισσότερων λεπτομερειών. Τα συστήματα αυτά αξιοποιούν διαφορές στον τρόπο με τον οποίο το φως διέρχεται από περιοχές του κυττάρου με διαφορετικό δείκτη διάθλασης.

Οι φθορίζουσες χρωστικές που χρησιμοποιούνται για τη χρώση κυττάρων ανιχνεύονται με τη βοήθεια ενός μικροσκοπίου φθορισμού. Το μικροσκόπιο φθορισμού μοιάζει με ένα συνηθισμένο οπτικό μικροσκόπιο, με εξαίρεση το γεγονός ότι το φως διέρχεται από δύο είδη φίλτρων. Το πρώτο διηθεί το φως, προτού φτάσει στο δείγμα, αφήνοντας να διέλθουν μόνο τα μήκη κύματος που διεγείρουν τη συγκεκριμένη φθορίζουσα χρωστική. Το δεύτερο ανακόπτει αυτό το φως και αφήνει να διέλθουν μόνο τα μήκη κύματος που εκπέμπονται από τη φθορίζουσα χρωστική.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης το δείγμα που έχει επικαλυφθεί από μια πολύ λεπτή επίστρωση ενός βαρέως μετάλλου σαρώνεται από μια δέσμη ηλεκτρονίων που εστιάζονται στο δείγμα από ηλεκτρομαγνητικές σπείρες, οι οποίες στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο δρουν ως φακοί. Η ποσότητα ηλεκτρονίων που διαχέεται ή εκπέμπεται καθώς η δέσμη βομβαρδίζει κάθε σημείο στην επιφάνεια του δείγματος μετράται από τον ανιχνευτή και χρησιμεύει για τον έλεγχο της έντασης διαδοχικών σημείων σε μια εικόνα που συγκροτείται πάνω σε μια οθόνη.

Οι αρχές λειτουργίας του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης είναι ανάλογες ενός ανεστραμμένου μικροσκοπίου, με τη διαφορά ότι αντί για δέσμη φωτός χρησιμοποιείται μια δέσμη ηλεκτρονίων και αντί για γυάλινους φακούς μαγνητικές σπείρες. Το δείγμα πρέπει να είναι πολύ λεπτό και τοποθετείται σε θάλαμο κενού. Η αντίθεση ανάμεσα σε επιμέρους στοιχεία εξασφαλίζεται συνήθως από χρωστικές αλάτων βαρέων μετάλλων, οι οποίες τοπικά απορροφούν ή διασπείρουν ηλεκτρόνια, αφαιρώντας τα από τη δέσμη καθώς αυτή διαπερνά το δείγμα [1].

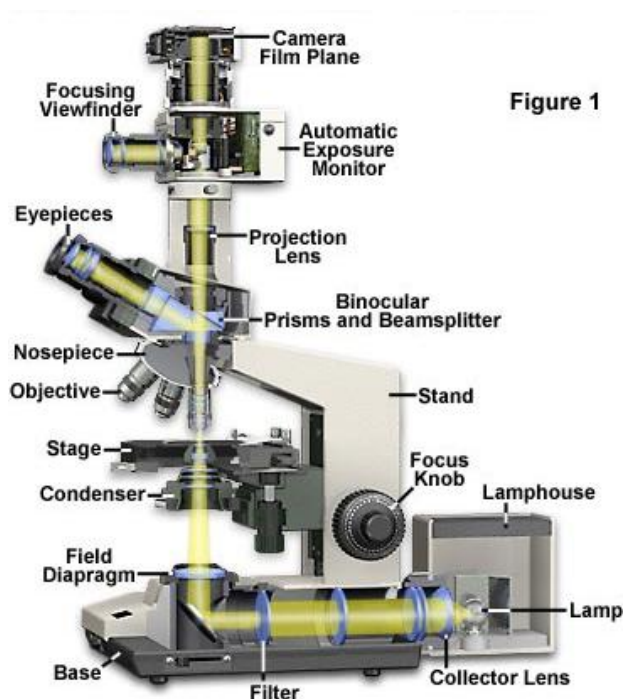
Τα σύγχρονα μικροσκόπια σχεδιάζονται για να παρέχουν μια μεγεθυμένη δισδιάστατη εικόνα που να μπορεί να επικεντρωθεί αξονικά σε διαδοχικές εστιάσεις, επιτρέποντας έτσι μια ενδελεχή εξέταση του δείγματος σε δύο και τρεις διαστάσεις. Τα περισσότερα μικροσκόπια παρέχουν ένα μηχανισμό μετάφρασης που συνδέεται με το στάδιο που καθιστά δυνατή την ακριβή θέση, τον προσανατολισμό και τη συγκέντρωση του δείγματος για τη βελτιστοποίηση της απεικόνισης και της καταγραφής των εικόνων. Η ένταση του φωτισμού και του προσανατολισμού των οδών φωτός σε όλο το μικροσκόπιο μπορεί να ελεγχθεί με στρατηγικά τοποθετημένα διαφράγματα, κάτοπτρα, πρίσματα, διαχωριστών δέσμης και άλλων οπτικών στοιχείων για την επίτευξη του επιθυμητού βαθμού φωτεινότητας και αντίθεσης στο δείγμα [13].

Στην εικόνα παρακάτω παρουσιάζεται ένα τυπικό μικροσκόπιο εξοπλισμένο με μια κεφαλή και ένα σύστημα κάμερας 35 χιλιοστών για εγγραφή μικροφωτογραφιών. Ο φωτισμός παρέχεται από έναν λαμπτήρα βολφραμίου-αλογόνου, τοποθετημένο στην

λάμπα, ο οποίος εκπέμπει φως που περνά πρώτα μέσω ενός φακού συλλέκτη και στη συνέχεια μέσα σε μία οπτική οδό στη βάση μικροσκοπίου.

Επίσης, έχει τοποθετηθεί στη βάση του μικροσκοπίου μια σειρά από φίλτρα, ώστε το φως που εκπέμπεται από τον λαμπτήρα πυρακτώσεως να διέρχεται μέσα από το διάφραγμα πεδίου και εντός του συμπυκνωτή. Ο συμπυκνωτής σχηματίζει ένα κώνο φωτισμού που "λούζει" το δείγμα, το οποίο βρίσκεται στην τράπεζα του μικροσκοπίου και στη συνέχεια εισέρχεται στο στόχο [13].

Το φως, καθώς απομακρύνεται από τον στόχο, εκτρέπεται από ένα συνδυασμό πρίσματος, είτε μέσα από τους προσοφθάλμιους φακούς για να σχηματίσουν μια εικονική εικόνα, είτε κατ'ευθείαν μέσα στο φακό προβολής, ο οποίος είναι τοποθετημένος στον σωλήνα επέκτασης, ώστε στη συνέχεια να σχηματίσει μια λανθάνουσα εικόνα σε φιλμ που στεγάζεται στο σύστημα κάμερας.



Εικόνα 9: Διαμόρφωση συστατικών σύγχρονου μικροσκοπίου [13]

Οι αντικειμενικοί φακοί του μικροσκοπίου είναι ίσως τα πιο σημαντικά συστατικά ενός οπτικού μικροσκοπίου, επειδή είναι υπεύθυνοι για τον πρωτογενή σχηματισμό της εικόνας και παίζουν έναν κεντρικό ρόλο στον καθορισμό της ποιότητας των εικόνων, όπου το μικροσκόπιο είναι ικανό να παράγει. Οι αντικειμενικοί φακοί είναι επίσης καθοριστικοί για τον προσδιορισμό της μεγέθυνσης του συγκεκριμένου δείγματος και της ανάλυσης, όπου η λεπτομέρεια του δείγματος μπορεί να παρατηρηθεί στο μικροσκόπιο.



Εικόνα 10: Αντικειμενικοί φακοί μικροσκοπίου [13]

Οι αντικειμενικοί φακοί θεωρούνται το πιο δύσκολο συστατικό ενός οπτικού μικροσκοπίου για το σχεδιασμό και τη συναρμολόγηση και είναι η πρώτη συνιστώσα, όπου το φως συναντά, καθώς προχωρεί από το δείγμα προς το επίπεδο της εικόνας. Οι αντικειμενικοί φακοί αντλούν το όνομά τους από το γεγονός ότι είναι, από την εγγύτητα, το πλησιέστερο συστατικό προς το αντικείμενο (δείγμα) που πρόκειται να απεικονιστεί [13].

3.2.2 Τα βασικά χαρακτηριστικά του Μικροσκοπίου

Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός μικροσκοπίου είναι: η διακριτική ικανότητα, το βάθος εστίασης και η διάμετρος πεδίου, τα οποία περιγράφονται παρακάτω.

A) Διακριτική ικανότητα

Η διακριτική ικανότητα R_m , ενός οπτικού μικροσκοπίου, που ορίζεται ως η μικρότερη απόσταση δυο σημείων του αντικειμένου, τα οποία είναι διακρίσιμα στην τελική εικόνα, προσδιορίζεται από τα φαινόμενα περίθλασης του αντικειμενικού φακού, και δίνεται από τη σχέση:

$$R_m = 0.61\lambda / NA$$

B) Βάθος εστίασης

Μια άλλη σημαντική παράμετρος κάθε μικροσκοπίου είναι το βάθος εστίασης (DOF = Depth of Field), το οποίο ορίζεται ως η διαμήκης απόσταση στο πεδίο του δείγματος εντός της οποίας, οι λεπτομέρειες του αντικειμένου απεικονίζονται με ένα αποδεκτό βαθμό εστίασης. Το βάθος πεδίου συνδέεται με το μήκος κύματος λ της ακτινοβολίας φωτισμού, το αριθμητικό άνοιγμα NA και το δείκτη διάθλασης n του μέσου που παρεμβάλλεται μεταξύ αντικειμενικού φακού και δείγματος με τη σχέση

$$DOF = \lambda \frac{\sqrt{n^2 - NA^2}}{NA^2}$$

Γ) Διάμετρος πεδίου

Η διάμετρος του πεδίου είναι αντιστρόφως ανάλογη της ολικής μεγέθυνσης [14].

4. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΨΗΦΙΑΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ

4.1 Εισαγωγή

Η ραγδαία εξέλιξη των υπολογιστών κυρίως μετά το 1975, επέτρεψαν την ανάπτυξη ενός νέου κλάδου που περιγράφεται γενικά ως ψηφιακή επεξεργασία εικόνας (ΨΕΕ). Με τη λέξη εικόνα δε νοείται απλά η απεικόνιση μιας σκηνής, αλλά είναι ένα μέσο, ένας τρόπος, με τον οποίο μπορούμε να αποτυπώσουμε πληροφορίες διαφόρων ειδών. Έτσι, έγγραφα, ιατρικά δεδομένα (υπερηχογραφήματα, μαγνητικές τομογραφίες κ.λ.π.), κ.ά. μπορούν να ψηφιοποιηθούν και να επεξεργασθούν ως ιατρικές εικόνες [15].

Η ιατρική απεικόνιση χρησιμοποιεί state-of-the-art τεχνολογίες για να μπορεί να παρέχει 2 ή 3-διαστάσεων εικόνες από το ανθρώπινο σώμα. Μελέτες απεικόνισης μπορούν να διαγνώσουν ασθένειες ή δυσλειτουργίες του σώματος και να παρέχουν πληροφορίες χωρίς εξερευνητική χειρουργική επέμβαση ή άλλη επεμβατική και πιθανώς επικίνδυνες διαγνωστικές τεχνικές.

Παρακάτω, αναφέρονται διάφορα είδη ιατρικών εικόνων:

- Η Ραδιογραφία χρησιμοποιεί ακτινοβολία για να παράγει 2D εικόνες (ακτίνες X) ή 3D σαρώσεις (CT).
- Η Μαγνητική τομογραφία (MRI) χρησιμοποιεί μαγνητικά πεδία αντί για ακτίνες X για να παράγει 3D εικόνες.
- Ο Υπέρηχος χρησιμοποιεί ηχητικά κύματα για να παράγει εικόνες από το εσωτερικό του σώματος.
- Η Πυρηνική ιατρική χρησιμοποιεί την ενέργεια από μικρές ποσότητες ραδιενεργών «ιχνηλατών» που έχουν εισαχθεί εντός του σώματος για την παραγωγή τόσο 2D όσο και 3D εικόνες που αποκαλύπτουν τη βιολογική λειτουργία.
- Η Μοριακή απεικόνιση περιλαμβάνει την πυρηνική ιατρική και επεκτείνει την αρχή «ιχνηλατών» που περιλαμβάνουν τη χρήση των μορίων και αναφέρουν την βιολογική λειτουργία, χρησιμοποιώντας το φως ή άλλα ανιχνεύσιμα σήματα.

Υπάρχουν διαφορετικές μοριακές μέθοδοι απεικόνισης ή τεχνολογιών, όπως:

- Πυρηνική ιατρική: PET, PET/CT, SPECT/CT, PET/MR, SPECT
- Μαγνητική τομογραφία: MR φασματοσκοπία, δυναμική αντίθεση με ενισχυμένη μαγνητική τομογραφία (DCE / MRI), ειδική παρακολούθηση των κυττάρων, στόχο MRI με χρήση σκιαγραφικών (iron oxides-MION/SPIO/USPIO), νανοσωματίδια, μοριακά και ειδικά σκιαγραφικά
- Υπέρηχος: στοχευμένοι παράγοντες αντίθεσης και ιστού-ειδικοί παράγοντες μικροφουσαλίδων
- Οπτική απεικόνιση: βιοφωτισμός και απεικόνιση με μοριακά στοχευμένα οπτικά μέσα [16].

4.2 Ψηφιακή Ιατρική Εικόνα

Η μετάβαση από τον αναλογικό κόσμο στον ψηφιακό συνεπάγεται τη μετατροπή αναλογικών σημάτων σε ψηφιακά. Έτσι, μια πραγματική εικόνα μεταφέρεται στον

ψηφιακό κόσμο με τη μορφή διακεκριμένου σήματος που έχει τη μορφή ψηφιακών πινάκων. Μια ψηφιακή ιατρική εικόνα μπορεί να είναι δυαδική (binary images), μονοχρωματική αποχρώσεων του γκρι (gray - level ή gray – scale images) ή έγχρωμη (color image).

Μια ψηφιακή ιατρική εικόνα αποχρώσεων του γκρι διαστάσεων $N \times M$ παριστάνεται από έναν δισδιάστατο πίνακα ακέραιων αριθμών $I(i,j)$, $i = 1, \dots, N$ και $j = 1, \dots, M$, όπου $0 \leq I(i,j) \leq G-1$. Το G ισούται συνήθως με μια δύναμη του 2, δηλαδή $G=2^m$ με συνηθέστερη τιμή το $m=8$ που αντιστοιχεί σε 256 αποχρώσεις του γκρι. Σημειώνεται ότι προς διευκόλυνση της ψηφιακής επεξεργασίας των εικόνων όχι μόνο το G , αλλά και οι διαστάσεις είναι επιθυμητό να είναι δυνάμεις του 2. Η τιμή $I(i,j)$ είναι ανάλογη της φωτεινότητας της εικόνας στο εικονοστοιχείο (pixel) (i,j) και συνεπώς ο πίνακας $I(i,j)$ είναι ουσιαστικά μια διακεκριμένη συνάρτηση που εκφράζει την ένταση της φωτεινότητας της εικόνας (light intensity function) σε κάθε εικονοστοιχείο. Η λέξη pixel (ή pel ορισμένες φορές) προέρχεται και αντικαθιστά ουσιαστικά τη φράση «picture element».

Η απλούστερη μορφή μιας εικόνας είναι η δυαδική μορφή. Μια δυαδική εικόνα έχει μόνο δύο στάθμες φωτεινότητας που συνήθως είναι το μαύρο και το άσπρο. Το μαύρο αντιστοιχεί στην τιμή 0 και το άσπρο στην τιμή 1 (ή σε αντιστοίχιση με τις gray-level εικόνες στην τιμή 255). Μια δυαδική εικόνα καταλαμβάνει μικρότερη μνήμη και η επεξεργασία της απαιτεί μικρότερο υπολογιστικό κόστος.

Οι έγχρωμες ψηφιακές εικόνες αποτελούν το μέσο για την απεικόνιση του πραγματικού κόσμου. Μια έγχρωμη ψηφιακή εικόνα αποτελείται από τρεις gray-level εικόνες. Δηλαδή, το χρώμα κάθε εικονοστοιχείου έχει τρεις συνιστώσες που αντιστοιχούν στις γκρι αποχρώσεις των αντίστοιχων εικονοστοιχείων των τριών γκρι εικόνων. Από μαθηματικής άποψης, μια ψηφιακή έγχρωμη εικόνα διαστάσεων $N \times M$ μπορεί να συμβολιστεί ως $I_c(i,j)$, $i = 1, \dots, N$ και $j = 1, \dots, M$, όπου $0 \leq I_c(i,j) \leq G-1$ για κάθε $c=1,2,3$. Έτσι, το χρώμα κάθε εικονοστοιχείου (i,j) προκύπτει από το συνδυασμό τριών χρωματικών συνιστωσών:

$$\text{Color}(i,j) = [I_1(i,j), I_2(i,j), I_3(i,j)]$$

Για παράδειγμα, στο χρωματικό σύστημα RGB, το κάθε χρώμα συντίθεται από τα χρώματα κόκκινο (Red), πράσινο (Green), μπλε (Blue) [15].

4.3 Ψηφιακή Επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας

Η Ψηφιακή Επεξεργασία Ιατρικών Εικόνων είναι η εφαρμογή της ψηφιακής επεξεργασίας σημάτων πάνω σε συγκεκριμένα σήματα (εικόνες). Η επεξεργασία, η μετάδοση και η κατανόηση των εικόνων αποτελούν πεδία συνεχώς αναπτυσσόμενης έρευνας. Κατά την επεξεργασία μιας ψηφιακής ιατρικής εικόνας ακολουθείται μια διαδικασία, η οποία αποτελείται από τα ίδια βήματα, αν και οι εφαρμογές μπορεί να παρουσιάζουν πολλές διαφορές.

Το αρχικό βήμα είναι η προετοιμασία του αντικειμένου που πρόκειται να εξεταστεί, που στην προκειμένη περίπτωση της ψηφιακής κυτταρολογικής απεικόνισης είναι ιστός θυρεοειδούς αδένα που προέρχεται από βιοψία, οπότε η προετοιμασία περιλαμβάνει λήψη του ιστού και επεξεργασία του για να προκύψει το προσδοκώμενο αποτέλεσμα. Έπειτα, ακολουθεί η λήψη της εικόνας του αντικειμένου, όπου θα πρέπει να ληφθεί υπόψη και η απαιτούμενη ποιότητα της εικόνας. Το επόμενο βήμα είναι η επεξεργασία της ιατρικής εικόνας, δηλαδή η διόρθωση των ατελειών που δεν ήταν εφικτό να αποφευχθούν κατά τη λήψη της. Ύστερα, μέσω της κατάτμησης της εικόνας γίνεται ο διαχωρισμός των προς εξέταση αντικειμένων από το φόντο της εικόνας. Μετά

την κατάτμηση, ακολουθεί η εξαγωγή χαρακτηριστικών των αντικειμένων ενδιαφέροντος, η επιλογή/μείωση των χαρακτηριστικών αυτών και τέλος η ταξινόμηση των περιστατικών στις κατηγορίες της νόσου (καλοήθεια-κακοήθεια) [12].

4.4 Προ-επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας

Η προ-επεξεργασία της ιατρικής εικόνας αποσκοπεί στη μείωση των ατελειών που εισήγαγε το σύστημα απεικόνισης. Κάποιοι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην προ-επεξεργασία εικόνας είναι η μείωση των ανομοιομορφιών της εικόνας, η εξομάλυνση για την απαλοιφή του θορύβου και όξυνση των ακμών της εικόνας.

Το στάδιο της προ-επεξεργασίας είναι πολύ σημαντικό, αφού από το αποτέλεσμα του καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό η ποιότητα της κατάτμησης. Η εικόνα πρέπει να φιλτράρεται με τρόπο τέτοιο που να μειώνεται ο θόρυβος και να εξομαλύνεται η εσωτερική υφή των αντικειμένων ενδιαφέροντος, χωρίς όμως να επηρεάζονται τα όριά τους.

Ένας τρόπος να επιτευχθεί αυτό το φιλτράρισμα είναι η εφαρμογή στην εικόνα εναλλασσόμενων *openings* και *closings*, τα οποία βασίζονται στην ανακατασκευή (*reconstruction*). Τα φίλτρα ανακατασκευής ανήκουν στην τάξη των συνδεδεμένων τελεστών (*connected operators*), οι οποίοι έχουν την θεμελιώδη ιδιότητα της αλληλεπίδρασης με την εικόνα μέσω επίπεδων ζωνών. Δεν αποκρίνουν συνιστώσες συχνότητας (όπως κάνουν τα γραμμικά φίλτρα) και δεν επηρεάζουν το σχήμα (όπως συμβαίνει με την εφαρμογή ενός απλού *opening* ή *closing*). Αυτό που ουσιαστικά κάνουν είναι να απομακρύνουν και να συγχωνεύουν επίπεδες ζώνες της εικόνας (δηλαδή ομοιόμορφες περιοχές) [17].

Για την καλύτερη κατανόηση των τελεστών αυτών ακολουθείται η παρακάτω διαδικασία: Έστω τα σύνολα A και B . Η διάβρωση του A από το B είναι το σύνολο των σημείων του A στα οποία όταν μετακινηθεί το δομικό στοιχείο B όλα του τα σημεία περιέχονται στο A .

Ο τελεστής διάνοιξης (*Opening*) του συνόλου A από σύνολο B είναι η διάβρωση του A από το δομικό στοιχείο (δ.σ.) B που ακολουθείται από τη διεύρυνση του αποτελέσματος κατά το ίδιο δ.σ. B . Με τον τελεστή αυτό διανοίγονται στενοί ισθμοί με εύρος μικρότερο από τη διάμετρο του δομικού στοιχείου B . Ομοίως εξαφανίζονται νησίδες με διάμετρο μικρότερη εκείνης του B . Ισθμοί ή νησίδες με διαστάσεις μεγαλύτερες του δομικού στοιχείου B δεν υφίστανται ουσιώδεις μεταβολές.

Ο τελεστής πλήρωσης (*Closing*) του συνόλου A από σύνολο B είναι η διεύρυνση του A από το δ.σ. B που ακολουθείται από τη διάβρωση του αποτελέσματος κατά το ίδιο δ.σ. B . Με τον τελεστή αυτό γίνεται η πλήρωση στενών κόλπων ή λιμνών στην μορφή με εύρη μικρότερα από τη διάμετρο του B . Κόλποι ή λίμνες με διαστάσεις μεγαλύτερες του δ.σ. B δεν υφίστανται ουσιώδεις μεταβολές.

Το *reconstruction opening* απομακρύνει φωτεινές περιοχές που είναι μικρότερες από το δομικό στοιχείο (*structuring element*, m), με αποτέλεσμα να γεμίζουν τα διάκενα στα αντικείμενα της εικόνας και αυτά να γίνονται ομοιόμορφα. Ομοίως, το *reconstruction closing* απομακρύνουν τις σκοτεινές περιοχές που είναι μικρότερες από το *structuring element*, απομακρύνουν το θόρυβο από το φόντο της εικόνας, κάνοντάς το ομοιόμορφο. Ο συνδυασμός των δύο φίλτρων ανακατασκευής (*reconstruction filters*) οδηγεί στην απαλοιφή του θορύβου από την εικόνα, χωρίς να επηρεαστούν τα όρια των περιοχών ενδιαφέροντος [18].

4.5 Κατάτμηση Ιατρικής Εικόνας

Κατάτμηση εικόνας (image segmentation) είναι η διαδικασία κατά την οποία μία εικόνα χωρίζεται στα αντικείμενα, ή μέρη, από τα οποία αποτελείται και το φόντο της.

Η τμηματοποίηση εικόνας είναι από τα σπουδαιότερα θέματα στην ψηφιακή επεξεργασία ιατρικών εικόνων. Συνήθως, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση ο προσδιορισμών των περιοχών ή των αντικειμένων που μια εικόνα περιέχει για περαιτέρω επεξεργασία, ανάλυση ή αναγνώριση. Για την κατάτμηση των εικόνων έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές. Δεν υπάρχει όμως γενική μέθοδος και σταθερές προδιαγραφές που να καθορίζουν την ποιότητα και την αποτελεσματικότητα των τεχνικών αυτών. Ανάλογα με την εφαρμογή πρέπει να επιλέγεται και η κατάλληλη τεχνική τμηματοποίησης. Ο Haralick και ο Shapiro πρότειναν ότι για να είναι «καλή» μια μέθοδος κατάτμησης πρέπει:

- Οι περιοχές που διαχωρίζει να είναι ομοιόμορφες και ομογενείς σε σχέση με κάποιο χαρακτηριστικό, όπως για παράδειγμα τα επίπεδα του γκρι.
- Το εσωτερικό των περιοχών πρέπει να είναι απλό, χωρίς για παράδειγμα πολλές μικρές οπές.
- Γειτονικές περιοχές πρέπει να έχουν σαφώς διαφορετικές τιμές για το χαρακτηριστικό με το οποίο έγινε ο διαχωρισμός.
- Τα όρια των περιοχών πρέπει να είναι απλά, όχι απότομα και ακριβή.

Συνήθως για την ανάπτυξη και την επιλογή μιας τεχνικής διαχωρισμού χρησιμοποιούνται οι ιδιότητες της ασυνέχειας (discontinuity) και ομοιότητας (similarity). Με τον έλεγχο της ασυνέχειας εξετάζεται η απότομη μεταβολή στις τιμές των εικονοστοιχείων. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατόν για παράδειγμα να προσδιοριστούν απομονωμένα σημεία, καμπύλες και ακμές. Στη δεύτερη κατηγορία ο έλεγχος της ομοιότητας ως προς ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά οδηγεί σε τεχνικές κατάτμησης, όπως κατωφλίου (thresholding) και ανάπτυξη περιοχής (region growing) [19].

Παρακάτω, αναφέρονται κάποιες από τις βασικότερες τεχνικές κατάτμησης εικόνας.

4.5.1 Κατωφλίωση με χρήση καθολικού κατωφλίου

Η εύρεση κατωφλίων (Thresholds) είναι μια από τις ισχυρότερες τεχνικές για την κατάτμηση εικόνων που απεικονίζονται με αποχρώσεις του γκρι. Η εφαρμογή των τεχνικών κατωφλίου σε μια ψηφιακή εικόνα βασίζεται στη υπόθεση ότι τα εικονοστοιχεία του αντικειμένου (προσκήνιο: foreground) μπορούν να διαχωριστούν από τα εικονοστοιχεία του φόντου (παρασκήνιο: background) με βάση τις τιμές των αποχρώσεών τους [20].

Για τον προσδιορισμό των κύριων αποχρώσεων του γκρι με τη χρήση ενός κατωφλίου (bilevel global thresholding) η εικόνα μετατρέπεται σε εικόνα δύο κύριων αποχρώσεων. Με τη χρήση μιας μοναδικής τιμής κατωφλίου για όλα τα εικονοστοιχεία της. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για τη μετατροπή μιας εικόνας σε δυαδική. Η προσέγγιση αυτή δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις, όπως των εικόνων κειμένου όπου είναι γνωστό εκ των προτέρων ότι η εικόνα περιέχει μόνο δύο κύριες αποχρώσεις του γκρι (π.χ. άσπρο, μαύρο). Συνεπώς οι μέθοδοι ενός καθολικού (ή απόλυτου) κατωφλίου πρέπει να εφαρμόζονται σε εικόνες όπου είναι ξεκάθαρη η διαφορά μεταξύ των αποχρώσεων του προσκήνιου με το παρασκήνιο. Έχουν προταθεί αρκετές τεχνικές για την αυτόματη επιλογή ενός καθολικού κατωφλίου. [15] Πρέπει τέλος, να σημειωθεί ότι όταν το διάστημα τιμών της φωτεινότητας ενός αντικειμένου είναι εντελώς

διαφορετικό από το αντίστοιχο διάστημα της υπόλοιπης εικόνας, για την κατωφλίωση αρκεί η κατάλληλη τροποποίηση του ιστογράμματος [18].

4.5.2 Κατωφλίωση με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου

Στη βιβλιογραφία, έχει αναπτυχθεί ένας μεγάλος αριθμός τεχνικών με τις οποίες αντιμετωπίζεται η κατωφλίωση εικόνων, που έχουν ληφθεί με διαφορετικές συνθήκες φωτισμού, ή στις οποίες η ανακλαστικότητα αντικειμένου που επιθυμούμε να διαχωρίσουμε και της υπόλοιπης σκηνής δε διαφέρουν σημαντικά. Στην περίπτωση λοιπόν που η σκηνή δε φωτίζεται ομοιόμορφα και δεν είναι δυνατή η προσπέλαση της πηγής φωτισμού, χρησιμοποιείται πολλές φορές με επιτυχία, η τεχνική της χρήσης προσαρμοζόμενου κατωφλίου (adaptive thresholding). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η τιμή του κατωφλίου, επιλέγεται διαφορετική για κάθε pixel της εικόνας [18].

4.5.3 Κατωφλίωση με χρήση της μεθόδου Otsu

Η μέθοδος του Otsu [21] που προτάθηκε το 1979 είναι μια από τις καλύτερες τεχνικές εύρεσης κατωφλίου. Το κριτήριο, το οποίο χρησιμοποιείται στη μέθοδο του Otsu για τον προσδιορισμό του βέλτιστου κατωφλίου, είναι η μεγιστοποίηση της διαχωριστικότητας μεταξύ των σκοτεινών και των φωτεινών περιοχών.

Έστω L διακριτά επίπεδα γκριζου τόνου, n_i το πλήθος των pixels που έχουν επίπεδο γκριζου τόνου i και $N=n_0+n_1+\dots+n_{L-1}$ το συνολικό πλήθος των pixels τα εικόνας. Για κανονικοποιημένο ιστόγραμμα θα ισχύουν:

$$p_i = n_i / N \text{ και } \sum_{i=0}^{L-1} p_i = 1 \quad (1)$$

Θα υποθέσουμε ότι με μια τιμή κατωφλίου T δημιουργούνται δύο κλάσεις C_1 και C_2 (φόντο και αντικείμενα, αντίστοιχα). Συνεπώς, οι αντίστοιχες πιθανότητες για τις κλάσεις και οι μέσες τιμές θα είναι:

$$\omega_1 = \Pr(C_1) = \sum_{i=0}^T p_i = \omega(T) \quad (2)$$

$$\omega_2 = \Pr(C_2) = \sum_{i=T+1}^{L-1} p_i = 1 - \omega(T) \quad (3)$$

$$\mu_1 = \sum_{i=0}^T i \Pr(i | C_1) = \sum_{i=0}^T i p_i / \omega_1 = \mu(T) / \omega(T) \quad (4)$$

$$\mu_2 = \sum_{i=T+1}^{L-1} i \Pr(i | C_2) = \sum_{i=T+1}^{L-1} i p_i / \omega_2 = \frac{\mu_T - \mu(T)}{1 - \omega(T)} \quad (5)$$

όπου

$$\omega(T\alpha) = \sum_{i=0}^T p_i \quad (17) \quad \text{και} \quad \mu(T) = \sum_{i=0}^T i p_i \quad (6)$$

είναι οι μηδενικές και πρώτης τάξης, αντίστοιχα, αθροιστικές ροπές του ιστογράμματος μέχρι το επίπεδο T, και

$$\mu_\tau = \mu(L-1) = \sum_{i=0}^{L-1} i p_i \quad (7)$$

είναι η ολική μέση τιμή για την εικόνα.

Για οποιοδήποτε T ισχύει:

$$\omega_1 \mu_1 + \omega_2 \mu_2 = \mu_\tau \quad \text{και} \quad \omega_1 + \omega_2 = 1 \quad (8)$$

Οι διακυμάνσεις των κλάσεων είναι:

$$\sigma_1^2 = \sum_{i=0}^T (i - \mu_1)^2 \Pr(i | C_1) = \sum_{i=0}^T (i - \mu_1)^2 p_i / \omega_1 \quad (9)$$

$$\sigma_2^2 = \sum_{i=T+1}^{L-1} (i - \mu_2)^2 \Pr(i | C_2) = \sum_{i=T+1}^{L-1} (i - \mu_2)^2 p_i / \omega_2 \quad (10)$$

Για την αξιολόγηση τα απόδοσης του διαχωρισμού με την επιλογή της τιμής κατωφλίου εισάγουμε τους εξής όρους:

$$\lambda = \sigma_B^2 / \sigma_W^2, \quad \kappa = \sigma_T^2 / \sigma_W^2 \quad \text{και} \quad n = \sigma_B^2 / \sigma_T^2 \quad (11)$$

όπου

$$\sigma_B^2 = \omega_1 (\mu_1 - \mu_\tau)^2 + \omega_2 (\mu_2 - \mu_\tau)^2 = \omega_1 \omega_2 (\mu_2 - \mu_1)^2 \quad (12)$$

$$\sigma_W^2 = \omega_1 \sigma_1^2 + \omega_2 \sigma_2^2 \quad (13)$$

$$\sigma_T^2 = \sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu_T)^2 p_i \quad (14)$$

είναι η διακύμανση μεταξύ των κλάσεων, η διακύμανση σε κάθε κλάση και η ολική διακύμανση, αντίστοιχα. Επομένως το πρόβλημα μπορεί να αντιμετωπιστεί σαν ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης για την επιλογή της τιμής T που μεγιστοποιεί κάποιον από τους όρους της σχέσης (11). Ισχύει ότι:

$$\sigma_W^2 + \sigma_B^2 = \sigma_T^2 \quad (15)$$

άρα οι τρεις όροι (11) θα είναι ισοδύναμοι, άρα αρκεί να βρεθεί το T που μεγιστοποιεί οποιαδήποτε από τα λ , κ , n . Επειδή ο υπολογισμός του n είναι ευκολότερος, επιλέγουμε να λύσουμε αυτό. Είναι (συναρτήσει του T)

$$n(T) = \frac{\sigma_B^2(T)}{\sigma_T^2} \Rightarrow \sigma_B^2(T) = \frac{[\mu_T \omega(T) - \mu(T)]^2}{\omega(T)[1 - \omega(T)]} \quad (16)$$

Τελικά η βέλτιστη τιμή κατωφλίου, τ , που μεγιστοποιεί το n , είναι το τ που μεγιστοποιεί την ποσότητα

$$\sigma_B^2(\tau) = \max_{0 \leq T \leq L-1} \sigma_B^2(T) \quad (17)$$

4.6 Εξαγωγή χαρακτηριστικών

Η αναγνώριση προτύπων αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα στοιχεία ενός συστήματος τεχνητής νοημοσύνης που στοχεύει στην αναγνώριση και τη λήψη αποφάσεων. Στην περιοχή της ψηφιακής επεξεργασίας και ανάλυσης ιατρικών εικόνων, τα πρότυπα καλούνται «χαρακτηριστικά» (features). Γενικά, ως «χαρακτηριστικό» μπορεί να θεωρηθεί οποιοδήποτε μετρήσιμο μέγεθος που εξάγεται από μια εικόνα. Ουσιαστικά, η περιγραφή αντικειμένων ενδιαφέροντος με χαρακτηριστικά απεικονίζει τα αντικείμενα στο χώρο των χαρακτηριστικών, με αποτέλεσμα, η αναγνώρισή τους να ισοδυναμεί με τη μέτρηση της ομοιότητας μεταξύ των χαρακτηριστικών των αντικειμένων. Συνεπώς, τα χαρακτηριστικά που επιλέγονται πρέπει να είναι σε θέση να διαχωρίζουν και να περιγράφουν, κατά το δυνατόν, μονοσήμαντα τα αντικείμενα. Η κατηγοριοποίηση των χαρακτηριστικών μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους. Έτσι, χαρακτηριστικά μπορεί να είναι μεγέθη μετρήσιμα ή συμβολικά ή του τύπου ΝΑΙ-ΟΧΙ ή 0-1. Τα μετρήσιμα χαρακτηριστικά είναι μεγέθη συνεχή ή ασυνεχή. Από πλευράς πεδίου ορισμού, τα χαρακτηριστικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως:

- χαρακτηριστικά χώρου (spatial features)
- χαρακτηριστικά από μετασχηματισμό (transform features)

Στην περιοχή των χαρακτηριστικών χώρου, μπορούμε να διακρίνουμε υποκατηγορίες όπως:

- γεωμετρικά χαρακτηριστικά (geometrical features)
- στατιστικά χαρακτηριστικά, όπως είναι οι ροπές (moments)
- χαρακτηριστικά υφής (texture features)

Γενικά, μπορούμε να δεχτούμε ότι ένα σύνολο από καλά χαρακτηριστικά πρέπει να ικανοποιεί τις ακόλουθες ιδιότητες:

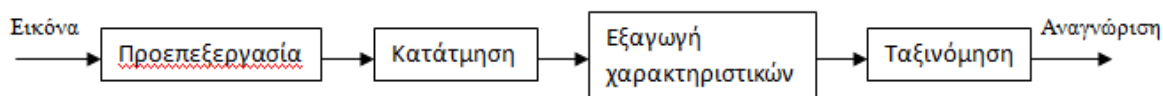
Διακριτικότητα: Το σύνολο των χαρακτηριστικών πρέπει να είναι ικανό να διαχωρίζει τα αντικείμενα μεταξύ τους. Με άλλα λόγια, πρέπει για διαφορετικά αντικείμενα να καταλήγουμε σε ικανοποιητικά διαφορετικό σημείο του χώρου των χαρακτηριστικών.

Αξιοπιστία: Δηλαδή, για παρόμοια αντικείμενα πρέπει να προκύπτουν ικανοποιητικά κοντινές τιμές για τα χαρακτηριστικά.

Μικρό υπολογιστικό κόστος: Ανάλογα με την εφαρμογή, πρέπει και το υπολογιστικό κόστος να είναι ικανοποιητικά μικρό.

Καλή προσαρμογή με τη διαδικασία ταξινόμησης: σε συστήματα αναγνώρισης, μετά το στάδιο εξαγωγής χαρακτηριστικών ακολουθεί το στάδιο της ταξινόμησης (classification). Πρέπει λοιπόν τα χαρακτηριστικά να ταιριάζουν με τη μέθοδο ταξινόμησης.

Εκτός των παραπάνω ιδιοτήτων, είναι σε πολλές περιπτώσεις πολύ χρήσιμο, τα χαρακτηριστικά να είναι ανεξάρτητα της κλιμάκωσης, της περιστροφής και της μετατόπισης αλλά και να μην είναι ευαίσθητα στο θόρυβο [15].



Σχήμα 4: Τυπικό σύστημα εξαγωγής και χρήσης χαρακτηριστικών [15]

4.6.1 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Πρώτης Τάξης

Η υφή είναι ένα φαινόμενο που είναι διαδεδομένο, εύκολο να αναγνωριστεί από τον άνθρωπο, αλλά δύσκολο να καθοριστεί. Διάφοροι συγγραφείς έχουν προσπαθήσει να καθορίσουν ποιοτικά το τι είναι υφή. Σύμφωνα με τον Hawkins [22] η υφή εμφανίζεται να εξαρτάται από τρία συστατικά:

- α) κάποια τοπικά «δομή» επαναλαμβάνεται σε μια περιοχή που είναι μεγάλη σε σύγκριση με το μέγεθος της δομής,
- β) η δομή συνίσταται σε μια τυχαία ρύθμιση των στοιχειωδών μερών της και
- γ) τα μέρη είναι κατά προσέγγιση ομοιόμορφες οντότητες που έχουν περίπου τις ίδιες διαστάσεις παντού μέσα στις περιοχές, όπου υπάρχει υφή.

Αν και η περιγραφή αυτή είναι εύλογη δεν παρέχει κανένα προφανή τρόπο για τη μέτρηση της υφής και την εξαγωγή χαρακτηριστικών. Για τους δικούς μας σκοπούς μπορούμε να προσδιορίσουμε την υφή ως επαναλαμβανόμενα πρότυπα-δομές που οφείλονται σε τοπικές διακυμάνσεις των φωτεινοτήτων της εικόνας, τα οποία για τη συγκεκριμένη ευκρίνεια της εικόνας είναι τόσο λεπτά που δεν μπορούν να διακριθούν ως ξεχωριστά αντικείμενα. Συνεπώς, ένα συνδεδεμένο σύνολο εικονοστοιχείων, το οποίο ικανοποιεί μια συγκεκριμένη ιδιότητα που λαμβάνει χώρα επανειλημμένα σε μια περιοχή της εικόνας, δημιουργεί μια περιοχή υφής [15].

Η στατιστική ανάλυση πρώτης τάξης (*first order statistics textural features*) παρέχει διαφορετικά στατιστικά χαρακτηριστικά (4 στατιστικές ροπές - *moments*) του ιστογράμματος της έντασης μιας εικόνας [23]. Εξαρτώνται μόνο από τις συγκεκριμένες τιμές των εικονοστοιχείων (pixels) και όχι από την αλληλεπίδραση ή την ταύτιση γειτονικών τιμών εικονοστοιχείων.

4.6.2 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Δεύτερης Τάξης

Ο Πίνακας Συνύπαρξης των Επιπέδων του γκρι (*Gray Level Co-occurrence Matrix - GLCM*) αντιπροσωπεύει ένα καθιερωμένο ισχυρό στατιστικό εργαλείο για την εξαγωγή πληροφοριών υφής δεύτερης στατιστικής τάξης από εικόνες [23]. Ο Πίνακας

Συνύπαρξης των Επιπέδων του γκρι χαρακτηρίζει την χωρική κατανομή των επιπέδων του γκρι (*spatial distribution of gray levels*) στις επιλεγείσες περιοχές ενδιαφέροντος (ROIs). Δηλαδή, ο Πίνακας Συνύπαρξης περιγράφει το πόσες φορές (συχνότητα) δύο γειτονικά εικονοστοιχεία υπάρχουν στην υπό εξέταση περιοχή ενδιαφέροντος, δεδομένης μιας συγκεκριμένης διεύθυνσης (πχ. 0° ή 90°) διερεύνησης της επαναληψιμότητας της συνύπαρξης των δύο γειτονικών εικονοστοιχείων. Κάθε στοιχείο θέσης (i,j) του GLCM καθορίζει την συνδυασμένη πυκνότητα πιθανότητας της εμφάνισης (*joint probability density of the occurrence*) των επιπέδων του γκρι i και j σε μια συγκεκριμένη διεύθυνση-προσανατολισμό (*orientation*) θ και καθορισμένη απόσταση (*distance*) d αναμεταξύ τους. Συνεπώς, για διαφορετικές τιμές θ και d , διαφορετικά GLCM προκύπτουν για κάθε επιλεχθείσα περιοχή ενδιαφέροντος (ROI).

Παρακάτω φαίνεται το παράδειγμα υπολογισμού ενός co – occurrence πίνακα. Ο πίνακας $g(i,j)$ αναπαριστά τους τόνους του γκρι μιας εικόνας [24].

$$g(i,j) = \begin{matrix} & 0 & 0 & 2 & 2 \\ 1 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 3 & 2 & 3 & 3 \\ 3 & 2 & 2 & 2 \end{matrix}$$

Ο πίνακας co –occurrence για τη διεύθυνση 0 είναι ο παρακάτω:

Πίνακας 1: Πίνακας co-occurrence για τη διεύθυνση 0

		0	1	2	3
$P(i,j)^0 =$	0	4	1	1	0
	1	1	2	0	0
	2	1	0	6	3
	3	0	0	3	2

Ο παραπάνω πίνακας προκύπτει ως εξής. Το στοιχείο $P(0,0)=4$ αναπαριστά την συχνότητα που γειτονικά pixel $[0,0]$ εμφανίζονται στον πίνακα $g(i,j)$ τόσο κατά τη διεύθυνση 0 όσο και κατά τη διεύθυνση 180. Παρόμοια, υπολογίζονται και τα υπόλοιπα πιθανά ζεύγη.

$p(i,j)=P(i,j)/R$: κανονικοποιημένος co – occurrence πίνακας

R : μέγιστη τιμή του $P(i,j)$

$P_x(i)=\sum_j P(i,j)$: μονοδιάστατος πίνακας που παράγεται, αθροίζοντας τις γραμμές του $p(i,j)$
 $P_y(j)=\sum_i P(i,j)$: μονοδιάστατος πίνακας που παράγεται, αθροίζοντας τις στήλες του $p(i,j)$

4.6.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά είναι αυτά που έχουν σχέση με το σχήμα των αντικειμένων. Τα πιο απλά είναι το εμβαδόν και η περίμετρος. Επίσης, τέτοια χαρακτηριστικά είναι η κυκλικότητα (roundness), που είναι ένας από τους δείκτες κατάληψης χώρου του αντικειμένου (compactness index), το εμβαδόν του μικρότερου κυρτού πολυγώνου (ή πολυέδρου για τις τρισδιάστατες εικόνες) που καλύπτει το αντικείμενο (convex area) και η περίμετρος του πολυγώνου αυτού (convex perimeter). Η εξαγωγή των χαρακτηριστικών αυτών βασίζεται μόνο στη θέση των pixels των αντικειμένων στην εικόνα [15].

4.7 Επιλογή χαρακτηριστικών

Αυτά που έχουν περιγραφεί μέχρι τώρα, είναι ουσιαστικά αλγόριθμοι που δημιουργούν χαρακτηριστικά. Ωστόσο, ένας βέλτιστος αριθμός χαρακτηριστικών θα πρέπει να προσδιοριστεί ή να επιλεγεί για την διαδικασία ταξινόμησης. Ανάλογα με το πρόβλημα, η διαχωριστική ικανότητα του κάθε χαρακτηριστικού ποικίλλει. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για την επιλογή ενός βέλτιστου αριθμού χαρακτηριστικών.

Μία μέθοδος είναι να προσπαθήσουμε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των χαρακτηριστικών στην ταξινόμηση επισημασμένων εικόνων σε σωστές κατηγορίες της νόσου (δηλ. συνδυασμοί 2, 3 χαρακτηριστικών). Αυτή είναι μια καλή μέθοδος, αλλά είναι χρονοβόρα. Μία άλλη μέθοδος είναι να προσδιορίσουμε τα χαρακτηριστικά με την υψηλότερη διαχωριστική ικανότητα (π.χ. χρησιμοποιώντας ένα wilcoxon test). Μια τρίτη μέθοδος είναι ο συνδυασμός και των δύο, δηλαδή επιλογή χαρακτηριστικών με καλή διαχωριστική ικανότητα και όλους τους συνδυασμούς που δείχνουν ταξινόμηση με συνδυασμό καλύτερων χαρακτηριστικών με την υψηλότερη ακρίβεια ταξινόμησης και με μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών. Σε αντίθεση με την εξαντλητική αναζήτηση, λιγότερο χρονοβόρες μέθοδοι επιλογής χαρακτηριστικών θεωρούνται η Sequential Forward Selection (SFS) και η Sequential Backward Selection (SBS) [24].

4.7.1 Wilcoxon Rank-Sum Test

Το Wilcoxon Rank Sum τεστ [25] εφαρμόζεται όταν θέλουμε να συγκρίνουμε (δηλαδή να διαπιστώσουμε εάν υπάρχει οποιαδήποτε διαφορά μεταξύ τους) δύο ανεξάρτητες ομάδες παρατηρήσεων και όταν θέλουμε να δούμε εάν αυτές οι δύο ομάδες έχουν μη κανονικές κατανομές ή οι κατανομές τους είναι άγνωστες (δηλαδή το t-τεστ δεν μπορεί να εφαρμοστεί). Υποθέτουμε ότι οι δύο ομάδες παρατηρήσεων προέρχονται από συνεχείς κατανομές οποιασδήποτε μορφής που είναι ίδιες με την εξαίρεση πιθανόν μιας ολίσθησης.

Τα βήματα που ακολουθούμε για να εφαρμόσουμε το Wilcoxon Rank Sum τεστ διατυπώνονται παρακάτω:

1. Θέτουμε τη μηδενική υπόθεση H_0 : ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ καμία διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (προέρχονται από τις ίδιες κατανομές).
2. Θέτουμε την εναλλακτική υπόθεση H_1 : Υπάρχει διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (δεν προέρχονται από τις ίδιες κατανομές).
3. Ταξινομούμε όλες τις παρατηρήσεις (και των δύο ομάδων).
 - Τις ταξινομούμε από τη μικρότερη προς τη μεγαλύτερη (ή το αντίθετο).

- Η τάξη κάθε παρατήρησης είναι η θέση της στην ταξινομημένη λίστα, ξεκινώντας από το 1 για τη μικρότερη παρατήρηση.
 - Όλες οι ίσες τιμές ταξινομούνται με τη μέση τιμή των τάξεων που καταλαμβάνουν.
4. Υπολογίζουμε το άθροισμα των τάξεων κάθε ομάδας.
 5. Η Wilcoxon στατιστική W είναι το μικρότερο από τα δύο αθροίσματα.
 6. Επιλέγουμε το επίπεδο σημαντικότητας α .
 7. Υπολογίζουμε την p -τιμή (από τους πίνακες Wilcoxon) που αντιστοιχεί στη W στατιστική.
 8. Απορρίπτουμε τη μηδενική υπόθεση υπέρ της εναλλακτικής, εάν $p < \alpha$.

4.7.2 Exhaustive Search (Εξαντλητική Αναζήτηση)

Μια βέλτιστη μέθοδος που βασίζεται στη διαδικασία επιλογής χαρακτηριστικών είναι ο αλγόριθμος εξαντλητικής αναζήτησης (Exhaustive Search) [26]. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, τα χαρακτηριστικά συνδυάζονται σε όλους τους δυνατούς τρόπους (συνδυασμοί των 2, 3 μέχρι το συνολικό αριθμό των χαρακτηριστικών). Ο ταξινομητής στη συνέχεια σχεδιάζεται, χρησιμοποιώντας κάθε ξεχωριστό συνδυασμό. Ως καλύτερο διάλυμα χαρακτηριστικών θεωρείται το υποσύνολο των χαρακτηριστικών που οδηγεί στο ελάχιστο σφάλμα ταξινόμησης.

4.7.3 Sequential Backward Selection

Ο αλγόριθμος SBS [27] λειτουργεί καλύτερα, όταν το βέλτιστο υποσύνολο χαρακτηριστικών είναι μεγάλο. Ο κύριος περιορισμός του SBS είναι η ανικανότητά του να επανεκτιμήσει τη χρησιμότητα ενός χαρακτηριστικού, αφού έχει απορριφθεί.

Ξεκινώντας από το πλήρες σύνολο, αφαιρεί διαδοχικά το χαρακτηριστικό x^- που μειώνει σχεδόν τη τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης $J(Y-x^-)$. Αφαιρώντας ένα χαρακτηριστικό μπορεί στην πραγματικότητα να αυξηθεί η αντικειμενική συνάρτηση $J_k(Y-x^-) > J(Y_k)$. Τέτοιες συναρτήσεις λέγεται ότι είναι μη-μονότονες. Ο αλγόριθμος της μεθόδου αυτής περιγράφεται και στα παρακάτω βήματα:

1. Ξεκινά με το πλήρες σύνολο: $Y_0 = X$

$$x^- = \arg \max_{x \in Y_k} J(Y_k - x)$$

2. Αφαιρεί το χειρότερο χαρακτηριστικό:

3. Ενημερώνει: $Y_{k+1} = Y_k - x^-; k = k + 1$

4. Πηγαίνει στο Βήμα 2.

4.8 Μέθοδοι αξιολόγησης συστήματος

Για την εκτίμηση της απόδοσης ενός συστήματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι παρακάτω δύο μέθοδοι.

4.8.1 Leave-One-Out Method (LOO)

Η μέθοδος Leave-One-Out [26] μειώνει την έλλειψη ανεξαρτησίας μεταξύ των συνόλων εκπαίδευσης και δοκιμής. Η εκπαίδευση γίνεται χρησιμοποιώντας $N - 1$ δείγματα και η δοκιμή πραγματοποιείται με το δείγμα που βρίσκεται εκτός. Αν αυτό ταξινομηθεί εσφαλμένα, ένα σφάλμα υπολογίζεται. Αυτό επαναλαμβάνεται N φορές, κάθε φορά που μένει εκτός ένα δείγμα. Ο συνολικός αριθμός των σφαλμάτων οδηγεί στην εκτίμηση της πιθανότητας σφάλματος της ταξινόμησης. Έτσι, η εκπαίδευση επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας, ουσιαστικά, όλα τα δείγματα, και κατά την ίδια στιγμή η ανεξαρτησία μεταξύ των συνόλων εκπαίδευσης και δοκιμής τηρείται. Το κύριο μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι η υψηλή υπολογιστική πολυπλοκότητα.

Όταν πραγματοποιείται διακριτική ανάλυση [25] για να προβλεφθεί η ιδιότητα μέλους σε ομάδες, είναι πολύ σημαντικό να υπολογιστεί η ακρίβεια των προβλέψεων. Αν και φαίνεται εύκολο έργο, στην πραγματικότητα ο υπολογισμός της ακρίβειας των προβλέψεων είναι πιο πολύπλοκος. Ας θεωρήσουμε τη διακριτική ανάλυση 2-ομάδων (π.χ. την περίπτωση παρουσία/απουσία ή την περίπτωση +/-). Υπάρχουν δύο πιθανά σφάλματα πρόβλεψης: α) Ψευδώς Θετικά (FP-False Positives) και β) Ψευδώς αρνητικά (FN-False Negatives). Η απόδοση του μοντέλου πρόβλεψης συνοψίζεται σε έναν πίνακα σφαλμάτων, όπως ο ακόλουθος, που περιλαμβάνει τις παρατηρήσεις και τις προβλέψεις: +/-, όπου A, B, C, D είναι μετρήσεις (και όχι ποσοστά) και $A+B+C+D=N$ [25].

Πίνακας 2: Πίνακας σφαλμάτων ταξινόμησης [25]

	Πραγματική τιμή +	Πραγματική τιμή -
Προβλεπόμενη τιμή +	A	B
Προβλεπόμενη τιμή -	C	D

Από τον παραπάνω πίνακα σφαλμάτων μπορούν να υπολογιστούν κάποια μέτρα του σφάλματος ή της ακρίβειας. Μερικά από αυτά τα μέτρα παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 3: Μέτρα σφάλματος ή ακρίβειας ταξινόμησης [25]

Μέτρα	Υπολογισμός	Παρατηρήσεις
Ποσοστό Ορθής Ταξινόμησης (Correct Classification Rate)	$\frac{A + D}{N}$	
Ευαισθησία (Sensitivity)	$\frac{A}{A + C}$	Είναι η υπό συνθήκη πιθανότητα ότι η περίπτωση «+» ταξινομείται σωστά.
Ιδιομορφία (Specificity)	$\frac{D}{B + D}$	Είναι το αντίθετο της “Ευαισθησίας”.
Ποσοστό Ψευδώς Θετικών (False Positive Rate)	$\frac{B}{B + D}$	
Ποσοστό Ψευδώς Αρνητικών (False Negative Rate)	$\frac{C}{A + C}$	

4.8.2 External Cross Validation

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή [24], το σύνολο δεδομένων χωρίζεται σε δύο υποσύνολα: το υποσύνολο εκπαίδευσης και το υποσύνολο δοκιμής. Ο διαχωρισμός γίνεται με τυχαίο τρόπο. Το υποσύνολο εκπαίδευσης χρησιμοποιείται για το σχεδιασμό του ταξινομητή και το υποσύνολο δοκιμής για την εκτίμηση της απόδοσης του συστήματος σε νέα άγνωστα δείγματα, υπολογίζοντας το ποσοστό ορθής ταξινόμησης, ευαισθησίας και ειδικότητας, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως.

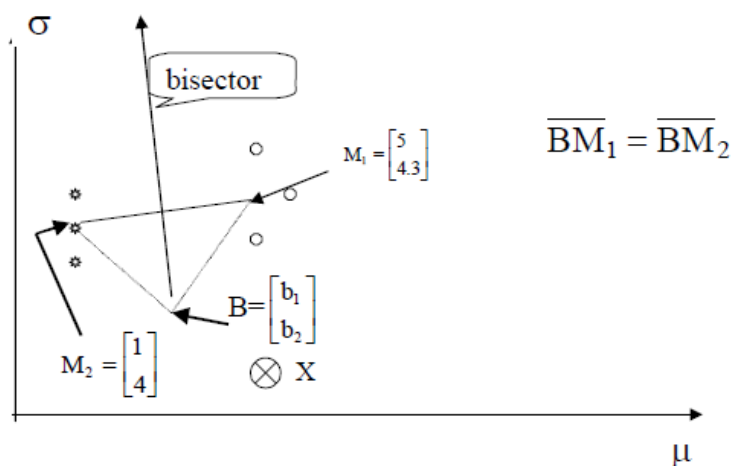
4.9 Ταξινομητές

Η ευκολία με την οποία αντιλαμβανόμαστε ένα πρόσωπο, διακρίνουμε τους χαρακτήρες, ξεχωρίζουμε τα κλειδιά μας ακόμα και μόνο με την αφή και αποφασίζουμε αν ένα φρούτο είναι ώριμο από τη μυρωδιά του, είναι διαδικασίες αναγνώρισης προτύπων (Pattern Recognition). Ο άνθρωπος επιλύει τα προβλήματα αυτά με την εκπαίδευση που έχουν υποστεί τα δισεκατομμύρια κύτταρα του εγκεφάλου του. Στην περιοχή της ψηφιακής επεξεργασίας ιατρικών εικόνων, το πρόβλημα της αναγνώρισης προτύπων ανάγεται στην ταξινόμηση (Clustering) ενός συνόλου κατάλληλων και «ισχυρών» χαρακτηριστικών σε κλάσεις (classes) με τη βοήθεια κατάλληλων ταξινομητών (Classifiers). Το διάλυμα των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιείται σε ένα σύστημα ταξινόμησης καλείται πρότυπο (pattern). Οι ταξινομητές είναι ουσιαστικά αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται για να επιτύχουμε την ταξινόμηση των προτύπων σε κατά το δυνατόν ομοιογενείς, από άποψη χαρακτηριστικών, κλάσεις. Η ταξινόμηση γίνεται συνήθως είτε με επίβλεψη (supervised clustering) είτε χωρίς επίβλεψη (non-supervised clustering). Στην πρώτη περίπτωση οι κλάσεις δημιουργούνται καθορίζοντας την επιθυμητή απόκριση του ταξινομητή για κάθε διάλυμα χαρακτηριστικών (πρότυπο). Στη δεύτερη περίπτωση, οι κλάσεις δημιουργούνται αυτόματα χωρίς να παρέχεται στον ταξινομητή καμία πληροφορία για το που ανήκει κάθε διάλυμα χαρακτηριστικών. Στην ψηφιακή επεξεργασία ιατρικών εικόνων χρησιμοποιούνται

ταξινομητές που ανήκουν σε μια από τις ακόλουθες κατηγορίες: στατιστικούς, νευρωνικούς, ταξινομητές που βασίζονται σε έναν ιεραρχικό αλγόριθμο (hierarchical clustering), ταξινομητές που χρησιμοποιούν σαφή (Crisp) δεδομένα και σε αυτούς που βασίζονται στην ασαφή λογική (Fuzzy Logic) και οι οποίοι καλούνται ασαφείς ταξινομητές, αυτό-οργανούμενους ή μη ταξινομητές (Self-Organized) και τους υβριδικούς, οι οποίοι καλούνται και ως νευρο-ασαφείς ταξινομητές (Neuro-Fuzzy Classifiers). Η επιλογή του κατάλληλου ταξινομητή σχετίζεται άμεσα με το είδος των χαρακτηριστικών καθώς και το είδος της εφαρμογής όπου θα χρησιμοποιηθεί. Συνεπώς, κατά το σχεδιασμό μιας εφαρμογής, η επιλογή των κατάλληλων χαρακτηριστικών και του κατάλληλου ταξινομητή πρέπει να γίνεται ταυτόχρονα. Παρόλα αυτά, υπάρχουν περιπτώσεις όπου οι ταξινομητές, μετά την αρχική τους χρησιμοποίηση, μπορούν να μας βοηθήσουν να συμπεράνουμε για το πόσο ισχυρά ή μη είναι ορισμένα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν [15].

4.9.1 Minimum Distance Classifier

Ο σχεδιασμός του ταξινομητή Ελάχιστης Απόστασης (Minimum Distance Classifier) [18], για την ταξινόμηση ενός συνόλου εικόνων σε μία από δύο κατηγορίες C_1 και C_2 , προϋποθέτει την ύπαρξη ενός αριθμού χαρακτηριστικών $F_{i,j}$ και το σχεδιασμό ή το σύνολο εκπαίδευσης, των οποίων η πραγματική κατάταξη είναι γνωστή. Θεωρείται λοιπόν ότι $F_{i,j}$ είναι το σύνολο των δύο χαρακτηριστικών f_1 και f_2 σε κάθετο διάνυσμα που μετρώνται από την εικόνα, έτσι ώστε το $F_{i,j}$ να είναι το j -οστό χαρακτηριστικό που ανήκει στην κατηγορία C_i , όπου $i=1,2$. Ο ταξινομητής Ελάχιστης Απόστασης φαίνεται στο Σχήμα 5.



Σχήμα 5: Παράδειγμα ενός 2-class minimum distance classifier

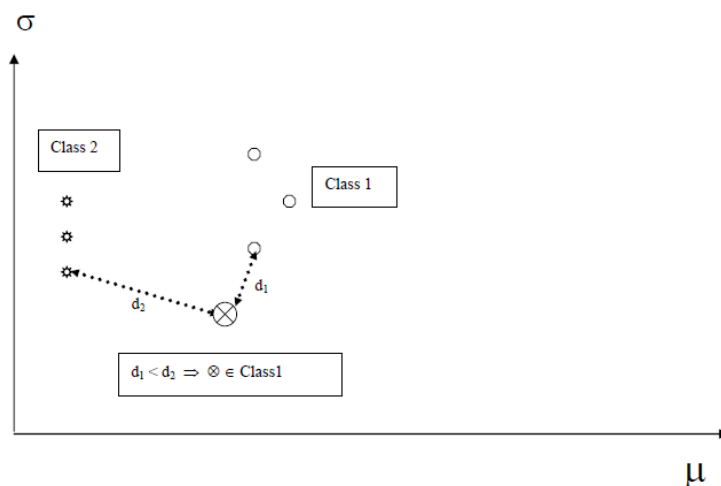
Θεωρούνται επίσης ως M_1 και M_2 τα διανύσματα μέσω των τιμών των προτύπων των δύο κατηγοριών. Ένα λογικό κατώφλι απόφασης που χωρίζει την κατηγορία 1 από την κατηγορία 2 είναι η διχοτόμος της γραμμής M_1M_2 . Ένα νέο πρότυπο αποτελούμενο από χαρακτηριστικά X θα κατατάσσεται σε μία από τις δύο κλάσεις, αν είναι προς τα δεξιά ή τα αριστερά της διχοτόμου στο χώρο των χαρακτηριστικών. Αν συμβεί να πέσει στην διχοτόμο, τότε το X πρότυπο δεν ταξινομείται. Έτσι, η διακριτική συνάρτηση του ταξινομητή αυτού είναι η ακόλουθη:

$$g_i(X) = (\mu_1^i x_1 + \mu_2^i x_2 - \frac{1}{2}([\mu_1^i]^2 + [\mu_2^i]^2))$$

Συνεπώς, όταν η διακριτική συνάρτηση ενός προτύπου $g_i(X) > 0$, τότε το X βρίσκεται στα δεξιά της διαχωριστικής και αποδίδεται στην κλάση 1 και όταν $g_i(X) < 0$, τότε το X ανήκει στην κλάση 2.

4.9.2 k- Nearest Neighbours (kNN)

Στον ταξινομητή kNN [28] ένα σύνολο διανυσμάτων χαρακτηριστικών, των οποίων η κατάταξη είναι γνωστή, αποθηκεύονται στον υπολογιστή και όταν ένα νέο χαρακτηριστικό F_i πρόκειται να ταξινομηθεί, τότε υπολογίζονται οι αποστάσεις μεταξύ F_i και καθενός από τα αποθηκευμένα διανύσματα. Το άγνωστο χαρακτηριστικό ταξινομείται στην κλάση που ανήκουν οι περισσότεροι k πλησιέστεροι γείτονες, χρησιμοποιώντας τον κανόνα της πλειοψηφίας.



Σχήμα 6: Ταξινόμηση αγνώστου προτύπου με kNN

Παραλλαγές Ταξινομητή K-Πλησιέστερων γειτόνων:

- Πλησιέστερος Γείτονας (Single Nearest Neighbor): Το άγνωστο διάνυσμα χαρακτηριστικών ταξινομείται στην κλάση με τον πλησιέστερο γείτονα.
- k-Πλησιέστεροι Γείτονες (k - Nearest Neighbor): Το άγνωστο διάνυσμα χαρακτηριστικών ταξινομείται στην κλάση με τους περισσότερους πλησιέστερους γείτονες, χρησιμοποιώντας τον κανόνα της πλειοψηφίας.
- k+k Πλησιέστεροι Γείτονες (k + k - Nearest Neighbor): Το άγνωστο διάνυσμα χαρακτηριστικών ταξινομείται στην κλάση με τον πλησιέστερο μέσο όρο από τους K - γείτονες από κάθε κλάση.
- K-Πλησιέστεροι Γείτονες με σταθμισμένες ψήφους (k - Nearest Neighbor with weighted votes): Το άγνωστο διάνυσμα χαρακτηριστικών ταξινομείται στην κλάση με το μεγαλύτερο άθροισμα των σταθμισμένων ψήφων, όπου κάθε σταθμισμένη ψήφος είναι μια φθίνουσα συνάρτηση της απόστασης του κάθε σημείου κλάσης από το άγνωστο πρότυπο.

4.9.3 Bayes Classifier

Ο ταξινομητής Bayes [18] ελαχιστοποιεί το ενδεχόμενο σφάλμα ταξινόμησης ενός προτύπου σε λάθος κατηγορία. Η υλοποίηση του Bayesian ταξινομητή βασίζεται στην θεώρηση ότι η κατανομή πυκνότητας πιθανότητας των προτύπων σε μία κατηγορία ακολουθεί την κανονική κατανομή.

Για ένα 2-class πρόβλημα, ο ταξινομητής Bayes περιγράφεται από την παρακάτω διακριτική συνάρτηση:

$$d_i = \mathbf{x}^T \mathbf{C}^{-1} \mathbf{m}_i - \frac{1}{2} \mathbf{m}_i^T \mathbf{C}^{-1} \mathbf{m}_i$$

$$\mathbf{m}_i = \frac{1}{N_i} \sum_{k=1}^{N_i} \mathbf{z}_k$$

Όπου \mathbf{m}_i : είναι το διάνυσμα μέσης τιμής:

\mathbf{z}_k : το διάνυσμα προτύπων εκπαίδευσης

\mathbf{C} : ο πίνακας συνδιασποράς, εάν $\mathbf{C}_1 = \mathbf{C}_2 = \mathbf{C}$ (ή κατά προσέγγιση, η διασπορά μέσης τιμής. $(\mathbf{C}_1 + \mathbf{C}_2)/2$ για τις 2 κλάσεις)

και

$$\mathbf{C}_i = \left(\frac{1}{N_i} \sum \mathbf{z} \mathbf{z}^T \right) - \mathbf{m}_i \mathbf{m}_i^T$$

Το άγνωστο διάνυσμα χαρακτηριστικών \mathbf{x} ταξινομείται στην κλάση i με τη μέγιστη τιμή d_i .

Στην περίπτωση του Quadratic Bayesian, η διακριτική συνάρτηση είναι η ακόλουθη:

$$d_i = \ln(P_i) - \frac{1}{2} \ln |\mathbf{C}_i| - \frac{1}{2} \left((\mathbf{x} - \mathbf{m}_i)^T \mathbf{C}_i^{-1} (\mathbf{x} - \mathbf{m}_i) \right)$$

4.9.4 PNN Classifier

Τα PNNs (Probabilistic Neural Networks) [29] βασίζονται στο Bayesian μοντέλο ταξινόμησης, το οποίο ελαχιστοποιεί την πιθανότητα σφάλματος ταξινόμησης ενός προτύπου σε λάθος κατηγορία. Σε αντίθεση με τον Bayesian ταξινομητή, για την υλοποίηση των πιθανοκρατικών νευρωνικών δικτύων, δεν γίνεται καμία a priori υπόθεση για την κατανομή των προτύπων, καθώς οι συναρτήσεις πυκνότητας πιθανότητας για κάθε κατηγορία υπολογίζονται μέσω μη παραμετρικών μεθόδων. Τα PNNs είναι εμπροσθοτροφοδοτούμενα (feed forward) δίκτυα, δομημένα σε τέσσερα επίπεδα:

α) επίπεδο εισόδου (input layer): σε αυτό το επίπεδο ο αριθμός των κόμβων που χρησιμοποιούνται είναι ίσος με την διάσταση του διανύσματος εισόδου.

β) επίπεδο προτύπων (pattern layer): αυτό το επίπεδο περιέχει τόσους κόμβους, όσα είναι και τα πρότυπα εκπαίδευσης. Σε κάθε κόμβο του επιπέδου αυτού, υπολογίζεται η απόσταση του διανύσματος εισόδου από το αντίστοιχο πρότυπο διάνυσμα

εκπαίδευσης. Η υπολογιζόμενη τιμή 'περνά' από μία εκθετική συνάρτηση ενεργοποίησης (1) και το αποτέλεσμα δίνεται σαν είσοδος στο τρίτο επίπεδο.

$$\exp\left[-\frac{(\mathbf{x}-\mathbf{x}_{ji})^T(\mathbf{x}-\mathbf{x}_{ji})}{2\sigma^2}\right] \quad (1)$$

Όπου x_i το i -οστό πρότυπο εκπαίδευσης της κατηγορίας j και σ παράγοντας που καθορίζει το εύρος ανταπόκρισης κάθε κόμβου.

γ) επίπεδο άθροισης (summation layer): στο επίπεδο αυτό, υπάρχει ένας κόμβος για κάθε κατηγορία ταξινόμησης, στον οποίο αθροίζονται οι έξοδοι από το προηγούμενο επίπεδο.

δ) επίπεδο εξόδου (output layer): Συγκρίνει τα αθροιστικά αποτελέσματα του προηγούμενου επιπέδου και αναδεικνύει την κατηγορία για την οποία η πιθανότητα να ανήκει το προς εξέταση πρότυπο διάνυσμα είναι μεγαλύτερη.

Τα κυριότερα πλεονεκτήματα των PNNs είναι η υπολογιστική τους απλότητα και η γρήγορη και άμεση εκπαίδευσή τους.

Η συνάρτηση διάκρισης για τον PNN είναι η ακόλουθη:

$$g_j(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma^p N_j} \sum_{i=1}^{N_j} w(y_i)$$

Όπου $w(y_i)$ είναι η συνάρτηση:

$$y_i = \frac{1}{\sigma} \sqrt{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}_i\|^2}$$

Κάποιες κατάλληλες συναρτήσεις για το y_i και οι αντίστοιχες discriminant functions είναι οι εξής:

$$w(y) = e^{-\frac{y^2}{2}} \quad \text{που οδηγεί στην} \quad g_j(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma^p N_j} \sum_{i=1}^{N_j} e^{-\frac{\|\mathbf{x}-\mathbf{x}_i\|^2}{2\sigma^2}} \quad \text{(Gaussian)}$$

$$w(y) = e^{-|y|} \quad \text{που οδηγεί στην} \quad g_j(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma^p N_j} \sum_{i=1}^{N_j} e^{-\frac{\|\mathbf{x}-\mathbf{x}_i\|}{\sigma}} \quad \text{(Exponential)}$$

$$w(y) = \frac{1}{1+y^2} \quad \text{που οδηγεί στην} \quad g_j(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma^p N_j} \sum_{i=1}^{N_j} \frac{1}{1+\|\mathbf{x}-\mathbf{x}_i\|^2/\sigma^2} \quad (\text{Reciprocal})$$

Όπου \mathbf{x} : είναι το test pattern vector προς ταξινόμηση

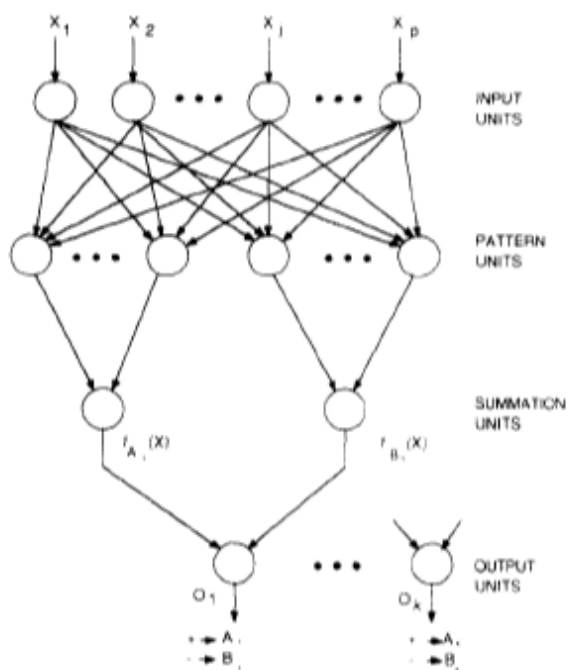
\mathbf{x}_i : το i -οστό training pattern vector

N_j : ο αριθμός των προτύπων στην κλάση j

σ : παράμετρος εξομάλυνσης και

p : ο αριθμός των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιούνται στο feature vector.

Το test pattern ταξινομείται στην κλάση με τη μεγαλύτερη διακριτική συνάρτηση.



Σχήμα 7: Οργάνωση για την ταξινόμηση των προτύπων σε κατηγορίες [30]

5. ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΙ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

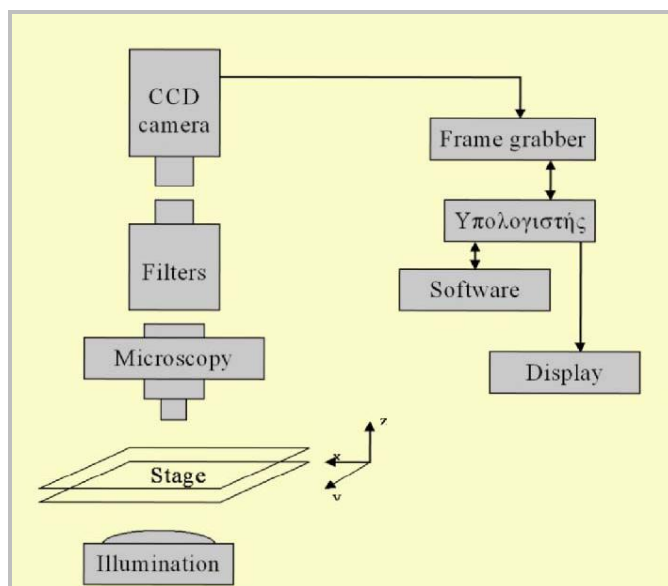
5.1 Προέλευση κυτταρολογικών εικόνων

Το κλινικό υλικό που συλλέχθηκε, αποτελείται από 20 FNA βιοψίες των θυρεοειδών όζων από 20 ασθενείς. Οι FNA βιοψίες συλλέχθηκαν από το Τμήμα Παθολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Πάτρας στην Ελλάδα. Οι ασθενείς είχαν προεπιλεγεί, προκειμένου να διασφαλιστεί ένα επαρκές δείγμα δεδομένων για κακοήθειες και καλοήθειες περιπτώσεις. Οι βιοψίες υπέστησαν χρώση με Η&Ε (Hematoxylin & Eosin) και χαρακτηρίστηκαν ως καλοήθειες (10/20) και κακοήθειες (10/20), σύμφωνα με τα κριτήρια του Π.Ο.Υ. από δύο έμπειρους γιατρούς, έναν κυτταροπαθολόγο και έναν ιστοπαθολόγο.

Από κάθε βιοψία, ο κυτταροπαθολόγος όρισε την πιο αντιπροσωπευτική περιοχή και τη σημείωσε πάνω στη γυάλινη επιφάνεια του μικροσκοπίου. Από την περιοχή αυτή, εικόνες (1300 × 1030 × 8 bit) αποκτήθηκαν, χρησιμοποιώντας ένα μικροσκόπιο Zeiss Axiostar-Plus (ZEISS, Γερμανία) συνδεδεμένο με μια χρωματιστή βιντεοκάμερα Leica DC 300F (LEICA, Γερμανία). Κατά συνέπεια, οι 20 εικόνες που επιλέχθηκαν, αντιστοιχούν στους 20 ασθενείς της μελέτης (μία εικόνα ανά ασθενή) [31].

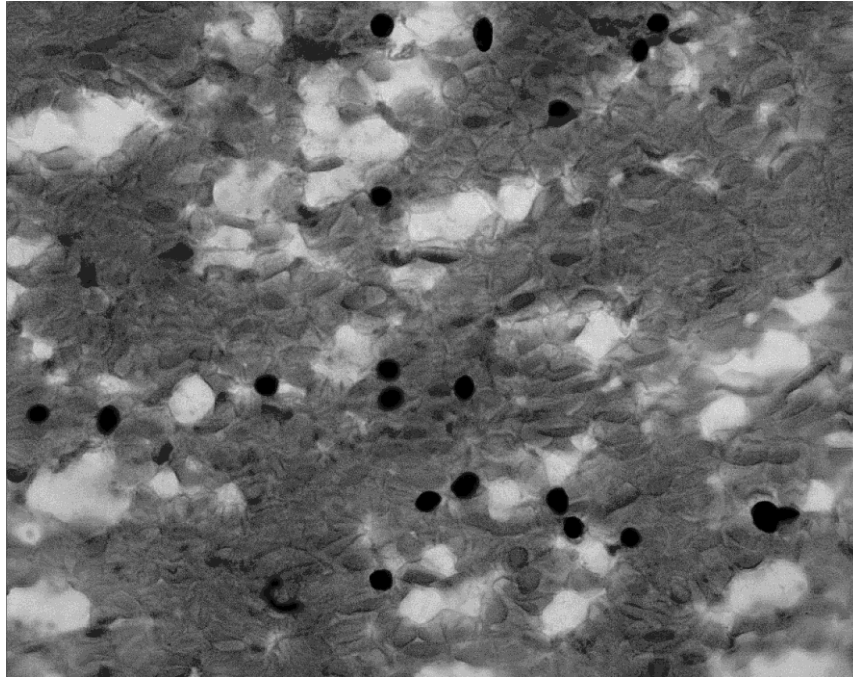
5.2 Διαδικασία λήψης και ψηφιοποίησης κυτταρολογικής εικόνας

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, τα κύτταρα τοποθετήθηκαν σε γυάλινη επιφάνεια (slide) και μετά από προετοιμασία με ειδικές χρώσεις (Η&Ε) εξετάστηκαν στο μικροσκόπιο και κατόπιν μέσω ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής έγινε λήψη φωτογραφίας των υπο εξέταση κυττάρων. Οι εικόνες που ελήφθησαν από το μικροσκόπιο ψηφιοποιήθηκαν με χρήση ενός συστήματος ψηφιακής απεικονιστικής μικροσκοπίας, το οποίο αποτελείται από ένα οπτικό μικροσκόπιο, συνδεδεμένο με μία CCD camera, η έξοδος της οποίας οδηγείται μέσω ενός frame grabber σε έναν υπολογιστή για αποθήκευση και επεξεργασία της εικόνας του μικροσκοπίου [12]. Η πειραματική διάταξη λήψης και ψηφιοποίησης των εικόνων φαίνεται στη παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 11: Πειραματική διάταξη για λήψη και ψηφιοποίηση εικόνων [12]

Μια χαρακτηριστική εικόνα που λήφθηκε με αυτόν τον τρόπο είναι η επόμενη. Στην εικόνα αυτή εφαρμόστηκαν όλες οι μέθοδοι που σχετίζονται με την προ-επεξεργασία και την επεξεργασία της εικόνας.



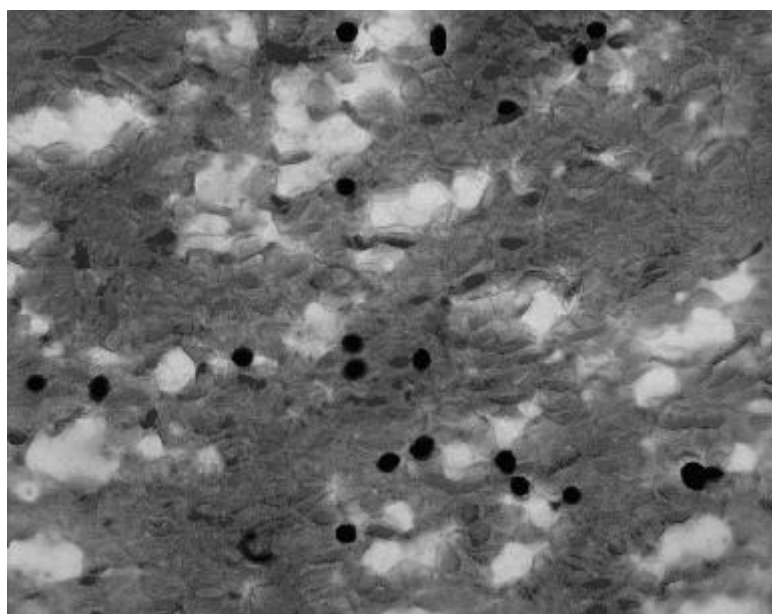
Εικόνα 12: Η αρχική εικόνα προς επεξεργασία

5.3 Προ-επεξεργασία Ιατρικής Εικόνας

Ως προγραμματιστική γλώσσα, στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήσαμε το MATLAB (Έκδοση: R2010b), προκειμένου να προβούμε στην υλοποίηση του προτεινόμενου συστήματος.

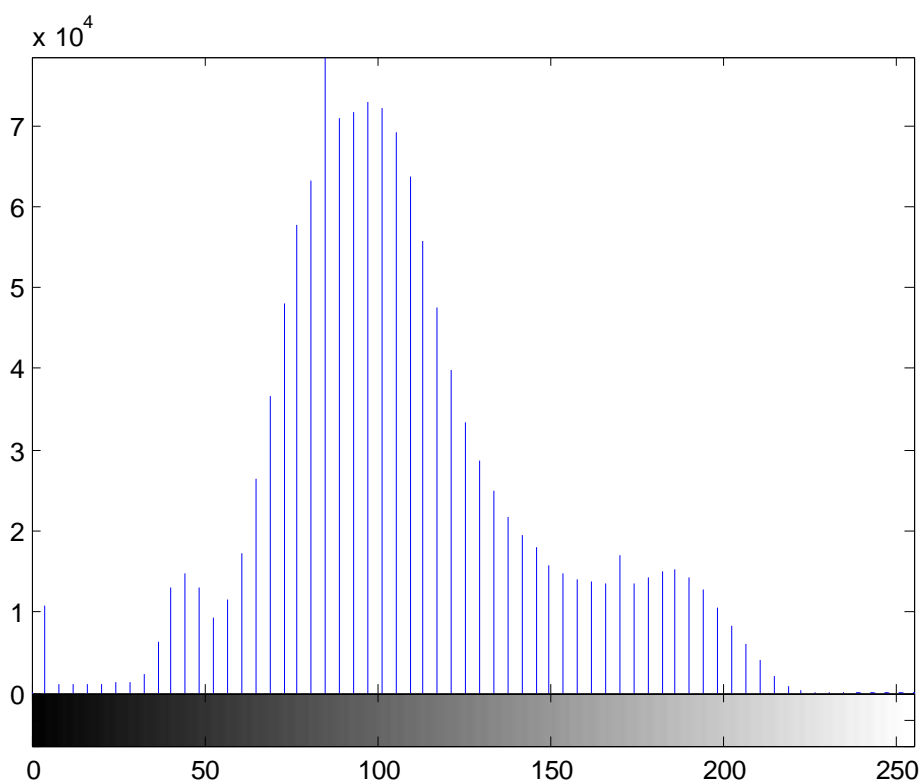
Αρχικά, χρησιμοποιήσαμε την εντολή `imread` για να διαβάσουμε την εικόνα, την εντολή `imshow` για να την εμφανίσουμε, την εντολή `size` προκειμένου να υπολογίσουμε το μέγεθος των διαστάσεων της εικόνας και τέλος την εντολή `imhist`, ώστε να δημιουργήσουμε και να εμφανίσουμε το ιστόγραμμα της εικόνας.

Στο στάδιο της προ-επεξεργασίας της εικόνας, εφαρμόσαμε φίλτρο μεσαίας τιμής με χρήση της εντολής `medfilt2` για να πετύχουμε εξομάλυνση (smoothing) των ακμών και μείωση θορύβου. Το αποτέλεσμα του φιλτραρίσματος φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.

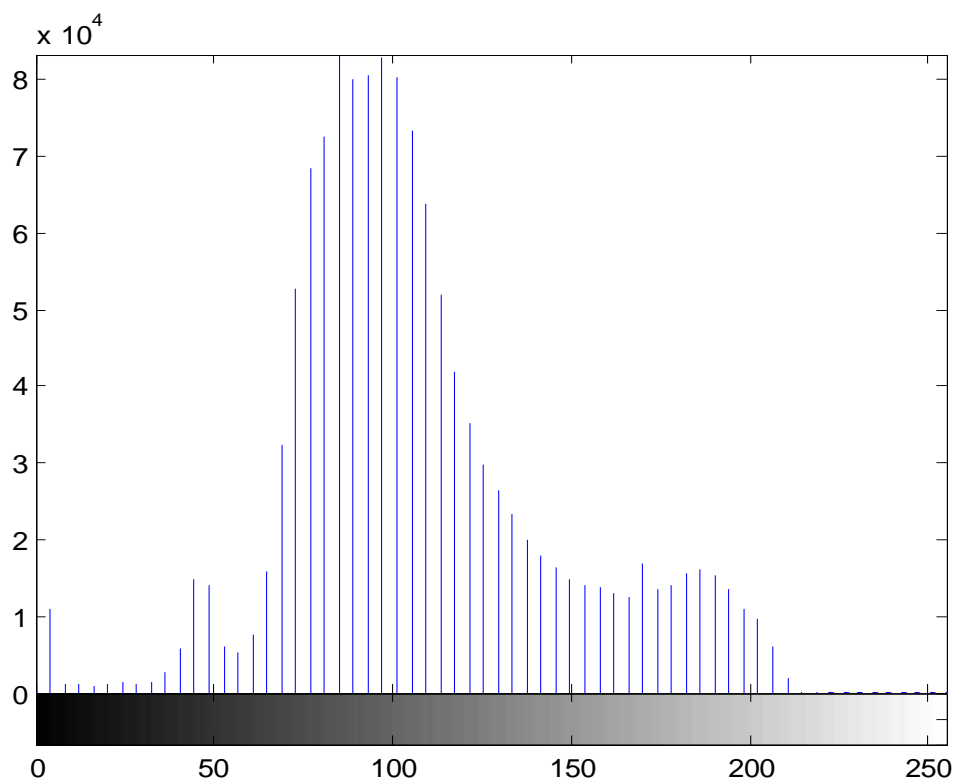


Εικόνα 13: Η φιλτραρισμένη εικόνα

Όπως θα μπορούσε να παρατηρήσει κανείς, η διαφορά από την αρχική εικόνα είναι απειροελάχιστη και αυτό θα μπορούσαμε να το δούμε καλύτερα και από τα αντίστοιχα ιστογράμματα των εικόνων που παρουσιάζονται παρακάτω.

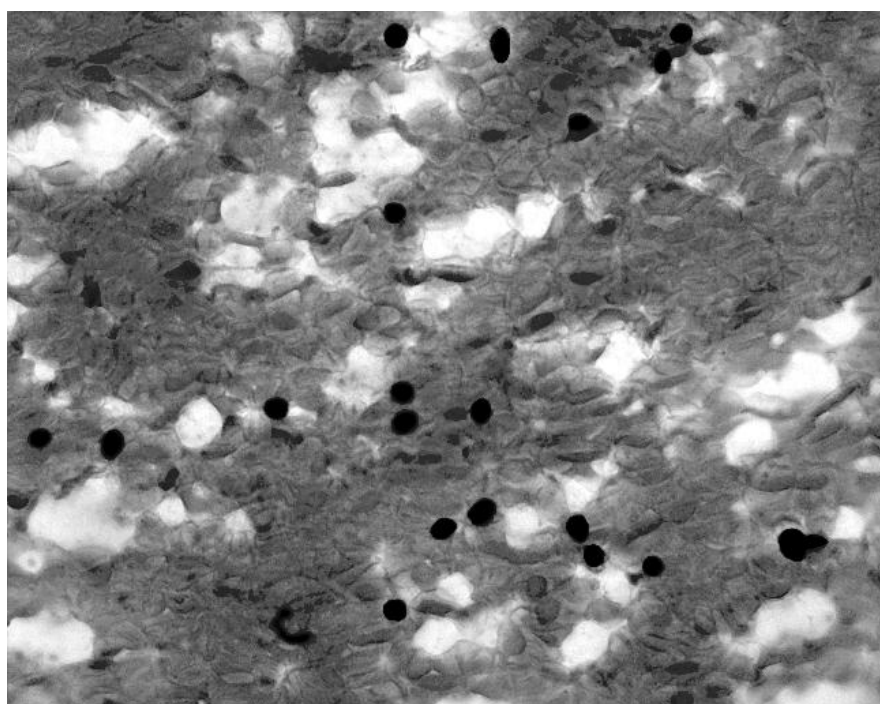


Εικόνα 14: Ιστόγραμμα αρχικής εικόνας

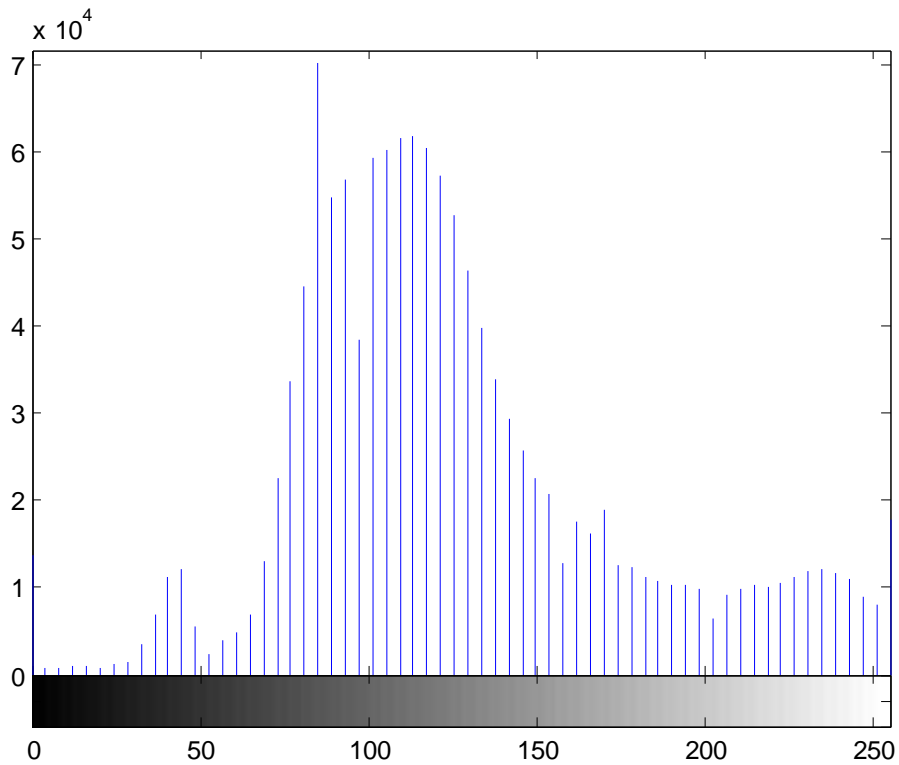


Εικόνα 15: Ιστόγραμμα φιλτραρισμένης

Έπειτα, χρησιμοποιήσαμε την εντολή `imadjust`, προκειμένου να αυξήσουμε την αντίθεση της εικόνας, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα και στο αντίστοιχο της ιστόγραμμα.

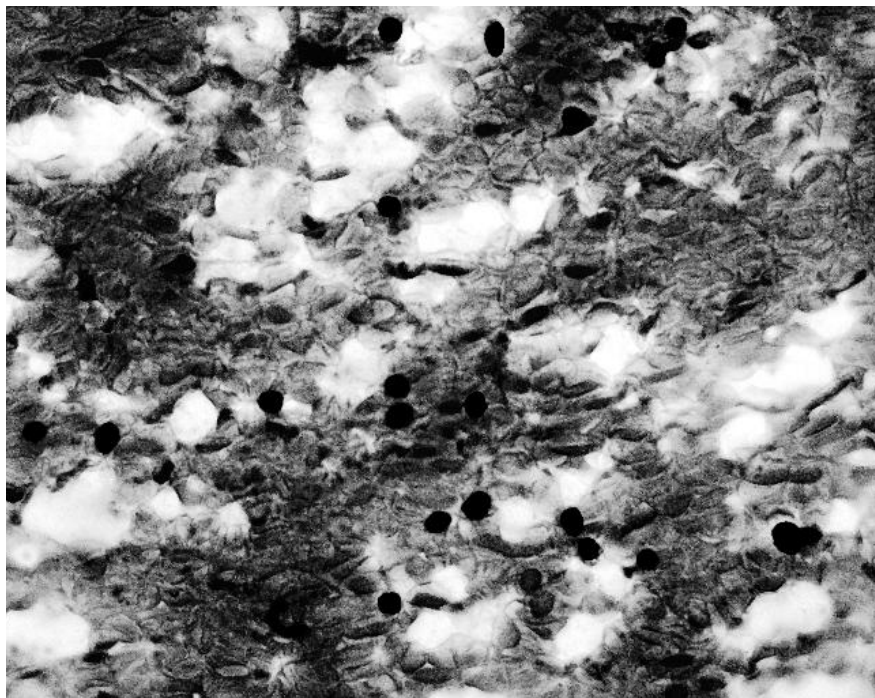


Εικόνα 16: Η εικόνα με αυξημένη αντίθεση χρωμάτων

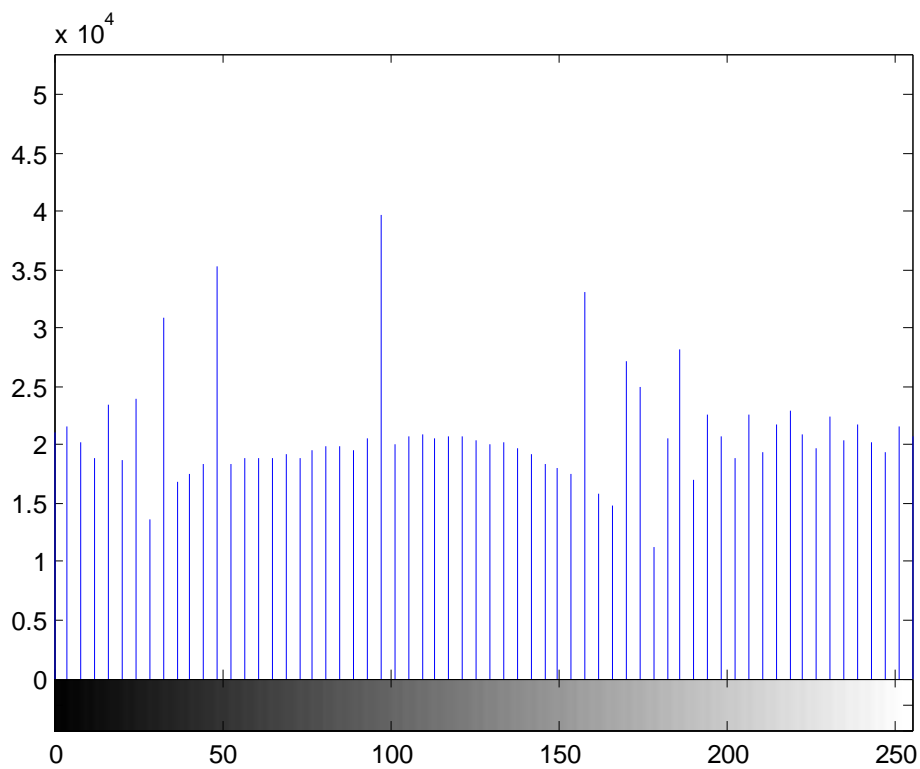


Εικόνα 17: Ιστόγραμμα εικόνας με αυξημένη αντίθεση χρωμάτων

Στη συνέχεια, με την εντολή `histeq` πετύχαμε εξισορρόπηση ιστογράμματος, δηλ. βελτιώσαμε την αντίθεση της εικόνας, μετατρέποντας τις τιμές στην εικόνα εντάσεως, έτσι ώστε το ιστόγραμμα εξόδου της εικόνας να αντιστοιχεί κατά προσέγγιση σε ένα συγκεκριμένο ιστόγραμμα. Παρακάτω, βλέπουμε το αποτέλεσμα αυτό.



Εικόνα 18: Η εικόνα ύστερα από την εξισορρόπηση ιστογράμματος



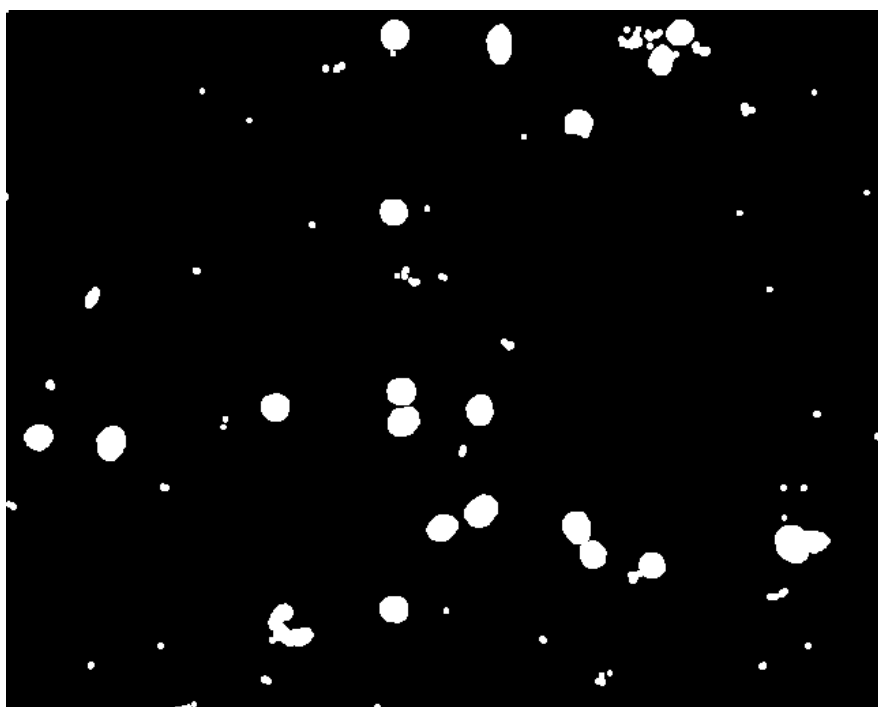
Εικόνα 19: Ιστόγραμμα της εικόνας ύστερα από την εξισορρόπηση ιστογράμματος

Μετά από αυτά, χρησιμοποιήσαμε την εντολή `double` για να μετατρέψουμε την αρχική εικόνα σε πίνακα με πραγματικούς αριθμούς, ώστε να μπορούμε μετά να υλοποιήσουμε τις αριθμητικές πράξεις.

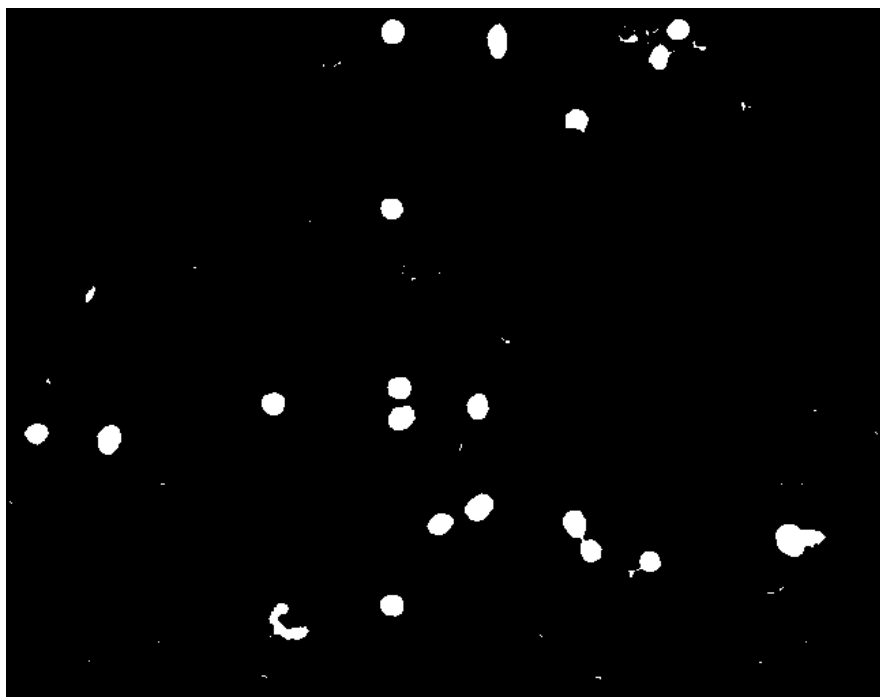
Ύστερα από όλα αυτά και αφού με το φίλτρο μεσαίας τιμής δεν πετύχαμε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, προχωρήσαμε στη χρήση των φίλτρων ανακατασκευής, προκειμένου να πετύχουμε μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης θορύβου και εξομάλυνσης της εσωτερικής υφής των αντικειμένων ενδιαφέροντος, χωρίς όμως να επηρεαστούν τα όριά τους. Αυτό που ουσιαστικά κάνουν τα φίλτρα ανακατασκευής είναι να απομακρύνουν και να συγχωνεύουν επίπεδες ζώνες της εικόνας (δηλαδή ομοιόμορφες περιοχές) [17]. Έτσι, εφαρμόσαμε στην εικόνα μας `erosion` (διάβρωση), `opening` (άνοιγμα) και `closing` (κλείσιμο).

Με την εντολή `imerode` απομακρύναμε μικρούς κύκλους, με την εντολή `imopen` απομακρύναμε φωτεινές περιοχές που ήταν μικρότερες από το δομικό στοιχείο (`structuring element, se`), με αποτέλεσμα να γεμίσουν τα διάκενα στα αντικείμενα της εικόνας και αυτά να γίνονται ομοιόμορφα και με την εντολή `imclose` απομακρύναμε τις σκοτεινές περιοχές που ήταν μικρότερες από το `structuring element`, και έτσι απομακρύναμε το θόρυβο από το φόντο της εικόνας, κάνοντάς το ομοιόμορφο. Ο συνδυασμός των δύο φίλτρων ανακατασκευής (`reconstruction filters`) οδήγησε στην απαλοιφή του θορύβου από την εικόνα, χωρίς να επηρεαστούν τα όρια των περιοχών ενδιαφέροντος [18].

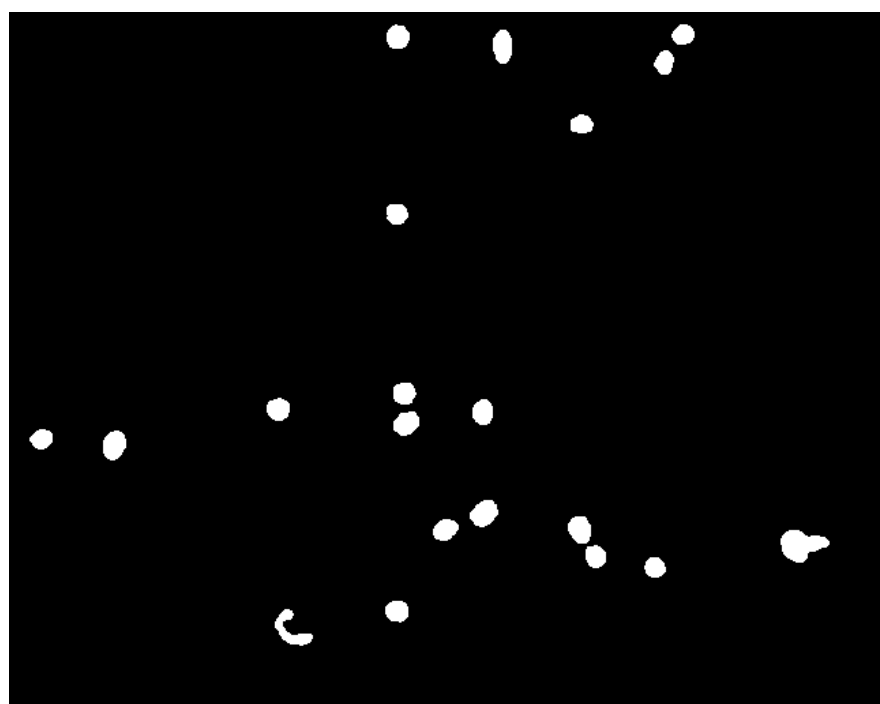
Στις επόμενες τρεις εικόνες παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα από την εφαρμογή του `erosion`, `opening` και `closing`.



Εικόνα 20: Η εικόνα ύστερα από το `erosion`



Εικόνα 21: Η εικόνα ύστερα από το opening



Εικόνα 22: Η εικόνα ύστερα από το closing

Παρατηρούμε ότι η εικόνα που υπέστη opening είναι περισσότερο καθαρή από την εικόνα που υπέστη erosion και λιγότερο από αυτή που υπέστη closing. Εν ολίγοις, ο τελεστής closing φέρει τα καλύτερα αποτελέσματα.

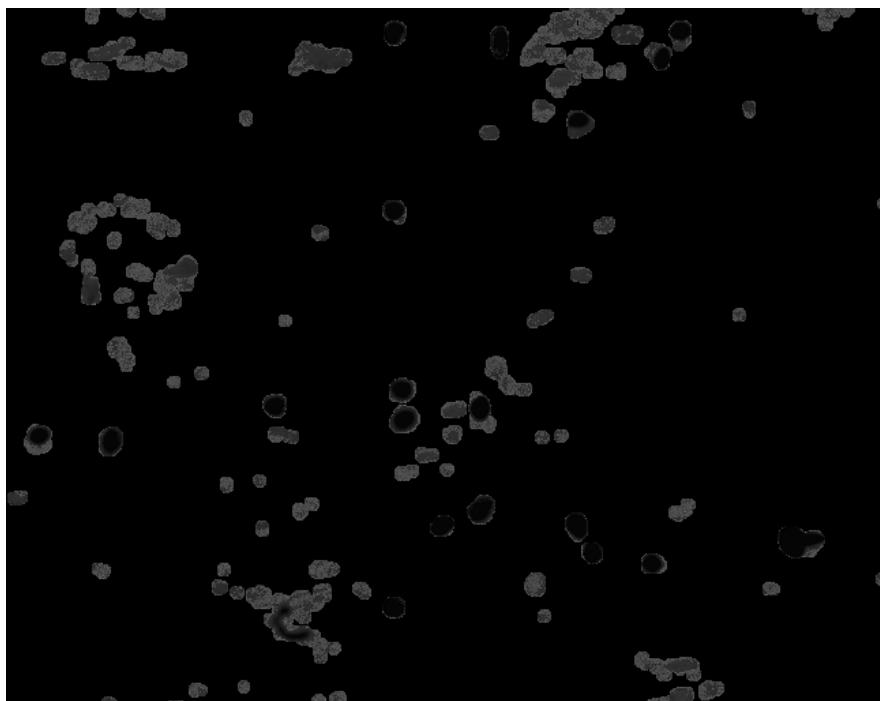
5.4 Κατάτμηση Ιατρικής Εικόνας

Η τμηματοποίηση εικόνας είναι από τα σπουδαιότερα θέματα στην ψηφιακή επεξεργασία ιατρικών εικόνων. Η κατάτμηση εικόνας (image segmentation) είναι η διαδικασία κατά την οποία μία εικόνα χωρίζεται στα αντικείμενα, ή μέρη, από τα οποία αποτελείται και το φόντο της. Παρακάτω, αναφέρονται κάποιες από τις βασικότερες τεχνικές κατάτμησης εικόνας.

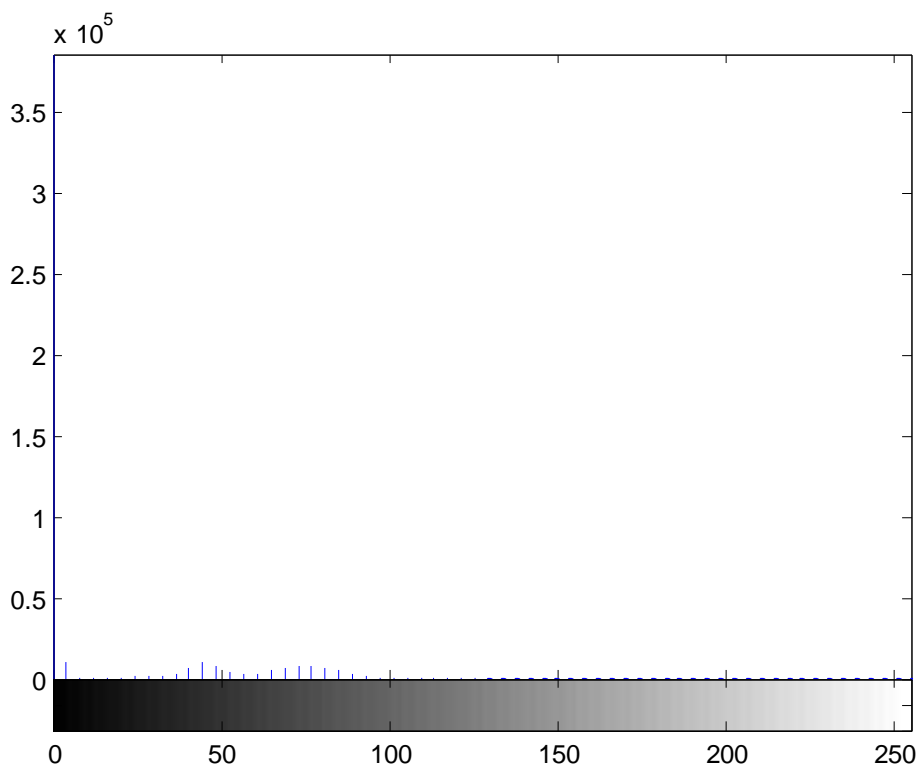
5.4.1 Κατωφλίωση με χρήση καθολικού κατωφλίου

Η εύρεση κατωφλίων (Thresholds), όπως είπαμε και πριν, είναι μια από τις ισχυρότερες τεχνικές για την κατάτμηση εικόνων που απεικονίζονται με αποχρώσεις του γκρι. Η εφαρμογή των τεχνικών κατωφλίου σε μια ψηφιακή εικόνα βασίζεται στη υπόθεση ότι τα εικονοστοιχεία του αντικειμένου (προσκήνιο: foreground) μπορούν να διαχωριστούν από τα εικονοστοιχεία του φόντου (παρασκήνιο: background) με βάση τις τιμές των αποχρώσεών τους [20].

Οι μέθοδοι ενός καθολικού (ή απόλυτου) κατωφλίου πρέπει να εφαρμόζονται σε εικόνες, όπου είναι ξεκάθαρη η διαφορά μεταξύ των αποχρώσεων του προσκήνιου με το παρασκήνιο. Στην περίπτωση αυτή λοιπόν, εξετάζοντας το ιστόγραμμα της εικόνας, αποφασίστηκε η τιμή του κατωφλίου ίση με 70, διότι στο σημείο αυτό γίνεται εμφανής ο διαχωρισμός των δύο περιοχών. Έτσι, οι τιμές της εικόνας που ήταν μεγαλύτερες από αυτή τη τιμή του κατωφλίου τέθηκαν ίσες με 0 και οι υπόλοιπες ίσες με 1. Το τελικό αποτέλεσμα της εφαρμογής κατωφλίωσης με χρήση καθολικού κατωφλίου και το αντίστοιχο ιστόγραμμα της απεικονίζονται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 23: Τελική εικόνα με χρήση καθολικού κατωφλίου



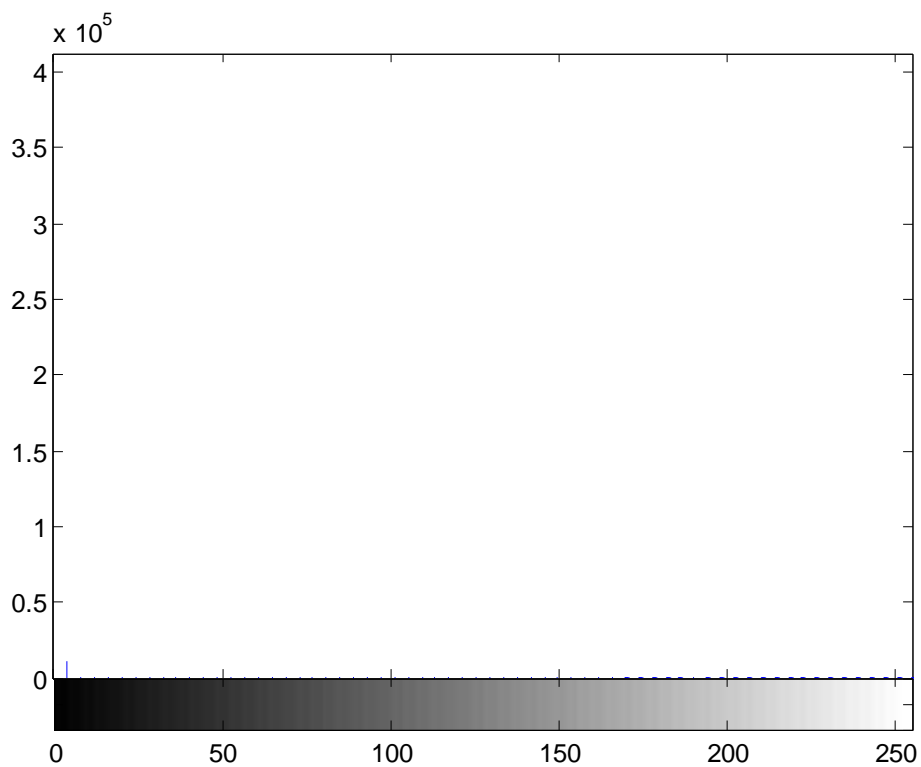
Εικόνα 24: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση καθολικού κατωφλίου

5.4.2 Κατωφλίωση με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου

Στην περίπτωση που η σκηνή δε φωτίζεται ομοιόμορφα και δεν είναι δυνατή η προσπέλαση της πηγής φωτισμού, χρησιμοποιείται πολλές φορές με επιτυχία, η τεχνική της χρήσης προσαρμοζόμενου κατωφλίου (adaptive thresholding). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η τιμή του κατωφλίου, επιλέγεται διαφορετική για κάθε pixel της εικόνας [18]. Στην συγκεκριμένη περίπτωση λοιπόν, πρώτα από όλα συμπληρώσαμε το εξωτερικό περίγραμμα του πίνακα της εικόνας ίσο με μηδέν και στη συνέχεια, προκειμένου να υπολογίσουμε τον τύπο του κατωφλίου για προσαρμοζόμενο κατώφλι, αρχικά υπολογίσαμε τις τιμές των οχτώ γειτόνων, ύστερα τις τιμές των διαφορών αυτών των οχτώ γειτόνων από το pixel της εικόνας και τέλος τα αθροίσματα των διαφορών αυτών. Το τελικό αποτέλεσμα της εφαρμογής κατωφλίωσης με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου και το αντίστοιχο ιστόγραμμα της απεικονίζονται στις παρακάτω εικόνες.



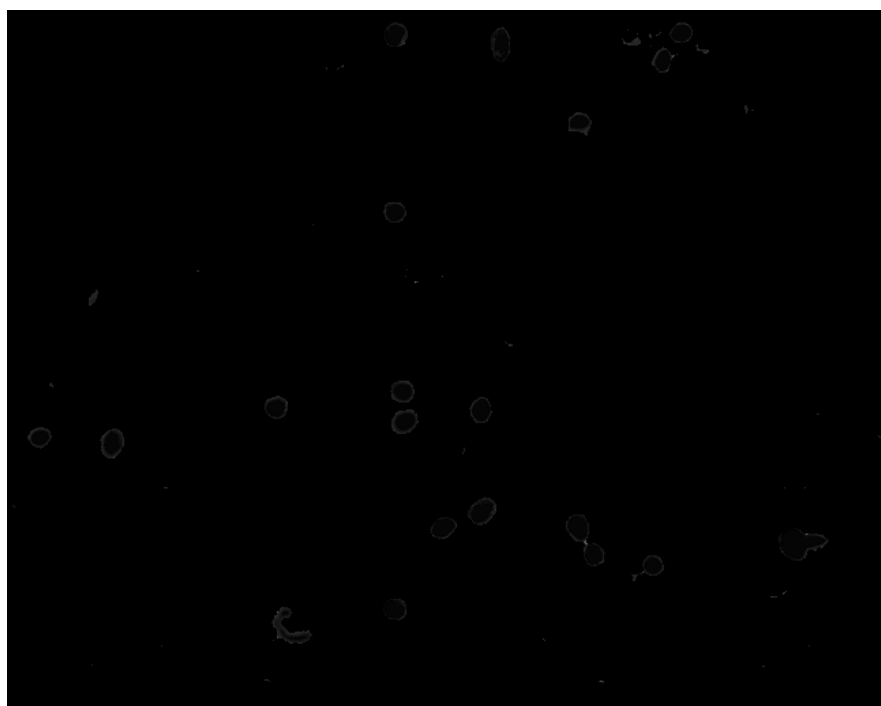
Εικόνα 25: Τελική εικόνα με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου



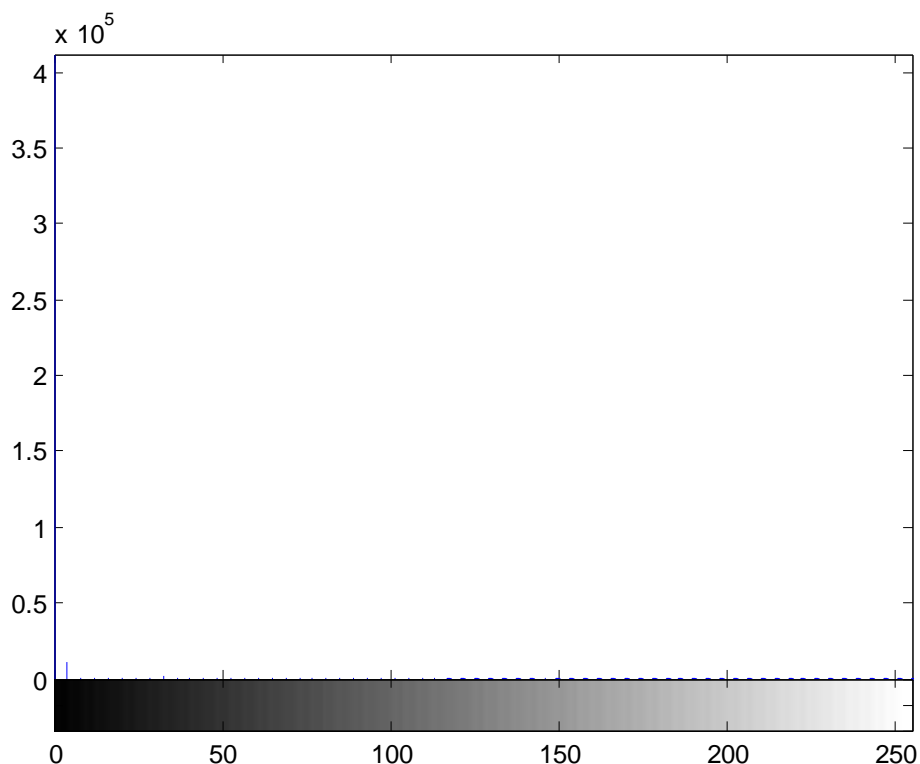
Εικόνα 26: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου

5.4.3 Κατωφλίωση με χρήση της μεθόδου Otsu

Το κριτήριο που χρησιμοποιείται στη μέθοδο του Otsu για τον προσδιορισμό του βέλτιστου κατωφλίου είναι η μεγιστοποίηση της διαχωριστικότητας μεταξύ των σκοτεινών και των φωτεινών περιοχών. Αρχικά, κανονικοποιήσαμε το ιστογράμμα της εικόνας, χρησιμοποιώντας ως μεταβλητές τις πιθανότητες εμφάνισης κάθε φωτεινότητας. Στη συνέχεια, χωρίσαμε τα εικονοστοιχεία της εικόνας σε δύο κλάσεις C0 και C1, ώστε να αντιστοιχούν στο φόντο και στα αντικείμενα. Ο χωρισμός αυτός έγινε θεωρώντας μια αρχική τιμή κατωφλίου T. Έπειτα, ορίσαμε τις πιθανότητες κάποιο εικονοστοιχείο να ανήκει ή όχι σε μια από τις δύο κλάσεις και υπολογίσαμε τις μηδενικού και πρώτου βαθμού αθροιστικές ροπές του ιστογράμματος έως το T επίπεδο, καθώς και το συνολικό μέσο επίπεδο της εικόνας. Ύστερα προέκυψαν οι μεταβλητότητες από τις δευτέρου βαθμού αθροιστικές ροπές και προσδιορίστηκε το βέλτιστο κατώφλι που μεγιστοποίησε τη διαχωριστικότητα μεταξύ των σκοτεινών και φωτεινών περιοχών [21]. Το τελικό αποτέλεσμα της εφαρμογής κατωφλίωσης με χρήση της μεθόδου Otsu και το αντίστοιχο ιστογράμμά της απεικονίζονται στις παρακάτω εικόνες.



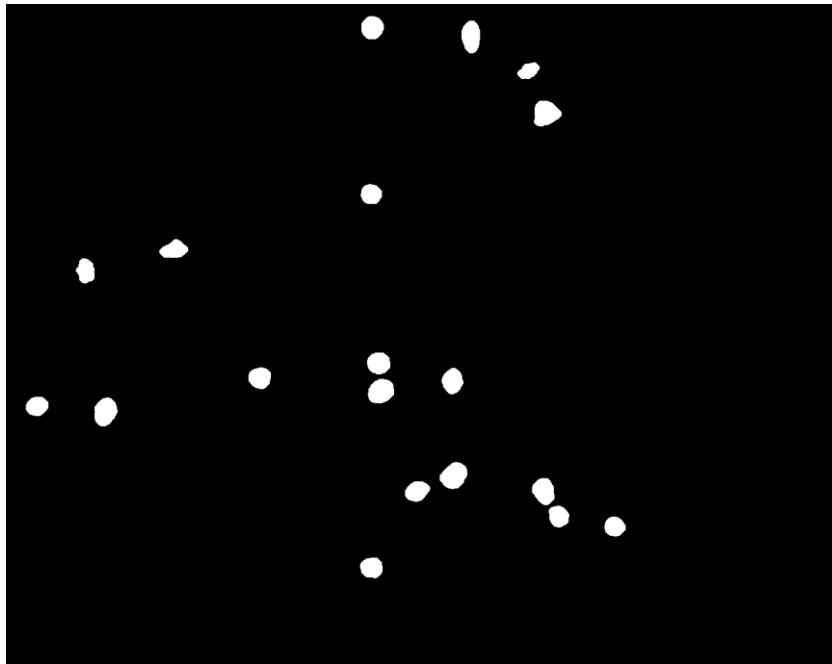
Εικόνα 27: Τελική εικόνα με χρήση της μεθόδου Otsu



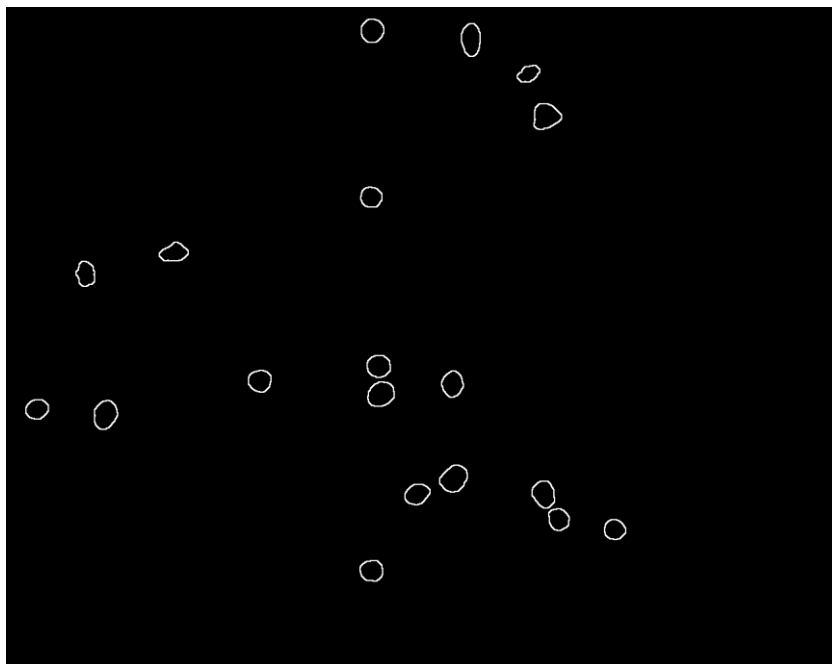
Εικόνα 28: Ιστόγραμμα τελικής εικόνας με χρήση της μεθόδου Otsu

5.4.4 Πακέτο Λογισμικού: Image Processing (ImPro)

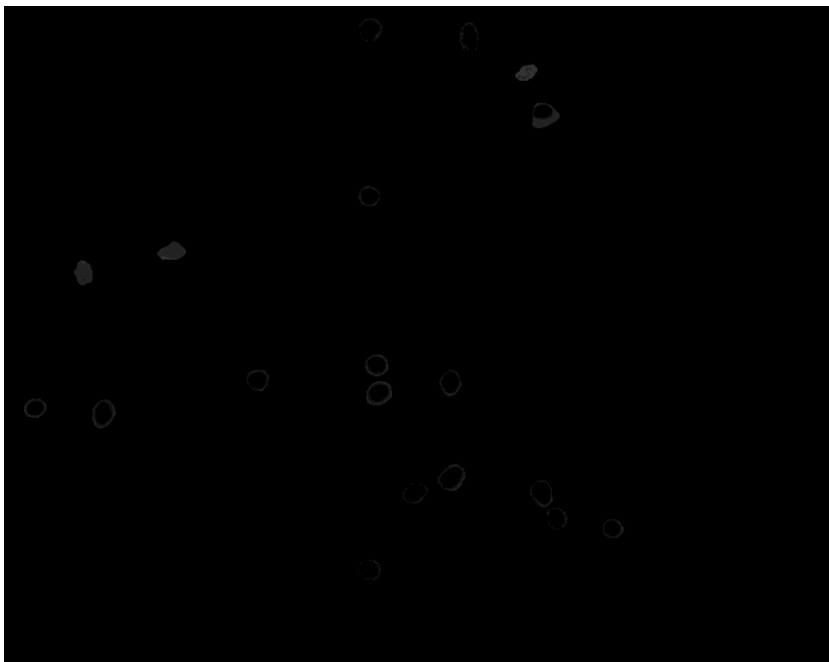
Στο σημείο αυτό, χρησιμοποιήσαμε έναν εναλλακτικό τρόπο επεξεργασίας των εικόνων στο λογισμικό περιβάλλον Impro, ακολουθώντας κάποια συγκεκριμένα βήματα τμηματοποίησης. Αρχικά, ορίστηκε η τιμή του κατωφλίου, εξετάζοντας το ιστόγραμμα της εικόνας, στο σημείο όπου γίνεται εμφανής ο διαχωρισμός των δύο περιοχών (προσκήνιο- παρασκήνιο). Έπειτα, εφαρμόστηκε ως φίλτρο ανακατασκευής, το opening με δομικό στοιχείο κύκλο, μεγέθους 7x7 ή 11x11 και ορίστηκε το εύρος της περιοχής των κυτταρικών πυρήνων, περίπου 500 έως 2000-3000 pixels. Στη συνέχεια, απορρίφθηκαν χειροκίνητα κυτταρικοί πυρήνες αλληλεπικαλυπτόμενοι ή πυρήνες που εμφανίζονταν κατά το ήμισυ στα περιθώρια της εικόνας, δημιουργώντας έτσι τη μάσκα, αποτελούμενη από τιμές 0 στο παρασκήνιο και τιμές 1 στο προσκήνιο. Επίσης, για την ανίχνευση των ακμών των κυτταρικών πυρήνων εφαρμόστηκε κυρίως ο τελεστής κλίσης Sobel και η μάσκα Laplace μεγέθους 7x7. Τέλος, εφαρμόστηκε ο τελεστής AND μεταξύ της αρχικής εικόνας (gray) και της μάσκας (logical: 0,1) και έτσι προέκυψε η τελική εικόνα, αποτελούμενη από τιμές 0 στο παρασκήνιο και τιμές 0-255 (gray-scale) στο προσκήνιο (κυτταρικοί πυρήνες). Παρακάτω, φαίνονται τα αποτελέσματα των εικόνων αυτών.



Εικόνα 29: Η εικόνα με χρήση μάσκας



Εικόνα 30: Η εικόνα με χρήση τελεστή κλίσης Sobel



Εικόνα 31: Τελική εικόνα μέσω Impro

«Ερμηνεία τελικών εικόνων»

Παρατηρώντας τις παραπάνω τελικές εικόνες, μπορούμε εύκολα να διακρίνουμε ότι οι εικόνες που προέκυψαν από την κατωφλίωση με τη χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου και από το λογισμικό περιβάλλον του Impro είναι πανομοιότυπες, ευδιάκριτες, “καθαρές” και φέρουν τα καλύτερα αποτελέσματα, σε αντίθεση με τις εικόνες της κατωφλίωσης με τη χρήση καθολικού κατωφλίου όπου υπάρχει ανομοιομορφία με αποτέλεσμα να μην ξεχωρίζουν οπτικά οι περιοχές ενδιαφέροντος (πυρήνες). Τέλος, πρέπει να τονίσουμε ότι σε ένα αρκετά ικανοποιητικό επίπεδο βρίσκονται και τα αποτελέσματα των εικόνων της μεθόδου Otsu, όπου παρόλο που εφαρμόστηκαν εναλλασσόμενα opening, closing και erosion, εμφανίζονται ως περιοχές ενδιαφέροντος, περιοχές όπου δεν υφίστανται.

5.5 Εξαγωγή χαρακτηριστικών

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφέρουμε ότι οι εικόνες που χρησιμοποιήθηκαν ως είσοδο στο σύστημα για την περαιτέρω διαδικασία είναι αυτές που προέκυψαν από το λογισμικό περιβάλλον του Impro. Στη συνέχεια, από όλους τους πυρήνες της κάθε εικόνας, υπολογίσαμε τα χαρακτηριστικά και δημιουργήσαμε δύο κλάσεις. Η πρώτη περιείχε 217 πρότυπα (κυτταρικούς πυρήνες) με 17 χαρακτηριστικά που αφορούσαν τα καλοήθη (Benign) περιστατικά και η δεύτερη 328 πρότυπα (κυτταρικούς πυρήνες) με 17 χαρακτηριστικά που αφορούσαν τα κακοήθη (Malignant) περιστατικά. Χρησιμοποιήθηκαν χαρακτηριστικά υψηλής πρώτης και δεύτερης τάξης, καθώς και μορφολογικά χαρακτηριστικά.

5.5.1 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Πρώτης Τάξης

Στην μελέτη αυτή, υπολογίστηκαν τέσσερα χαρακτηριστικά υφής στατιστικής πρώτης τάξης από το ιστόγραμμα των περιοχών ενδιαφέροντος και συγκεκριμένα: η Μέση τιμή των επιπέδων του γκρι (*Mean value of gray levels*), η Τυπική Απόκλιση των επιπέδων του γκρι (*Standard Deviation of gray levels*), η Ασυμμετρία (*Skewness*) και η Κύρτωση (*Kurtosis*).

Τα χαρακτηριστικά υφής στατιστικής πρώτης τάξης που υπολογίστηκαν από το ιστόγραμμα των τιμών - επιπέδων του γκρι αποτυπώνονται παρακάτω:

$$1. \text{ Mean value: } \mu = \frac{\sum_i \sum_j g(i, j)}{N}$$

$$2. \text{ Variance: } \sigma^2 = \frac{\sum_i \sum_j (g(i, j) - \mu)^2}{N}$$

$$3. \text{ Skewness: } s = \frac{1}{N} \frac{\sum_i \sum_j (g(i, j) - \mu)^3}{\sigma^3}$$

$$4. \text{ Kurtosis: } k = \frac{1}{N} \frac{\sum_i \sum_j (g(i, j) - \mu)^4}{\sigma^4}$$

όπου N αντιπροσωπεύει τον αριθμό των εικονοστοιχείων (pixels) και $g(i, j)$ εκφράζει την τιμή στην κλίμακα του γκρι του εικονοστοιχείου i [23].

5.5.2 Χαρακτηριστικά υφής: Στατιστική Δεύτερης Τάξης

Στη μελέτη αυτή, τέσσερα GLCMs που αντιστοιχούσαν σε τέσσερις διαφορετικές κατευθύνσεις (directions $\theta=0^\circ, 45^\circ, 90^\circ$ και 135°) και μία απόσταση (distance $d=1$ εικονοστοιχείο – pixel), υπολογίστηκαν για κάθε έναν πυρήνα της κάθε εικόνας. Τέσσερα χαρακτηριστικά προέκυψαν από κάθε GLCM. Ειδικότερα, τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν: Contrast, Correlation, Energy, Homogeneity. Θα πρέπει όμως να αναφέρουμε ορισμένες από τις ιδιότητες που ισχύουν σε κάποια χαρακτηριστικά, όπως: Energy = Angular second moment, Uniformity, Uniformity of Energy, Contrast = Variance, Inertia και Homogeneity = IDM.

Προέκυψαν τέσσερις τιμές για κάθε χαρακτηριστικό, που αντιστοιχούν στους τέσσερις Πίνακες (Matrices). Υπολογίστηκε η μέση τιμή και το εύρος των τεσσάρων αυτών τιμών, απαρτίζοντας ένα σύνολο οκτώ χαρακτηριστικών υφής στατιστικής δεύτερης τάξης (second order textural features).

Τα χαρακτηριστικά υφής στατιστικής δεύτερης τάξης που υπολογίστηκαν αποτυπώνονται παρακάτω: [23]

1. Angular Second Moment (ASM) : Μέτρο ομοιογένειας εικόνας

$$ASM = \sum_i^N \sum_j^N p(i, j)^2$$

2. Contrast: Μέτρο ποσότητας τοπικών διακυμάνσεων

$$CON = \sum_{n=0}^{N-1} n^2 \left(\sum_i^N \sum_j^N p(i, j) \right)_{|i-j|=n}$$

3. Correlation: Μέτρο γραμμικής εξάρτησης στην εικόνα

$$COR = \frac{\sum_i^N \sum_j^N ij p(i, j) - \mu_x \mu_y}{\sigma_x \sigma_y}$$

4. Inverse Difference Moment: Μέτρο που προκαλεί αύξηση για εικόνες χαμηλής αντίθεσης λόγω της εξάρτησης στη διαφορά (i-j)

$$IDM = \sum_{i=0}^{N_x-1} \sum_{j=0}^{N_y-1} \frac{p(i, j)}{1 + (i - j)^2}$$

5.5.3 Μορφολογικά Χαρακτηριστικά

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που υπολογίσαμε με τη βοήθεια της συνάρτησης `regionprops` και του `BoundingBox`, δηλ. του ορθογωνίου που περιβάλλει την περιοχή ενδιαφέροντος, ήταν τα ακόλουθα: `Area`, `Perimeter`, `Eccentricity`, `MajorAxisLength`, `MinorAxisLength` [32].

«Area»: Ο πραγματικός αριθμός των pixels στην περιοχή.

«Perimeter»: Η απόσταση γύρω από το όριο της περιοχής. Η συνάρτηση `regionprops` υπολογίζει την περίμετρο με τον υπολογισμό της απόστασης μεταξύ κάθε ζεύγους παρακείμενων pixels γύρω από τα σύνορα της περιοχής. Εάν η εικόνα περιέχει μη συνεχείς περιοχές, τότε επιστρέφει απρόσμενα αποτελέσματα.

«Eccentricity»: Κλίμακα που καθορίζει την εκκεντρικότητα της έλλειψης. Η εκκεντρότητα είναι ο λόγος της απόστασης μεταξύ της εστίας της έλλειψης και του μεγάλου μήκους άξονά του. Η τιμή είναι μεταξύ 0 και 1. (Μια έλλειψη της οποίας η εκκεντρικότητα είναι 0

είναι στην πραγματικότητα ένας κύκλος, ενώ μια έλλειψη της οποίας η εκκεντρικότητα είναι 1 είναι ένα ευθύγραμμο τμήμα.)

«MajorAxisLength»: Κλίμακα που προσδιορίζει το μήκος (σε εικονοστοιχεία) του κύριου άξονα της έλλειψης που έχει τις ίδιες κανονικοποιημένες δεύτερες κεντρικές στιγμές, όπως την περιοχή.

«MinorAxisLength»: Κλίμακα που προσδιορίζει το μήκος (σε εικονοστοιχεία) του δευτερεύοντα άξονα της έλλειψης που έχει τις ίδιες κανονικοποιημένες δεύτερες κεντρικές στιγμές, όπως την περιοχή.

Πρόεκυψαν λοιπόν πέντε τιμές μορφολογικών χαρακτηριστικών (morphological features).

Συνολικά, δεκαεπτά χαρακτηριστικά υπολογίστηκαν (δώδεκα χαρακτηριστικά υφής πρώτης και δεύτερης τάξης και πέντε μορφολογικά) και αποτέλεσαν την είσοδο στα επόμενα βήματα της μελέτης που θα ακολουθήσουν.

5.6 Επιλογή χαρακτηριστικών

5.6.1 Wilcoxon Rank-Sum Test

Ύστερα από τη διαδικασία της εξαγωγής των παραπάνω χαρακτηριστικών, προκειμένου να ελέγξουμε εάν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά μεταξύ των δύο κατηγοριών, χρησιμοποιήσαμε το Wilcoxon Rank Sum test.

Το Statistics Toolbox διαθέτει την ακόλουθη συνάρτηση για την πραγματοποίηση του Wilcoxon Rank Sum test: **ranksum** και συντάσσεται με τη μορφή αυτή:

$$[p,h] = \text{ranksum}(x,y,'alpha',alpha)$$

Η συνάρτηση ranksum πραγματοποιεί το Wilcoxon rank sum test της μηδενικής υπόθεσης ότι δύο ανεξάρτητα δείγματα x και y προέρχονται από τις ίδιες κατανομές (αμφίπλευρος έλεγχος). Η συνάρτηση επιστρέφει την p -τιμή που αποτελεί την πιθανότητα παρατήρησης του δεδομένου αποτελέσματος, ή ενός περισσότερο ακραίου, κατά τύχη εάν η μηδενική υπόθεση αληθεύει [25].

Τα οχτώ χαρακτηριστικά που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.001$) είναι: η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, η μέση τιμή της αντίθεσης, το εύρος της αντίθεσης, η μέση τιμή της συσχέτισης, το εύρος της συσχέτισης, η μέση τιμή της ενέργειας και η μέση τιμή της ομοιογένειας.

Με αυτά λοιπόν, τα οχτώ χαρακτηριστικά προχωρήσαμε στο στάδιο της επιλογής των χαρακτηριστικών, δοκιμάζοντας διάφορους ταξινομητές, όπως θα δούμε παρακάτω.

5.6.2 Exhaustive Search (Εξαντλητική Αναζήτηση)

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η συνάρτηση που παρήγαγε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς χαρακτηριστικών ανά 1,2,3,...,8 είναι η `nchoosek`. Στη συνέχεια, αρχικοποιήσαμε έναν πίνακα με τα χαρακτηριστικά που έπρεπε να μείνουν εκτός και πραγματοποιήσαμε επαναλήψεις, ώστε να μείνουν εκτός τα χαρακτηριστικά που έπρεπε. Αποθηκεύσαμε την κλάση σε έναν προσωρινό πίνακα `temp`, ώστε να εφαρμοστούν οι αλλαγές και έπειτα πραγματοποιήσαμε αντίστροφη επανάληψη, ώστε να αφαιρεθούν οι στήλες με τα χαρακτηριστικά που δεν χρειάζονταν.

5.6.3 Sequential Backward Selection

Στη μέθοδο αυτή, ξεκινώντας από το σύνολο των χαρακτηριστικών, δηλαδή τα 17 χαρακτηριστικά και με συνάρτηση κόστους την 'ScatterMatrices', πραγματοποιήσαμε 17 συνδυασμούς χαρακτηριστικών ανά ταξινομητή με τη χρήση της μεθόδου LOO.

5.7 Μέθοδοι αξιολόγησης συστήματος

Στη συνέχεια, προκειμένου να αξιολογήσουμε την απόδοση του συστήματος, χρησιμοποιήσαμε τις δύο παρακάτω μεθόδους.

5.7.1 Leave-One-Out Method (LOO)

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, χρησιμοποιείται ένα δείγμα προς ταξινόμηση και τα υπόλοιπα, ως δείγματα εκπαίδευσης. Στη μελέτη μας, κατά τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκαν 4 ταξινομητές, όπου για τον κάθε έναν υπολογίστηκε το ποσοστό ολικής ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας, καθώς και ο συνδυασμός των χαρακτηριστικών που αντιστοιχεί σε κάθε ποσοστό. Συγκεκριμένα, οι 4 ταξινομητές που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής: ο MDC, ο k-NN, ο Bayes με Quadratic κατανομή και ο PNN με τρεις παραλλαγές: Gaussian, Exponential, Reciprocal.

5.7.2 External Cross Validation

Στο σημείο αυτό, χωρίσαμε το σύνολο δεδομένων σε δύο υποσύνολα: στο υποσύνολο εκπαίδευσης (70%) και στο υποσύνολο δοκιμής (30%). Η παραπάνω επιλογή γίνεται τυχαία. Στη συνέχεια, στο υποσύνολο εκπαίδευσης (70%) πραγματοποιήσαμε μείωση χαρακτηριστικών με το στατιστικό τεστ Wilcoxon και στα χαρακτηριστικά που έμειναν, εφαρμόσαμε εξαντλητική αναζήτηση. Έπειτα, με τον καλύτερο συνδυασμό χαρακτηριστικών, προχωρήσαμε στο υποσύνολο δοκιμής (30%), υπολογίζοντας ποσοστά ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε 10 φορές.

5.8 Πίνακες αποτελεσμάτων μεθόδων

5.8.1 Στατιστικώς σημαντικά διαχωρίσιμα χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με το Wilcoxon Ranksum Test, τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κλάσεων είναι τα ακόλουθα 8:

Πίνακας 4: Τα 8 στατιστικώς σημαντικά διαχωρίσιμα χαρακτηριστικά

MeanValue	Μέση τιμή επιπέδων του γκρι. Είναι χαρακτηριστικό 1 ^{ης} τάξης
StandardDeviation	Τυπική απόκλιση επιπέδων του γκρι. Είναι χαρακτηριστικό 1 ^{ης} τάξης
Contrast_mean	Μέση τιμή αντίθεσης. Μέτρο ποσότητας τοπικών διακυμάνσεων
Contrast_range	Εύρος αντίθεσης. Μέτρο ποσότητας τοπικών διακυμάνσεων
Correlation_mean	Μέση τιμή συσχέτισης. Μέτρο γραμμικής εξάρτησης στην εικόνα
Correlation_range	Εύρος συσχέτισης. Μέτρο γραμμικής εξάρτησης στην εικόνα
Energy_mean	Μέση τιμή ενέργειας. Μέτρο ομοιογένειας εικόνας
Homogeneity_mean	Μέση τιμή ομοιογένειας. Μέτρο αύξησης για εικόνες χαμηλής αντίθεσης

Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι τα χαρακτηριστικά προέρχονται από το ιστόγραμμα των επιπέδων του γκρι, τα λεγόμενα χαρακτηριστικά υψής 1^{ης} τάξης (MeanValue, StandardDeviation) και από τον πίνακα συνύπαρξης των επιπέδων του γκρι, τα λεγόμενα χαρακτηριστικά υψής 2^{ης} τάξης (Contrast_mean, Contrast_range, Correlation_mean, Correlation_range, Energy_mean, Homogeneity_mean). Ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο δεν παίζουν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, αφού δεν εμφανίστηκε κανένα από αυτά.

5.8.2 Αποτελέσματα Sequential Backward Selection – Leave-One-Out

Ξεκινώντας από τα 17 χαρακτηριστικά (που αποτελούν το σύνολο των χαρακτηριστικών που θα συνδυαστούν) και τη μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών “Sequential Backward Selection”, δοκιμάσαμε τους 4 ταξινομητές (MDC, k-NN, Quadratic Bayes, PNN) και καταγράψαμε το ποσοστό ολικής ακρίβειας, ευαισθησίας, ειδικότητας, καθώς και τον συνδυασμό των χαρακτηριστικών που αντιστοιχεί στα ποσοστά αυτά ανά ταξινομητή. Για τον k-NN διαπιστώσαμε ότι οι 3 γείτονες δίνουν τα μεγαλύτερα ποσοστά επιτυχίας με το μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών, σε αντίθεση με εκείνα των 5 και 7 γειτόνων. Τα αποτελέσματα αυτά διακρίνονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα Sequential Backward Selection - Leave-One-Out

Classifiers	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Features
MDC	90	84	95	MeanValue, StandardDeviation, Homogeneity_mean, Homogeneity_range
3NN	94	93	96	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range, Homogeneity_mean, Homogeneity_range
Bayes-Quadratic	90	83	95	MeanValue, StandardDeviation, Homogeneity_mean
PNN-Gaussian	88	81	93	StandardDeviation, Homogeneity_mean
PNN-Exponential	88	81	93	StandardDeviation, Homogeneity_mean,
PNN-Reciprocal	88	81	93	StandardDeviation, Homogeneity_mean,

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα, εύκολα κανείς μπορεί να διαπιστώσει ότι η μέγιστη απόδοση του συστήματος, σύμφωνα με τη μέθοδο SBS, προέκυψε από τον k-NN ταξινομητή 3 γειτόνων, καθώς σημείωσε ποσοστό ολικής ακρίβειας 94%, ευαισθησίας 93% και ειδικότητας 96%. Ο συνδυασμός των χαρακτηριστικών που έλαβαν χώρα για να πετύχουν αυτά τα ποσοστά ήταν η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, το εύρος της αντίθεσης, η μέση τιμή της ομοιογένειας και το εύρος της ομοιογένειας. Αμέσως μετά ακολουθεί ο MDC με ποσοστό ολικής ακρίβειας 90%, συνδυάζοντας τα χαρακτηριστικά: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τιμή της ομοιογένειας, εύρος της ομοιογένειας και ο Bayes–Quadratic με ποσοστό ολικής ακρίβειας επίσης 90%, με συνδυασμό χαρακτηριστικών τα: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τιμή της ομοιογένειας και τέλος ο PNN με τις τρεις παραλλαγές, σημειώνοντας ποσοστό ολικής ακρίβειας 88% και συνδυάζοντας ως χαρακτηριστικά: τυπική απόκλιση, μέση τιμή ομοιογένειας. Αξίζει να επισημάνουμε ότι τα κοινά χαρακτηριστικά που συνδυάστηκαν σε όλους τους ταξινομητές και επέφεραν τα παραπάνω αποτελέσματα ήταν το StandardDeviation και το Homogeneity_mean, γεγονός το οποίο δηλώνει την πιο σημαντική επίδραση αυτών των χαρακτηριστικών στην ταξινόμηση κυτταρολογικών εικόνων θυρεοειδούς αδένων.

5.8.3 Αποτελέσματα Exhaustive Search – Leave-One-Out

Χρησιμοποιώντας τα 8 βέλτιστα χαρακτηριστικά του Wilcoxon Ranksum Test και τη μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών “Exhaustive Search”, δοκιμάσαμε τους παραπάνω 4 ταξινομητές και καταγράψαμε το ποσοστό ολικής ακρίβειας, ευαισθησίας, ειδικότητας, καθώς και τον συνδυασμό των χαρακτηριστικών που αντιστοιχεί στα ποσοστά αυτά ανά ταξινομητή. Ομοίως με πριν, για τον k-NN διαπιστώσαμε ότι οι 3 γείτονες δίνουν τα μεγαλύτερα ποσοστά επιτυχίας με το μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών, σε αντίθεση με εκείνα των 5 και 7 γειτόνων. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν διακρίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα Exhaustive Search - Leave-One-Out

Classifiers	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Features
MDC	90	83	96	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range
3NN	95	94	96	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_mean, Contrast_range
Bayes-Quadratic	90	83	97	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range
PNN-Gaussian	88	82	94	StandardDeviation, Correlation_mean, Homogeneity_mean
PNN-Exponential	88	81	94	StandardDeviation, Correlation_mean, Homogeneity_mean
PNN-Reciprocal	88	82	94	StandardDeviation, Correlation_mean, Homogeneity_mean

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα, εύκολα κανείς μπορεί να διαπιστώσει τις ομοιότητες που παρουσιάζουν και οι 4 ταξινομητές στα αντίστοιχα ποσοστά ολικής ακρίβειας με αυτά του Πίνακα 5. Ελάχιστες διαφορές εμφανίζουν τα ποσοστά ευαισθησίας και ειδικότητας των ταξινομητών από αυτά του Πίνακα 5, ενώ αρκετές διαφορές παρουσιάζονται στο συνδυασμό των χαρακτηριστικών. Πιο συγκεκριμένα, η μέγιστη απόδοση του συστήματος, σύμφωνα με τη μέθοδο Exhaustive

Search, προέκυψε και εδώ από τον k-NN ταξινομητή 3 γειτόνων, με ποσοστό ολικής ακρίβειας 95%, ευαισθησίας 94% και ειδικότητας 96%. Ο συνδυασμός των χαρακτηριστικών που έλαβαν χώρα για να πετύχουν αυτά τα ποσοστά ήταν η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, η μέση τιμή και το εύρος της αντίθεσης. Στον MDC και στον Bayes-Quadratic τα χαρακτηριστικά που συνδυάστηκαν ήταν: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, εύρος αντίθεσης, ενώ στον PNN με τις τρεις παραλλαγές ήταν: τυπική απόκλιση, μέση τιμή συσχέτισης, μέση τιμή ομοιογένειας. Αξίζει να επισημάνουμε ότι το κοινό χαρακτηριστικό που συνδυάστηκε σε όλους τους ταξινομητές και επέφερε τα παραπάνω αποτελέσματα ήταν το StandardDeviation, το οποίο αποτελεί ένδειξη θορύβου (όσο μικρότερη η τιμή της, τόσο λιγότερος θόρυβος υπάρχει). Το γεγονός αυτό εξηγεί ότι η προ-επεξεργασία εικόνων στο πρωταρχικό στάδιο ήταν αρκετά αποτελεσματική και γι' αυτό συνετέλεσε σημαντικά στην ταξινόμηση κυτταρολογικών εικόνων θυρεοειδούς αδένα.

5.8.4 Αποτελέσματα Exhaustive Search – External Cross Validation (ECV)

Παρατηρώντας πιο προσεκτικά τους Πίνακες 5 και 6, διαπιστώνεται ότι ο ταξινομητής που σημείωσε το μεγαλύτερο ποσοστό ολικής ακρίβειας με το μικρότερο δυνατό αριθμό χαρακτηριστικών και στις δύο μεθόδους επιλογής χαρακτηριστικών είναι ο kNN 3 γειτόνων. Για το λόγο αυτό, στον ταξινομητή αυτόν εφαρμόστηκε η External Cross Validation μέθοδος, προκειμένου να εκτιμήσουμε τη γενίκευση των προτεινόμενων αλγορίθμων σε άγνωστα δείγματα, με τη χρήση των χαρακτηριστικών που προέκυψαν από το στατιστικό τεστ Wilcoxon στο υποσύνολο εκπαίδευσης (70%), τη χρήση της εξαντλητικής αναζήτησης και της μεθόδου LOO.

Στον Πίνακα 7, απεικονίζονται τα ποσοστά επιτυχούς ταξινόμησης στο υποσύνολο δοκιμής (30%) για τον kNN 3 γειτόνων, ύστερα από 10 επαναλήψεις, χρησιμοποιώντας μόνο τον καλύτερο συνδυασμό χαρακτηριστικών που προέκυψε κατά την εκπαίδευση τους με τη μέθοδο LOO.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα ECV στο υποσύνολο δοκιμής 30%

3NN	Accuracy (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Features
1 ^η	92,6	93,0	92,3	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
2 ^η	93,5	95,3	92,3	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range, Homogeneity_mean
3 ^η	92,6	90,7	93,8	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
4 ^η	96,3	95,3	96,9	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
5 ^η	93,5	90,7	95,4	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range, Homogeneity_mean

6 ^η	97,2	97,7	96,9	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_range, Homogeneity_mean
7 ^η	96,3	93,0	98,5	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
8 ^η	92,6	93,0	92,3	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
9 ^η	91,7	90,7	92,3	MeanValue, StandardDeviation, Contrast_mean, Contrast_range
10 ^η	90,7	90,7	90,8	MeanValue, StandardDeviation, Correlation_mean
Average	93.7 ± 2.2	93 ± 2.5	94.2 ± 2.6	

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα, διαπιστώνεται ότι στο υποσύνολο δοκιμής (30%) το ποσοστό μέσης ολικής ακρίβειας για τον kNN 3 γειτόνων είναι 93.7% με τυπική απόκλιση ± 2.2 , το ποσοστό μέσης ευαισθησίας είναι 93% με τυπική απόκλιση ± 2.5 και το ποσοστό μέσης ειδικότητας είναι 94.2% με τυπική απόκλιση ± 2.6 . Το ποσοστό αυτό, κυρίως επιτεύχθηκε από τα χαρακτηριστικά: μέση τιμή, τυπική απόκλιση (αποτελεί ένδειξη θορύβου: όσο μικρότερη η τιμή της, τόσο λιγότερος θόρυβος υπάρχει, γεγονός που σημαίνει ότι η προ-επεξεργασία εικόνων στο πρωταρχικό στάδιο ήταν αρκετά αποτελεσματική), μέση τιμή συσχέτισης (μετρά την γραμμική εξάρτηση στην εικόνα) και εύρος αντίθεσης (μετρά την ποσότητα τοπικών διακυμάνσεων). Τα ποσοστά αυτά συμβάλουν στην μέγιστη απόδοση του συστήματος υποβοήθησης απόφασης για τη διάγνωση της καλοήθειας ή της κακοήθειας του θυρεοειδούς αδένα.

6. ΣΥΝΟΨΗ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη αλγορίθμων αναγνώρισης προτύπων για το σχεδιασμό συστήματος ταξινόμησης καρκίνου του θυρεοειδούς αδένα (καλοήθεια-κακοήθεια), μέσω της επεξεργασίας και ανάλυσης κυτταρολογικών εικόνων.

Για το σύστημα αυτό χρησιμοποιήθηκαν 10 εικόνες καλοήθειας και 10 εικόνες κακοήθειας θυρεοειδούς αδένα. Πιο συγκεκριμένα, αναπτύχθηκαν αλγόριθμοι προεπεξεργασίας των εικόνων για την εξομάλυνση των ακμών και τη μείωση θορύβου, εφαρμόζοντας φίλτρο μεσαίας τιμής και φίλτρα ανακατασκευής. Εφαρμόστηκε αύξηση της αντίθεσης των εικόνων και εξισορρόπηση του ιστογράμματος. Το επόμενο στάδιο της επεξεργασίας είναι η κατάτμηση, όπου εφαρμόστηκε κατωφλίωση με σταθερό και προσαρμοζόμενο κατώφλι και η μέθοδος Otsu, προκειμένου να διαχωριστούν τα εικονοστοιχεία του αντικειμένου-πυρήνες (προσκήνιο: foreground) από τα εικονοστοιχεία του φόντου (παρασκήνιο: background) με βάση τις τιμές των αποχρώσεων τους [20]. Παράλληλα, οι αλγόριθμοι τμηματοποίησης συγκρίθηκαν με το αντίστοιχο εμπορικό πακέτο (ImPro) και παρατηρήθηκε ότι οι εικόνες αυτού του πακέτου και της κατωφλίωσης με τη χρήση προσαρμοζόμενου κατωφλίου είναι πανομοιότυπες και ευδιάκριτες σε πολύ μεγάλο βαθμό και για αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκαν αυτές οι εικόνες από το ImPro ως είσοδο στο σύστημα για την περαιτέρω διαδικασία. Από τις 10 εικόνες καλοήθειας προέκυψαν 217 τμηματοποιημένοι πυρήνες, ενώ από τις 10 εικόνες κακοήθειας 328 τμηματοποιημένοι πυρήνες.

Το επόμενο στάδιο ήταν η εξαγωγή χαρακτηριστικών υψής πρώτης (4) και δεύτερης τάξης (8) καθώς και των μορφολογικών (5) από τους τμηματοποιημένους πυρήνες. Συνολικά προέκυψαν 17 χαρακτηριστικά και έτσι δημιουργήθηκαν οι 2 κλάσεις προτύπων – χαρακτηριστικών (Class1:217 patterns x 17 features, Class2: 328 patterns x 17 features). Στη συνέχεια εφαρμόστηκε το Wilcoxon Rank Sum Test και προέκυψαν 8 χαρακτηριστικά με στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Το επόμενο στάδιο της μελέτης ήταν η επιλογή χαρακτηριστικών, εφαρμόζοντας εξαντλητική αναζήτηση (συνδυασμοί 8 χαρακτηριστικών) και Sequential Backward Selection σε 4 ταξινομητές σύμφωνα με τη μέθοδο LOO. Στην πρώτη περίπτωση (ES), διαπιστώθηκε ότι η μέγιστη απόδοση του συστήματος προέκυψε από τον k-NN ταξινομητή 3 γειτόνων, καθώς σημείωσε ποσοστό ολικής ακρίβειας 95%, ευαισθησίας 94% και ειδικότητας 96%, συνδυάζοντας ως χαρακτηριστικά: τη μέση τιμή, την τυπική απόκλιση, τη μέση τιμή αντίθεσης και το εύρος αντίθεσης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη δεύτερη περίπτωση (SBS), καθώς η μέγιστη απόδοση του συστήματος προέκυψε επίσης από τον k-NN ταξινομητή 3 γειτόνων, σημειώνοντας ως ποσοστό ολικής ακρίβειας 94%, ευαισθησίας 93% και ειδικότητας 96% και συνδυάζοντας ως χαρακτηριστικά τα: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, εύρος αντίθεσης, μέση τιμή ομοιογένειας και εύρος ομοιογένειας.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, διαπιστώθηκε ότι αφού ο ταξινομητής που σημείωσε το μεγαλύτερο ποσοστό ολικής ακρίβειας με το μικρότερο δυνατό αριθμό χαρακτηριστικών και στις δύο μεθόδους επιλογής χαρακτηριστικών ήταν ο kNN 3 γειτόνων, για το λόγο αυτό, στον ταξινομητή αυτόν εφαρμόστηκε η External Cross Validation μέθοδος, χωρίζοντας το σύνολο δεδομένων σε δύο υποσύνολα: στο υποσύνολο εκπαίδευσης (70%) και στο υποσύνολο δοκιμής (30%), προκειμένου να εκτιμηθεί η αξιολόγηση του συστήματος σε δείγματα που δεν έχουν λάβει μέρος στο σχεδιασμό του. Έτσι, ύστερα από 10 επαναλήψεις, στο υποσύνολο δοκιμής (30%), χρησιμοποιώντας μόνο τον καλύτερο συνδυασμό χαρακτηριστικών που προέκυψε κατά την εκπαίδευση τους με τη μέθοδο LOO, το ποσοστό μέσης ολικής ακρίβειας για τον

Σύστημα αυτόματης διάγνωσης καρκίνου θυρεοειδούς αδένος από κυτταρολογικές εικόνες

kNN 3 γειτόνων ήταν $93.7 \pm 2.2\%$, το ποσοστό μέσης ευαισθησίας ήταν $93 \pm 2.5\%$ και το ποσοστό μέσης ειδικότητας ήταν $94.2 \pm 2.6\%$.

Συμπεράσματα – Μελλοντική Εργασία

Στη συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκαν 20 εικόνες μικροσκοπίας από δείγματα θυρεοειδούς αδένων, από τις οποίες προέκυψαν 217 τμηματοποιημένοι πυρήνες από τις εικόνες που προέρχονταν από τα καλοήγη δείγματα και 328 τμηματοποιημένοι πυρήνες από τις εικόνες που προέρχονταν από τα δείγματα με διάγνωση κακοήθειας. Σε μελλοντική εργασία θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν περισσότερα περιστατικά, ώστε να καθίσταται εφικτή η κατηγοριοποίηση των περιστατικών στις κατηγορίες της νόσου, σε αντίθεση με την κατηγοριοποίηση των κυτταρικών πυρήνων. Πέρα από τα χαρακτηριστικά υφής πρώτης και δεύτερης τάξης, καθώς και τα μορφολογικά που εξάχθηκαν στην παρούσα εργασία, μελλοντικά θα μπορούσε να εξαχθούν και άλλα, όπως τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά (geometrical features) και τα χαρακτηριστικά από μετασχηματισμό (transform features). Επίσης, ως μέθοδοι επιλογής χαρακτηριστικών, πέρα από την Exhaustive Search, την Sequential Backward Selection και το Wilcoxon Rank-Sum Test που εφαρμόστηκαν εδώ, μπορούν στο μέλλον να χρησιμοποιηθούν η Principal Component Analysis (PCA) μέθοδος, η Sequential Forward Selection (SFS) και άλλες. Τέλος, εκτός από τον MDC, τον kNN, τον Quadratic Bayes και τον PNN μπορούν να υλοποιηθούν και άλλοι ταξινομητές, καθώς και γενετικοί αλγόριθμοι που πιθανό να συμβάλλουν στην αύξηση της απόδοσης του συστήματος σε σχέση με του προτεινόμενου συστήματος $93.7 \pm 2.2\%$. Γενικότερα, θα μπορούσε να σχεδιαστεί ένα σύστημα αναγνώρισης προτύπων, ώστε να ταξινομεί τα δείγματα σε 3 κατηγορίες βαθμού κακοήθειας: Grade I (χαμηλής), Grade II (μεσαίας) και Grade III (υψηλής), χρησιμοποιώντας πληροφορία σχετική με την υφή, το σχήμα, το μέγεθος και οποιοδήποτε άλλο χαρακτηριστικό των πυρήνων.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Interphase	Μεσόφαση
Mitosis	Μίτωση
Cytokinesis	Κυτταροκίνηση
Cell Cycle	Κυτταρικός Κύκλος
Reconstruction	Ανακατασκευή
Feature vector	Διάνυσμα χαρακτηριστικών
Connected Operators	Συνδεδεμένοι τελεστές
Opening Operator	Τελεστής Διάνοιξης
Closing Operator	Τελεστής Πλήρωσης
Erosion Operator	Τελεστής Διάβρωσης
Structure element	Δομικό στοιχείο
Region growing	Περιοχή ανάπτυξης
Pattern layer	Επίπεδο προτύπων
Summation layer	Επίπεδο άθροισης
Mean value of gray levels	Μέση τιμή επιπέδων του γκρι
Standard deviation of gray levels	Τυπική απόκλιση επιπέδων του γκρι
Significance level	Επίπεδο σημαντικότητας

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

DNA	Deoxyribonucleic acid
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
TRH	Thyrotrophin Releasing Hormone
TBG	Thyroxin Binding Globulin
MEN	Multiple Endocrine Neoplasia
WHO	World Health Organisation
RGB	Red Green Blue
SBS	Sequential Backward Selection
LOO	Leave One Out
k-NN	k-Nearest Neighbor
MDC	Minimum Distance Classifier
PNN	Probabilistic Neural Networks
CCD	Charge-Coupled-Device
IDM	Inverse Different Moment
ROI	Region of Interest
ImPro	Image Processing
ASM	Angular Second Moment
PCA	Principal Component Analysis

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] B. Alberts, D. Bray, K. Hopkin, K. Johnson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts and P. Walter, Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 2010-11.
- [2] http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer_cell . [Προσπελάστηκε 12/10/2012]
- [3] P. Nurse, Cell Cycle Control, British Society for Cell Biology, *Phil. Trans Roy. Soc. Lond. B* 341: 449-454, 2002.
- [4] Welcome Trust Sanger Institute Communication and Public Engagement team, <http://www.scienceinschool.org> . [Προσπελάστηκε 13/10/2012]
- [5] M. V. Sprindzuk, Angiogenesis in thyroid malignant neoplasm: State of the art and advances of the modern digital pathology and nanotechnology, *Journal of Clinical Pathology and Forensic Medicine*, vol. 1(3), 16-34, November 2010
- [6] <http://www.eurocytology.eu/static/eurocytology/gre/Thyroid/LP2ContentBcont.html>, [Προσπελάστηκε 13/10/2012]
- [7] A. M. Schreiner, M.D. and G. C. H. Yang, M.D., Adenomatoid Nodules are the Main Cause for Discrepant Histology in 234 Thyroid Fine-Needle Aspirates Reported as Follicular Neoplasm, *Wiley Periodicals, Inc.*, 14 June 2010
- [8] Γ. Ράμμος, Ανατομία και Φυσιολογία, Τμήμα Πληροφορικής με εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Στερεάς Ελλάδας, 2006.
- [9] J. L. Seningen, M.D., A. Nassar, M.D. and M. R. Henry, M.D., Correlation of Thyroid Nodule Fine-Needle Aspiration Cytology With Corresponding Histology at Mayo Clinic, 2001–2007: An Institutional Experience of 1,945 Cases, *Wiley Periodicals, Inc.*, 3 September 2010.
- [10] M. Krishnan, V. Venkatraghavan, U. Acharya, P. Mousumi, P. Ranjan Rashmi, L. Choo Min, A. Kumar Ray, J. Chatterjee and C. Chakraborty, Automated oral cancer identification using histopathological images: A hybrid feature extraction paradigm, *Micron* 43, 352–364, 29 September 2011.
- [11] C. Hedinger, E.D. Williams and L.H. Sobin, Histological typing of thyroid tumours, 2th edition, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 1988.
- [12] Σ. Κόλλιας, Επεξεργασία, Ανάλυση και Τεχνολογία Εικόνων-Βίντεο, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα, 2001
- [13] M. Abramowitz, Microscope-Basics and Beyond, *Microscopical Society for Olympus America Inc.*, Vol. 1, New York, 2003.
- [14] Electronic Microscopy, University of Crete, 2003.
- [15] N. Παπαμάρκος, Ψηφιακή Επεξεργασία και Ανάλυση Εικόνας, ΔΠΘ, *Εκδοτική Β.Γκιούρδας*, 2005.
- [16] <http://www.molecularimagingcenter.org/index.cfm?PageID=6362> [Προσπελάστηκε 23/10/2012]
- [17] Π. Μαραγκός: Οραση Υπολογιστών, ΕΜΠ, Ιούνιος 2005.
- [18] R.C. Gonzalez and R.E. Woods. Digital Image Processing, 3rd Edition, *Prentice Hall, Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, New Jersey*, 2002.
- [19] R. Haralick and L. Shapiro, Computer and Robot Vision, *Addison-Wesley*, 1993
- [20] J. Kittler and J. Illingworth, Minimum error thresholding, *Pattern Recognition* vol.19, pp.41-47, 1986.
- [21] L. Ping-Sung, C. Tse-Sheng and P. Choo-Chung, A fast algorithm for multilevel thresholding, *Journal of Information Science and Engineering* 17, 713-727, 2001
- [22] J.K. Hawkins, Textural Properties for Pattern Recognition, in Picture Processing and Psychopictories, B. C. Lipkin and A. Rosenfeld, Eds. *Academic Press*, New York, 1970
- [23] R.M. Haralick, K. Shanmugam and I. Dinstein. Textural features for image classification, *IEEE Transactions on System, Man and Cybernetics*, vol. SMC-3, no. 6, pp. 610-621, November 1973.
- [24] D. Cavouras, "Fundamentals of Medical Image Analysis Systems Design", Lectures Notes, 2007.
- [25] D. Linardatos, "Lectures Biostatistics", October 2012
- [26] S. Theodoridis and K. Koutroumbas. Pattern Recognition. 2nd edition. San Diego: *Elsevier Academic Press*, 2003
- [27] Ricardo Gutierrez Osuna, Pattern Analysis, CSCE 66, 1999
- [28] K. Fukunaga, Introduction to Statistical Pattern Recognition. *Academic Press, Inc.*, Orlando, FL, 1972
- [29] D. F. Specht, Probabilistic Neural Networks, Lockheed Missiles & Space Company, Inc, *Neural Networks*, vol. 3, pp. 109-118, 1990
- [30] D.F. Specht, "Probabilistic Neural Networks for Classification, Mapping or Associative Memory" Proceedings, *IEEE International Conference on Neural Networks*, vol. 1, p. 528, 1988.
- [31] A. Daskalakis, S. Kostopoulos, P. Spyridonos, D. Glotsos, P. Ravazoula, M. Kardari, I. Kalatzis, D. Cavouras, and G. Nikiforidis, Design of a multi classifier system for discriminating benign from malignant thyroid nodules using routinely H&E stained cytological images", *Computers in Biology and Medicine*, Vol. 38, pp. 196-203, 2008.
- [32] W. L. Martinez and A. R. Martinez, Computational Statistics Handbook with Matlab, *Chapman & Hall/CRC*, 2002.