

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΕΣ  
ΕΙΚΟΝΕΣ

Η  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Υποβάλλεται στην

ορισθείσα από την Γενική Συνέλευση Ειδικής Σύθεσης  
του Τμήματος Πληροφορικής  
Εξεταστική Επιτροπή

από την

Ελένη Λουκά

ως μέρος των Υποχρεώσεων

για τη λήψη

του

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ  
ΜΕ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΙΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ-ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Νοέμβριος 2013



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

---

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Χριστόφορο Νίκου για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε κατά την εκπόνηση της εργασίας αυτής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τη διδάκτορα Μαρίνα Πλησίτη για την πολύτιμη βοήθεια της. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου της οποίας έχω την αδιάκοπη και ουσιώδη στήριξη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

---

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	Σελ iii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	iiiv
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	vi
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	vii
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΑΛΓΟΡΙΘΜΩΝ	x
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	xi
EXTENDED ABSTRACT IN ENGLISH	xiv
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Εισαγωγή στο θέμα της διατριβής	1
1.2. Αντικείμενο της διατριβής	3
1.3. Δομή της διατριβής	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ	5
2.1. Κατηγορίες μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων	5
2.1.1. Κατάτμηση με χρήση του αλγορίθμου υδροκριτών	6
2.1.2. Μέθοδοι ομαδοποίησης	7
2.1.3. Μέθοδοι μορφολογικής ανακατασκευής	7
2.1.4. Μέθοδοι που χρησιμοποιούν πληροφορία καμπυλότητας	8
2.1.5. Μέθοδοι προσαρμογής ενεργού φυσικού μοντέλου	9
2.2. Κατάτμηση συστάδας πυρήνων χρησιμοποιώντας μετασχηματισμό H-minima και αλγόριθμο υδροκριτών	10
2.2.1. Εφαρμογή του μετασχηματισμού H-minima στην αντίστροφη εικόνα απόστασης και κατάτμηση με υδροκρίτες	11
2.2.2. Ταίριασμα ελλείψεων και χρήση της συνάρτησης εκτίμησης σφάλματος	13

2.3. Κατάτμηση επικαλυπτόμενων πυρήνων με μοντέλα μικτών κανονικών κατανομών	17
2.3.1. Εξαγωγή της εικόνας απόστασης και εφαρμογή του H-maxima μετασχηματισμού	17
2.3.2. Μικτή κανονική κατανομή και ο αλγόριθμος EM	18
2.3.3. Ανακατασκευή περιγράμματος πυρήνων	23
2.4. Διαχωρισμός πυρήνων χρησιμοποιώντας πληροφορία περιγράμματος και σημεία καμπής	23
2.4.1. Προεπεξεργασία περιγράμματος και ανίχνευση των σημείων καμπής	24
2.4.2. Επεξεργασία των ελλείψεων	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ ΚΑΘΟΔΗΓΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥΣ ΣΗΜΕΙΩΝ ΚΑΜΠΗΣ	29
3.1. Εντοπισμός των ισχυρών σημείων καμπής κατά μήκος του συνολικού ορίου της συστάδας των πυρήνων	30
3.2. Προσδιορισμός των επικαλυπτόμενων πυρήνων	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	35
4.1. Σύγκριση μεθόδων και αποτελέσματα	35
4.2. Προτεινόμενη μέθοδος και αποτελέσματα	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΟΡΙΟΘΕΤΗΣΗ ΣΥΣΤΑΔΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ	43
5.1. Παρουσίαση της μεθόδου	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	55
6.1. Συμπεράσματα	55
6.2. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα	57
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	59
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ	63
ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ	64

## **ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ**

---

Πίνακας	Σελ
Πίνακας 4.1 Συγκριτικά αποτελέσματα ως προς την ακρίβεια και το χρόνο επεξεργασίας (μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση).	38
Πίνακας 5.1 Χαρακτηριστικά	49

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

---

Σχήμα	Σελ
Σχήμα 2.1 Εξαγωγή αντίστροφης εικόνας απόστασης και τοπικών ελαχίστων (α) αρχική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα, (γ) αντίστροφη εικόνα απόστασης, (δ) εικόνα απόστασης με τα τοπικά ελάχιστα (κόκκινο χρώμα).	12
Σχήμα 2.2 Κατάτμηση εικόνας με αλγόριθμο υδροκριτών. Στις εικόνες (α)-(δ) απεικονίζονται οι περιοχές στις οποίες έχει χωριστεί η εικόνα από τον αλγόριθμο υδροκριτών και με κόκκινο σημειώνονται οι δείκτες κάθε περιοχής.	13
Σχήμα 2.3 Τα τοπικά ελάχιστα σημειωμένα με κόκκινο (άνω γραμμή) και τα αποτελέσματα της κατάτμησης με watershed για διαφορετικές τιμές του h: (α) h=0, (β) h=1, (γ) h=2, (δ) h=5 και (ε) h=47. Το σχήμα προέρχεται από το [8].	14
Σχήμα 2.4 Ταίριασμα ελλείψεων για διαφορετικά αποτελέσματα κατάτμησης	15
Σχήμα 2.5 Εξαγωγή εικόνας απόστασης και τοπικών μεγίστων (α) αρχική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα, (γ) εικόνα απόστασης, (δ) εικόνα απόστασης με τα τοπικά μέγιστα.	18
Σχήμα 2.6 Τοπογραφικό διάγραμμα του χάρτη απόστασης	19
Σχήμα 2.7 Κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων σε δύο ομάδες	22
Σχήμα 2.8 Περίγραμμα επικαλυπτόμενων πυρήνων με σημεία καμπής και ταίριασμα ελλείψεων (α) αρχική εικόνα με το περίγραμμα των επικαλυπτόμενων πυρήνων και τα σημεία καμπής, (β) οι ελλείψεις που ταιριάζουν στα τμήματα στα οποία έχει διαιρεθεί το περίγραμμα με τη βοήθεια των σημείων καμπής.	26
Σχήμα 2.9 Υποψήφιες ελλείψεις (α) τα 3 διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος, (β) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του πράσινου και μπλε τμήματος, (γ) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του κίτρινου και του μπλε τμήματος και (δ) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του κίτρινου και πράσινου τμήματος.	27

Σχήμα 3.1 Περίγραμμα συστάδας πυρήνων και σημεία καμπής. (α) αρχική εικόνα, (β) το όριο της συστάδας των πυρήνων (σε άσπρο) μαζί με κυρτό περίβλημα (σε πράσινο), (γ) τα σημεία καμπής.	30
Σχήμα 3.2 Υποψήφιες λύσεις για διαφορετικούς συνδυασμούς σημείων καμπής (α) – (γ) Τα ζεύγη των σημείων καμπής και οι ελλείψεις που αντιστοιχούν στα τμήματα του περιγράμματος, το βέλτιστο αποτέλεσμα φαίνεται στο (β), (δ) το αποτέλεσμα της διαίρεσης του συνολικού ορίου σε 3 τμήματα υποθέτοντας την ύπαρξη τριών πυρήνων.	32
Σχήμα 4.1 Αποτελέσματα κατάτμησης μεθόδου (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού μεθόδων καμπής.	36
Σχήμα 4.2 Αποτελέσματα κατάτμησης μεθόδου (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού μεθόδων καμπής.	36
Σχήμα 4.3 Αποτελέσματα κατάτμησης μεθόδου (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού μεθόδων καμπής.	37
Σχήμα 4.4 Αποτελέσματα κατάτμησης μεθόδου (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού μεθόδων καμπής.	37
Σχήμα 4.5 Αποτελέσματα κατάτμησης μεθόδου (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού μεθόδων καμπής.	38
Σχήμα 4.6 Περίπτωση εικόνας με ανώμαλα σημεία (α) Αρχική εικόνα, (β) περίγραμμα των επικαλυπτόμενων πυρήνων, (γ) σημεία καμπής, (δ) – (ε) υποψήφιες λύσεις με την επιλογή δύο σημείων καμπής, (στ) βέλτιστη κατάτμηση.	40
Σχήμα 4.7 Όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί σημείων καμπής με τα αντίστοιχα αποτελέσματα	41
Σχήμα 4.8 Περιπτώσεις συστάδων με περισσότερους από δύο πυρήνες (α)-(β) τριών και (γ) τεσσάρων πυρήνων	42
Σχήμα 5.1 (α) Αρχική εικόνα, (β) εικόνα μετά από συστολή (erosion).	45
Σχήμα 5.2 Μορφολογική παράγωγος (α) Διαφορά της διαβρωμένης με την εξομαλυμένη εικόνα, (β) εικόνα μετά την εφαρμογή του φίλτρου ενίσχυσης αντίθεσης.	46
Σχήμα 5.3 Εικόνα μετά την απομάκρυνση του φόντου	47
Σχήμα 5.4 (α) Δυαδική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα μετά το γέμισμα των οπών.	48
Σχήμα 5.5 Ομαδοποίηση	49



- Σχήμα 5.6 Αποτελέσματα (α) περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων. 50
- Σχήμα 5.7 Αποτελέσματα (α) περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων. 52
- Σχήμα 5.8 Αποτελέσματα (α) περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων. 53
- Σχήμα 5.9 Αποτελέσματα (α) περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων. 54

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΑΛΓΟΡΙΘΜΩΝ

---

Αλγόριθμος	Σελ
Αλγόριθμος 1 Εξαγωγή δεικτών με χρήση H-minima μετασχηματισμού	16
Αλγόριθμος 2 Διαδικασία αξιολόγησης των ομάδων	23
Αλγόριθμος 3 Διαδικασία επιλογής ελλείψεων	28
Αλγόριθμος 4 Ανίχνευση σημείων καμπής και ταίριασμα ελλείψεων	33
Αλγόριθμος 5 Ανίχνευση των περιοχών πυρήνων και εξαγωγή του συνολικού ορίου	51

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

---

Ελένη Λουκά του Παύλου και της Διαμαντίνας. MSc, Τμήμα Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Νοέμβριος, 2013. Ανίχνευση και κατάτμηση επικαλυπτόμενων πυρήνων σε κυτταρολογικές εικόνες. Επιβλέπωντας: Χριστόφορος Νίκου.

Τα τελευταία χρόνια, η ευρεία χρήση του τεστ Παπανικολάου, ιδιαίτερα στις αναπτυγμένες χώρες, έχει συντελέσει στην έγκαιρη διάγνωση και πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Ο ακριβής προσδιορισμός του σχήματος του πυρήνα είναι εξαιρετικής σημασίας για την ορθή ερμηνεία του τεστ Παπανικολάου καθώς η μόλυνση του κυττάρου από ασθένειες προκαλεί αλλοίωση των βασικών χαρακτηριστικών του πυρήνα του κυττάρου όπως το μέγεθος και το σχήμα του. Σε αρκετές περιπτώσεις, η ύπαρξη διαφορετικών στρωμάτων κυττάρων κατά την εναπόθεση τους στην πλάκα μικροσκοπίου, οδηγεί σε μερική επικάλυψη των πυρήνων που βρίσκονται στα κατώτερα στρώματα από τους πυρήνες που βρίσκονται στα ανώτερα στρώματα της πλάκας. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την ύπαρξη μεγάλου πλήθους κυτταρολογικών εικόνων και την αδυναμία εξέτασης αυτών μια προς μια, καθιστούν την οριοθέτηση κάθε πυρήνα στις περιοχές επικάλυψης ένα δύσκολο θέμα το οποίο προσελκύει το επιστημονικό ενδιαφέρον για την ανάπτυξη αυτοματοποιημένων μεθόδων ανίχνευσης των πυρήνων, είτε μεμονωμένων είτε συστάδων, σε μια κυτταρολογική εικόνα και εξαγωγής του περιγράμματος τους.

Η εργασία αυτή πραγματεύεται το πρόβλημα του εντοπισμού των πυρήνων σε κυτταρολογικές εικόνες και την κατάτμηση τους στην περίπτωση ύπαρξης επικαλυπτόμενων πυρήνων. Αρχικά, αναλύθηκαν οι πιο αντιπροσωπευτικές και ακριβείς τεχνικές που έχουν προταθεί στη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα υλοποιήθηκε

μία μέθοδος τμηματοποίησης εικόνας με χρήση του αλγόριθμου υδροκριτών, ένας αλγόριθμος που βασίζεται στην ομαδοποίηση των εικονοστοιχείων με χρήση μικτών κανονικών κατανομών και μία μέθοδος που βασίζεται σε ένα δείκτη καμπυλότητας του περιγράμματος της συστάδας των πυρήνων. Οι τεχνικές αυτές εφαρμόστηκαν σε πλήθος κυτταρολογικών εικόνων ώστε να μελετηθεί η αποτελεσματικότητα, η ευρωστία και η ακρίβειά τους. Στη συνέχεια, στην εργασία αυτή αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος η οποία βασίζεται στην ανίχνευση των σημείων καμπής του περιγράμματος της συστάδας των πυρήνων και στο ταίριασμα ελλείψεων στα διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος που οριοθετούνται από τα σημεία καμπής. Η μέθοδος αυτή αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική από τις προτεινόμενες μεθόδους της βιβλιογραφίας. Τέλος, παρουσιάζεται μία μέθοδος για την αυτοματοποιημένη ανίχνευση των περιοχών των πυρήνων και εξαγωγή του περιγράμματος τους σε μία κυτταρολογική εικόνα. Η μέθοδος αυτή αποτελεί μία σημαντική συνιστώσα για την αλυσίδα ενός πλήρως αυτόματου συστήματος εντοπισμού συστάδων (ή μεμονωμένων) πυρήνων και διαχωρισμού τους.



## **EXTENDED ABSTRACT IN ENGLISH**

---

Louka Eleni P. MSc, Computer Science Department, University of Ioannina, Greece.  
November, 2013. Detecting and splitting of overlapping nuclei in cytological images.  
Thesis Supervisor: Christophoros Nikou.

During the last years, the widespread use of the Pap test, especially in developed countries, has contributed to the early diagnosis and prevention of cervical cancer. The exact determination of the shape of the nucleus is crucial for the correct interpretation of the Pap test, as the contamination of the cell by diseases causes alteration of the basic characteristics of the cell nucleus such as size and shape. In many cases, the existence of different layers of cervical specimen in a slide results in the partial obscurity of the cells lying in the lower layers by those lying in the upper layers of the slide. All the above, combined with the existence of a large number of cytological images, render the delineation of each nuclei in overlapping areas a challenging issue which attracts the scientific interest for the development of automated methods for the analysis of the specific images.

The research topic of this dissertation, which comes from the field of image analysis, addresses the problem of detection of nuclei in cytological images and their segmentation in case of existence of overlapping nuclei. Initially, the most representative and promising techniques which have been proposed to date were analyzed. More specifically, the methods that were implemented are the following: a segmentation method using the watershed algorithm, a method based on Gaussian

mixture models and an algorithm which exploits information about the curvature of the clustered nuclei region of interest. These techniques have been applied in numerous cytological images in order to study their efficiency, robustness and accuracy. Moreover, a novel method for the accurate segmentation of elliptical overlapped nuclei is presented. This method is based on both the information provided by the global boundary of the nuclei cluster and the detection of concavity points along this boundary and performs ellipse fitting in different parts of the contour which are demarcated by the concavity points. Finally, a new technique for the detection of nuclei areas in cytological images and extraction of their boundary is proposed, which makes the overall method fully automated.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

1.1 Εισαγωγή στο θέμα της διατριβής

1.2 Αντικείμενο της διατριβής

1.3 Δομή της διατριβής

---

### **1.1. Εισαγωγή στο θέμα της διατριβής**

Η πιο δημοφιλής τεχνική για την ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι το γνωστό τεστ Παπανικολάου ή εν συντομία τεστ Παπ. Η τεχνική αυτή, η οποία εισήχθη για πρώτη φορά από τον Γεώργιο Παπανικολάου [1], χρησιμοποιείται για την πρόγνωση και διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Η ευρεία χρήση του τεστ ιδιαίτερα στις αναπτυγμένες χώρες έχει συμβάλλει στην έγκαιρη πρόγνωση της ασθένειας και επομένως στη μείωση της θνησιμότητας εξαιτίας αυτής. Το τεστ Παπ βασίζεται στη διαλογή δείγματος κυττάρων από τον τράχηλο με μια ειδική συσκευή και στην εναπόθεση του σε μια γυάλινη πλάκα, η οποία εξετάζεται κάτω από μικροσκόπιο έτσι ώστε να εντοπιστούν πιθανές ανωμαλίες στην δομή και τη μορφολογία των πυρήνων των κυττάρων. Η διερεύνηση της σύστασης, του μεγέθους και του σχήματος του πυρήνα τέτοιων μικροσκοπικών εικόνων είναι αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών καθώς ο πυρήνας αποτελεί το δομικό τμήμα του κυττάρου που παρουσιάζει αξιοσημείωτες μεταβολές όταν το κύτταρο μολυνθεί από κάποια ασθένεια. Επιπλέον, χαρακτηριστικά που βασίζονται στο σχήμα του πυρήνα έχουν χρησιμοποιηθεί για την διάκριση των φυσιολογικών και ανώμαλων κυττάρων. Έτσι, ο ακριβής προσδιορισμός του σχήματος του πυρήνα είναι εξαιρετικής σημασίας για την ορθή ερμηνεία του τεστ Παπανικολάου.



Ο έλεγχος της πλάκας στην οποία έχουν εναποτεθεί τα κύτταρα και η διερεύνηση της μορφολογίας των κυττάρων γίνεται από έναν ειδικό με τη βοήθεια μικροσκοπίου. Εάν όμως λάβουμε υπόψη το μεγάλο πλήθος των κυττάρων που πρέπει να εξεταστούν ώστε να διαπιστωθεί η κατάσταση τους καθώς και την εμπλοκή του ανθρώπινου παράγοντα που σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί σε λανθασμένες διαγνώσεις, διαπιστώνουμε τη μεγάλη σημασία της ανάπτυξης ενός αυτοματοποιημένου συστήματος ανάλυσης κυτταρολογικών εικόνων που θα παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα σε πολύ λιγότερο χρόνο.

Συνήθως, η ύπαρξη διαφορετικών στρωμάτων δείγματος του τραχήλου της μήτρας στο πλακίδιο του μικροσκοπίου, καταλήγει σε περιοχές όπου τα κύτταρα του ανώτερου στρώματος επισκιάζουν μερικώς τα κύτταρα που βρίσκονται από κάτω. Σε μικροσκοπική εξέταση πραγματικού χρόνου το πρόβλημα αυτό λύνεται στις περισσότερες περιπτώσεις ρυθμίζοντας την εστίαση των φακών ώστε τα κύτταρα διαφορετικών στρωμάτων να προσδιορίζονται με σαφήνεια. Ωστόσο, σε στατικές εικόνες που πάρθηκαν από ψηφιακή φωτογραφική μηχανή αυτό δεν είναι δυνατό. Έτσι κρίθηκε απαραίτητο να δημιουργηθούν νέες, εξελιγμένες μέθοδοι που μπορούν να εγγυηθούν την επιτυχία ενός αυτοματοποιημένου συστήματος ανάλυσης εικόνας εξασφαλίζοντας ακριβή αποτελέσματα. Για όλους αυτούς τους λόγους η κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων και η ανάκτηση του ακριβούς περιγράμματος τους είναι ένα δύσκολο ζήτημα το οποίο προσελκύει το επιστημονικό ενδιαφέρον για την ανάπτυξη αυτοματοποιημένων μεθόδων με στόχο την ανάλυση αυτών των εικόνων.

Εξαιτίας του πλήθους των κυτταρολογικών εικόνων και του μεγάλου αριθμού κυττάρων σε τέτοιες εικόνες θα είχε εξαιρετική σημασία η ανάπτυξη μιας αυτοματοποιημένης μεθόδου που θα είχε σαν αποτέλεσμα την εύρεση κάθε πυρήνα μέσα στην εικόνα, είτε μεμονωμένου είτε συστάδας, και την εξαγωγή του ακριβούς περιγράμματος κάθε πυρήνα και των απλών αλλά και των πολλαπλών επικαλυπτόμενων πυρήνων.

## 1.2. Αντικείμενο της διατριβής

Αναγνωρίζοντας τη σημαντικότητα της ανίχνευσης του περιγράμματος των πυρήνων σε κυτταρολογικές εικόνες, η αυτόματη και ακριβής κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων έχει αποτελέσει σημαντικό αντικείμενο έρευνας τα τελευταία χρόνια. Ένας αριθμός αυτοματοποιημένων μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων έχει προταθεί και μπορεί να ταξινομηθεί σε πέντε βασικές κατηγορίες.

- Προσαρμογή ενεργού φυσικού μοντέλου [15,16,17]
- Αλγόριθμος υδροκριτών (Watershed Algorithm) [2,3,4,5,6,7,8]
- Μέθοδοι ομαδοποίησης [9]
- Τεχνικές που χρησιμοποιούν πληροφορία καμπυλότητας [11,12,13,14]
- Τεχνικές μορφολογικής ανακατασκευής [10]

Σε αυτή τη διατριβή, οι πιο αντιπροσωπευτικές και υποσχόμενες τεχνικές από τις παραπάνω κατηγορίες, χρησιμοποιήθηκαν σε πλήθος κυτταρολογικών εικόνων στην προσπάθεια διαχωρισμού των επικαλυπτόμενων πυρήνων που υπήρχαν στις εικόνες αυτές και εξαγωγής του περιγράμματος τους. Συγκεκριμένα, υλοποιήθηκαν η τεχνική κατάτμησης με αλγόριθμο υδροκριτών [8], η μέθοδος ομαδοποίησης με τον αλγόριθμο EM σε συνδυασμό με μικτές κανονικές κατανομές [9] και μια μέθοδος που βασίζεται αποκλειστικά στην καμπυλότητα του περιγράμματος του πυρήνα [14]. Οι τεχνικές αυτές εφαρμόστηκαν σε πλήθος μικροσκοπικών εικόνων ώστε να μελετηθεί η αποτελεσματικότητα, η ευρωστία και η ακρίβεια των μεθόδων αυτών. Στη συνέχεια, υλοποιήθηκε μια καινούργια μέθοδος για κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων, η οποία βασίζεται στην ανίχνευση των σημείων καμπής του συνολικού περιγράμματος των πυρήνων και στο ταίριασμα ελλείψεων στα διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος της συστάδας που οριοθετούνται από τα σημεία καμπής. Τέλος, προτείνεται μια τεχνική για την αυτοματοποιημένη ανίχνευση πυρήνων σε μικροσκοπικές εικόνες και εξαγωγής του περιγράμματος τους, είτε πρόκειται για μεμονωμένους πυρήνες είτε για συστάδες πυρήνων.

### 1.3. Δομή της διατριβής

Αρχικά, στο κεφάλαιο 2 περιγράφονται οι βασικές κατηγορίες μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων και παρουσιάζονται συνοπτικά οι μέθοδοι κάθε κατηγορίας. Στη συνέχεια, αναλύονται διεξοδικά τρεις βασικές μέθοδοι για την κατάτμηση πυρήνων που προαναφέρθηκαν, δηλαδή η τεχνική που κάνει χρήση πληροφορίας σχήματος πυρήνα [14], η τεχνική που βασίζεται στη μέθοδο υδροκριτών [8] και η τεχνική της ομαδοποίησης [9], οι οποίες και υλοποιήθηκαν.

Στο κεφάλαιο 3, παρουσιάζεται η νέα μέθοδος η οποία εστιάζει σε πληροφορία σχήματος πυρήνα και διαχωρίζει τους πυρήνες μέσα από την ανάλυση της καμπυλότητας του περιγράμματός τους.

Στο κεφάλαιο 4, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα που εκτελέστηκαν και αξιολογείται η αποτελεσματικότητα κάθε μεθόδου που υλοποιήθηκε.

Στο κεφάλαιο 5, περιγράφεται η καινούργια τεχνική ανίχνευσης των πυρήνων μέσα στην εικόνα και εξαγωγής του περιγράμματος τους, είτε πρόκειται για μεμονωμένους είτε για επικαλυπτόμενους πυρήνες.

Στο κεφάλαιο 6, αναφέρονται συνοπτικά τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τις σειρές πειραμάτων και προτείνονται κάποιες ιδέες για μελλοντική έρευνα.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ

---

- 2.1 Κατηγορίες μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων
  - 2.2 Μέθοδος κατάτμησης με αλγόριθμο υδροκριτών
  - 2.3 Μέθοδος ομαδοποίησης
  - 2.4 Μέθοδος κατάτμησης με ταίριασμα ελλείψεων
- 

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται οι βασικές και πιο πρόσφατες μέθοδοι που έχουν προταθεί για την κατάτμηση επικαλυπτόμενων πυρήνων σε εικόνες από κύτταρα. Αρχικά περιγράφονται συνοπτικά οι πέντε βασικές κατηγορίες μεθόδων κατάτμησης και στη συνέχεια αναλύονται τρεις τεχνικές κατάτμησης οι οποίες μελετήθηκαν στην εργασία αυτή.

### **2.1. Κατηγορίες μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων**

Κατά τα τελευταία χρόνια , ένας αριθμός αυτοματοποιημένων μεθόδων κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων έχει προταθεί και μπορεί να ταξινομηθεί σε πέντε βασικές κατηγορίες.

- Προσαρμογή ενεργού φυσικού μοντέλου
- Αλγόριθμος υδροκριτών (Watershed Algorithm)
- Μέθοδοι ομαδοποίησης
- Τεχνικές που χρησιμοποιούν πληροφορία καμπυλότητας
- Τεχνικές μορφολογικής ανακατασκευής

### *2.1.1. Κατάτμηση με χρήση του αλγόριθμου υδροκριτών*

Μια μέθοδος που παρέχει αυτόματο υπολογισμό του αριθμού των πυρήνων που επικαλύπτονται αλλά και του περιγράμματος τους είναι αυτή που βασίζεται στον αλγόριθμο υδροκριτών. Καθώς δεν είναι πάντοτε εφικτό να υπάρχει ένα προς ένα αντιστοιχία πυρήνα με τοπικό ελάχιστο του τοπογραφικού διαγράμματος της εικόνας, ο κλασικός αλγόριθμος υδροκριτών [21] αποτυγχάνει διότι οδηγεί σε υπερκατάτμηση. Ο σημαντικότερος παράγοντας που ενισχύει τη σωστή κατάτμηση των πυρήνων είναι η ορθή επιλογή δεικτών (markers) για την εκκίνηση του αλγορίθμου υδροκριτών. Δείκτες αποτελούν τα σημεία εκείνα της εικόνας από τα οποία ξεκινάει υπερχειλίση κάθε περιοχής και επιλέγονται από το χρήστη. Ως δείκτες μπορεί να θεωρηθούν τα τοπικά μέγιστα του αντίστροφου διαγράμματος της απόστασης όπως στο [2] ή σημεία της περιοχής επικάλυψης που καθορίζονται από το χρήστη και διαφέρουν ανάλογα με το αν οι πυρήνες επικαλύπτονται ή είναι σε επαφή [3], [4]. Για τη σωστή ανίχνευση δεικτών, σε άλλες μεθόδους, όπως στην [5], χρησιμοποιείται ο εξωτερικός μετασχηματισμός απόστασης (outer distance transform) σε συνδυασμό με τον μετασχηματισμό H-minima ώστε να αποφευχθεί η υπερκατάτμηση. Μια λίγο διαφορετική προσέγγιση αποτελεί η εξαγωγή δεικτών χρησιμοποιώντας πληροφορία καμπυλότητας του περιγράμματος των επικαλυπτόμενων πυρήνων είτε δίνοντας βάρη στα σημεία του περιγράμματος που έχουν μεγαλύτερες τιμές καμπυλότητας έτσι ώστε τα σημεία καμψής να καθορίσουν τους δείκτες, όπως στο [6], είτε εξάγοντας την εικόνα καμπύλης κυρτότητας στην οποία η φωτεινότητα κάθε εικονοστοιχείου αντικατοπτρίζει την πιθανότητα το σημείο αυτό να είναι σημείο τομής των ορίων των πυρήνων, όπως στο [7]. Ο μετασχηματισμός απόστασης που εφαρμόζεται στην εικόνα αυτή μας παρέχει τους κατάλληλους δείκτες για τον αλγόριθμο υδροκριτών. Τέλος, στο [8], η κατάτμηση της συστάδας των πυρήνων αντιμετωπίζεται σαν ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης όπου η επιλογή δεικτών σε συνδυασμό με μετασχηματισμό H-minima χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή του βέλτιστου αποτελέσματος κατάτμησης. Για πιο ακριβή αποτελέσματα, εισάγεται η παραμετροποίηση του περιγράμματος με ελλειψοειδή μοντέλα.

### *2.1.2. Μέθοδοι ομαδοποίησης*

Σε πιο πρόσφατες μελέτες, τεχνικές ομαδοποίησης χρησιμοποιήθηκαν για τον διαχωρισμό πυρήνων που επικαλύπτονται. Ο μετασχηματισμός απόστασης της δυαδικής εικόνας που περιέχει την περιοχή των πυρήνων υπολογίζεται στο [9], και η τοπογραφική επιφάνεια που εξάγεται από τον μετασχηματισμό απόστασης θεωρείται ότι προέρχεται από μια μικτή κανονική κατανομή. Ο αλγόριθμος EM [20] εφαρμόζεται στη συνέχεια για την εκτίμηση των παραμέτρων της μικτής κατανομής. Αξίζει να σημειωθεί ότι με αυτήν την προσέγγιση η περιοχή επικάλυψης κάθε πυρήνα ανακατασκευάζεται με μια τεχνική ταιριάσματος ελλείψεων. Αν και η μέθοδος αυτή παρέχει σωστά αποτελέσματα, δεν μπορούμε να παραβλέψουμε την μεγάλη υπολογιστική πολυπλοκότητα εξαιτίας της εφαρμογής του αλγορίθμου EM για την ανάλυση της συστάδας των πυρήνων.

### *2.1.3. Μέθοδοι μορφολογικής ανακατασκευής*

Κάποιοι αλγόριθμοι που βασίζονται σε μορφολογική ανακατασκευή της εικόνας έχουν επίσης προταθεί για το διαχωρισμό πυρήνων που επικαλύπτονται. Η έννοια των μορφολογικών ανακατασκευών επεκτείνεται σε αναπαραστάσεις σχήματος πολλαπλών κλιμάκων [10]. Εφαρμόζοντας την τεχνική αυτή, μια εικόνα που περιέχει επικαλυπτόμενες περιοχές αναλύεται σε συγκεκριμένου μεγέθους κλίμακες που φέρουν δείκτες οι οποίοι αντιπροσωπεύουν μη συνδεδεμένες περιοχές της εικόνας, περιοχές δηλαδή που δεν ανήκουν στο τμήμα της επικάλυψης των πυρήνων. Διαδοχικές διαβρώσεις (erosions) του αντικειμένου ακολουθούμενες από μια διαστολή (dilation) εφαρμοζόμενες σε κάθε κλίμακα, αποτελούν τη διαδικασία ανάλυσης του αντικειμένου και εξαγωγής δεικτών. Αυτοί οι δείκτες που ανιχνεύτηκαν χρησιμοποιούνται έπειτα για την ανακατασκευή διαδοχικών πραγματικών σχημάτων αποκλείοντας την αλληλοεπικάλυψη τους. Η ανάκτηση του πραγματικού σχήματος των πυρήνων επιτυγχάνεται μέσω των διαδοχικών διαστολών και συγχωνεύσεων των δεικτών κάθε κλίμακας. Ωστόσο αξίζει να επισημανθεί ότι η επιτυχία της μεθόδου συνεπάγεται ότι όλοι τα αντικείμενα θα πρέπει να είναι παρόμοιου μεγέθους και να έχουν το αναμενόμενο σχήμα. Ως εκ τούτου, περιοχές διαφόρων μεγεθών και σχημάτων δεν γίνεται να αναλυθούν σωστά επειδή η ανίχνευση των δεικτών εξαρτάται από το μέγεθος και την κλίμακα.

#### 2.1.4. Μέθοδοι που χρησιμοποιούν πληροφορία καμπυλότητας

Διαφορετικές προσεγγίσεις εκμεταλλεύονται πληροφορία της γεωμετρίας της περιοχής των επικαλυπτόμενων πυρήνων για να επιτύχουν την κατάτμηση τους. Η εύρεση του μέσου άξονα (medial axis) της συστάδας των πυρήνων, δηλαδή του γεωμετρικού τόπου των κέντρων όλων των κύκλων που εφάπτονται στο περίγραμμα της συστάδας σε δύο ή περισσότερα σημεία, και ο καθορισμός των σημείων ενδιαφέροντος όπου τα όρια διαφορετικών πυρήνων τέμνονται, οδηγεί στην ανίχνευση των διαχωριστικών γραμμών ανάμεσα στους πυρήνες στο [11]. Αν και η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε σε κύτταρα αίματος είναι εύρωστη και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και για διαχωρισμό πυρήνων, όμως σε κάθε περίπτωση δεν εγγυάται ότι τα σύνορα ανάμεσα στα κύτταρα είναι πάντα σωστά ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που το μέγεθος μεταξύ των κυττάρων διαφέρει σημαντικά, η μορφολογία της περιοχής της επικάλυψης έχει μεγάλη ομοιότητα αυτήν των κυττάρων αίματος και κάποια κύτταρα είναι εξαιρετικά επιμήκη.

Μια διαφορετική τεχνική η οποία χρησιμοποιεί επίσης πληροφορία σχήματος, εντοπίζει την θέση των πυρήνων χρησιμοποιώντας μια μέθοδο ψηφοφορίας και πρότερη γνώση πριν καθορίσει το ακριβές σχήμα των πυρήνων μέσω ενός ελαστικού αλγόριθμου κατάτμησης [12]. Αφού εφαρμοστούν φίλτρα για την απομάκρυνση του θορύβου, οι ακμές εξάγονται μέσω αλγόριθμου ανίχνευσης ακμών του Canny [22]. Παρατηρώντας ότι οι πυρήνες των κυττάρων περιβάλλονται από κυτταρόπλασμα και ότι το σχήμα τους είναι σχεδόν ελλειπτικό, οι ακμές που είναι προσκείμενες στο φόντο απομακρύνονται. Ο μετασχηματισμός Hough για ελλείψεις [23] βρίσκει τους υποψήφιους πυρήνες, οι οποίοι στη συνέχεια επεξεργάζονται από έναν αλγόριθμο συνόλου επιπέδων (level set algorithm).

Στο [13], τα κυρίαρχα σημεία ανιχνεύονται αναλύοντας την καμπυλότητα του περιγράμματος στην κλίμακα χώρου των συντελεστών Fourier. Χρησιμοποιώντας έναν άρτιο αριθμό συντελεστών Fourier μπορούμε να ανακατασκευάσουμε το περίγραμμα. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των συντελεστών Fourier που χρησιμοποιούνται για την ανακατασκευή τόσο μεγαλύτερο είναι και το πλήθος των σημείων καμπής του σχήματος. Βασισμένη σε μια βελτιστοποιημένη ευρετική

προσέγγιση, ζεύγη αυτών των σημείων καμπής αντιστοιχούνται αναδρομικά μέχρι τα διαχωρισμένα αντικείμενα να μη διαθέτουν πια καμπυλότητες.

Τέλος, στο [14], η κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων βασίζεται στη σωστή ανίχνευση των σημείων καμπής και στο ταίριασμα ελλείψεων στα διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος που οριοθετούνται από τα σημεία καμπής. Ο τελικός διαχωρισμός των πυρήνων εξαρτάται από τις συγχωνεύσεις μεταξύ των ελλείψεων αυτών που ικανοποιούν συγκεκριμένα κριτήρια.

### *2.1.5. Προσαρμογή ενεργού φυσικού μοντέλου*

Τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος (ACM) [24] παρέχουν μια αρκετά αποτελεσματική μεθοδολογία για την κατάτμηση εικόνας και εντοπισμό του περιγράμματος του αντικειμένου που μας ενδιαφέρει. Δεδομένης της θέσης του αντικειμένου στην εικόνα, το ενεργό περίγραμμα είναι μια κλειστή καμπύλη που περικλείει το αντικείμενο και προσεγγίζει όσο το δυνατόν καλύτερα το περίγραμμα του αντικειμένου. Αυτή η μέθοδος βασίζεται στην ελαχιστοποίηση της συνάρτησης ενέργειας που αποτελεί το άθροισμα της εσωτερικής και εξωτερικής ενέργειας. Το μέτρο της εξωτερικής ενέργειας δείχνει κατά πόσο το ενεργό περίγραμμα προσεγγίζει το περίγραμμα του αντικειμένου που μας ενδιαφέρει και γίνεται ελάχιστο όταν το ενεργό περίγραμμα συμπίπτει με τη θέση του περιγράμματος του αντικειμένου αυτού. Η εσωτερική ενέργεια είναι ο όρος που σχετίζεται με την καμπυλότητα του ενεργού περιγράμματος. Στόχος μας είναι το ενεργό περίγραμμα να είναι όσο το δυνατόν ομαλότερο και με λιγότερα σημεία καμπής. Η ελαχιστοποίηση της ενέργειας προχωρά επαναληπτικά, αφήνοντας το ενεργό περίγραμμα να απομακρυνθεί από μια αρχική θέση έως ότου ταιριάζει καλά στο αντικείμενο.

Τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για να χωρίσουν και να ανιχνεύσουν μεμονωμένα αντικείμενα και στην περίπτωση που αυτά τα αντικείμενα ήταν σε επαφή τα ενεργά περιγράμματα τους οδηγούσαν σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα επικαλύπτοντας το ένα το άλλο και συγχωνεύοντας τα αντικείμενα. Μια λύση στο πρόβλημα αυτό δίνει η μέθοδος των πολλαπλών ενεργών περιγραμμάτων στην οποία κάθε αντικείμενο έχει το δικό του ενεργό περίγραμμα και



ο περιορισμός σύζευξης εισάγεται απ' ευθείας ως ποινή επικάλυψης στην συνάρτηση ενέργειας η οποία εξαρτάται από όλα τα περιγράμματα [15].

Σε μια διαφορετική προσέγγιση [16], αρχικά κατασκευάζεται το φυσικό μοντέλο και εφαρμόζεται σε ένα σύνολο εκπαίδευσης εικόνων που περιέχουν μόνο έναν πυρήνα. Αυτό είναι απαραίτητο ώστε να εκτιμηθεί η κατανομή που περιγράφει το σχήμα του πυρήνα. Για το λόγο αυτό, οι εικόνες που περιέχουν μόνο έναν πυρήνα επεξεργάζονται ενώ είναι γνωστό το συνολικό περίγραμμα του πυρήνα. Μετά τον προσδιορισμό της κατανομής, τα μοντέλα εφαρμόζονται σε εικόνες που περιέχουν δύο επικαλυπτόμενους πυρήνες. Έτσι ολοκληρώνεται το στάδιο της εκπαίδευσης του μοντέλου. Στη συνέχεια, προκειμένου να επιτευχθεί η κατάτμηση των δύο πυρήνων, ακολουθεί ο προσδιορισμός των αρχικών θέσεων των μοντέλων στην εικόνα και η διαδικασία παραμόρφωσης που ακολουθούν τα μοντέλα μέχρι να συγκλίνουν. Η εκτίμηση των ακριβών περιγραμμάτων των πυρήνων επιτυγχάνεται με τη χρήση κατάλληλων βαρών που ελέγχουν τη συνεισφορά της ισχύος της εικόνας στη συνολική ενέργεια του μοντέλου παραμόρφωσης.

Στο [17], το κάθε κύτταρο αντιπροσωπεύεται από μια συνάρτηση που ελέγχει την εξέλιξη του ενεργού περιγράμματος (level set function) και εισάγεται ένας περιορισμός που ελαχιστοποιεί την επικάλυψη μεταξύ των ενεργών περιγραμμάτων των κυττάρων. Η τεχνική αυτή διατηρεί το διαχωρισμό των περιγραμμάτων αποφεύγοντας την επικάλυψη τους και παρέχει ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμα και όταν όριο μεταξύ των κυττάρων είναι ασθενές ή αόρατο.

## **2.2. Κατάτμηση συστάδας πυρήνων χρησιμοποιώντας μετασχηματισμό $H$ - $minima$ και αλγόριθμο υδροκριτών**

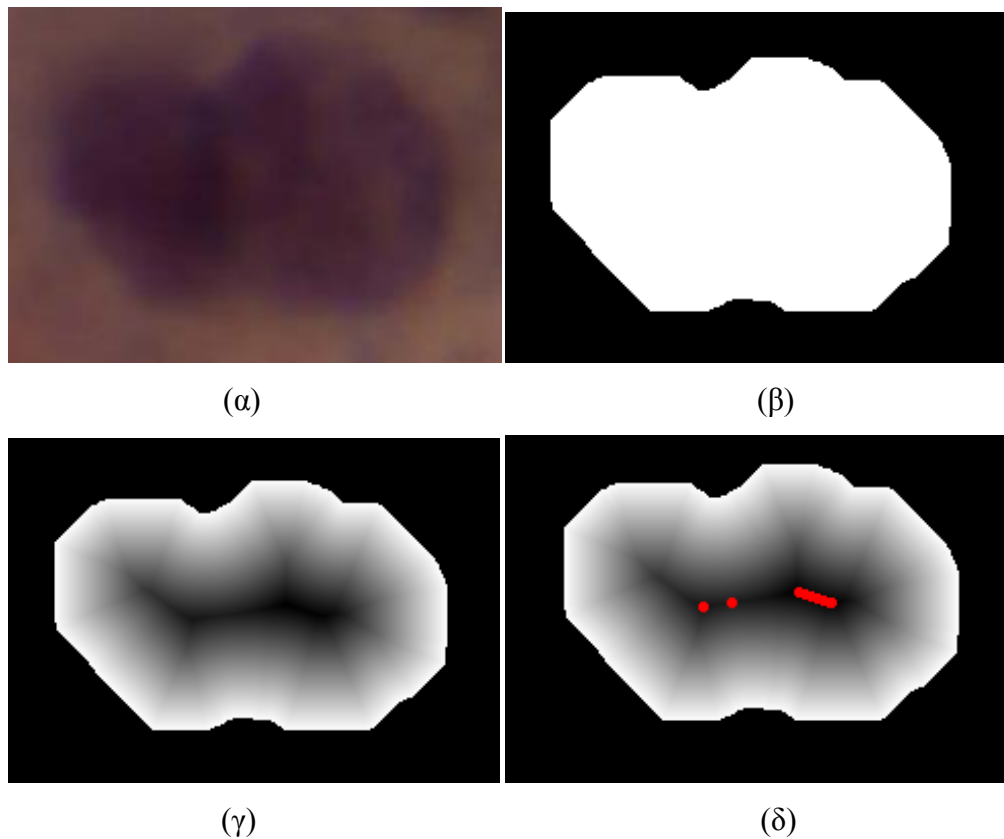
Σε αυτή τη μέθοδο, η κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων αντιμετωπίζεται σαν ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης σε συνδυασμό με τεχνική που βασίζεται στον αλγόριθμο υδροκριτών (watersheds). Επίσης, θεωρείται δεδομένο ότι υπάρχει εκ των προτέρων γνώση σχετικά με το σχήμα των πυρήνων [8].

### 2.2.1. Εφαρμογή του μετασχηματισμού $H$ -minima στην αντίστροφη εικόνα απόστασης και κατάτμηση με υδροκρίτες

Αρχικά, η εικόνα υφίσταται μια διαδικασία προεπεξεργασίας με σκοπό τη μείωση των επιπτώσεων του θορύβου. Έτσι, μετατρέπουμε την αρχική εικόνα σε εικόνα κλίμακας του γκρι και εφαρμόζουμε ένα Gaussian φίλτρο. Στη συνέχεια, εξάγεται η δυαδική εικόνα εφαρμόζοντας καταφλίωση με τη μέθοδο του Otsu [18], όπου γίνεται η υπόθεση ότι η εικόνα περιέχει δύο κατηγορίες εικονοστοιχείων, ή ιστόγραμμα με δύο κύριους λοβούς, και υπολογίζει το βέλτιστο κατώφλι που διαχωρίζει αυτές τις δύο περιοχές έτσι ώστε η διακύμανση μέσα σε κάθε ομάδα να είναι ελάχιστη. Έπειτα εξάγεται το ολικό περίγραμμα της περιοχής των επικαλυπτόμενων πυρήνων και τέλος, εκτελούνται τεχνικές μορφολογικής ανακατασκευής, άνοιγμα (opening by reconstruction) και κλείσιμο (closing by reconstruction) έτσι ώστε να προκύψει ένα εξομαλυμένο περίγραμμα των πυρήνων.

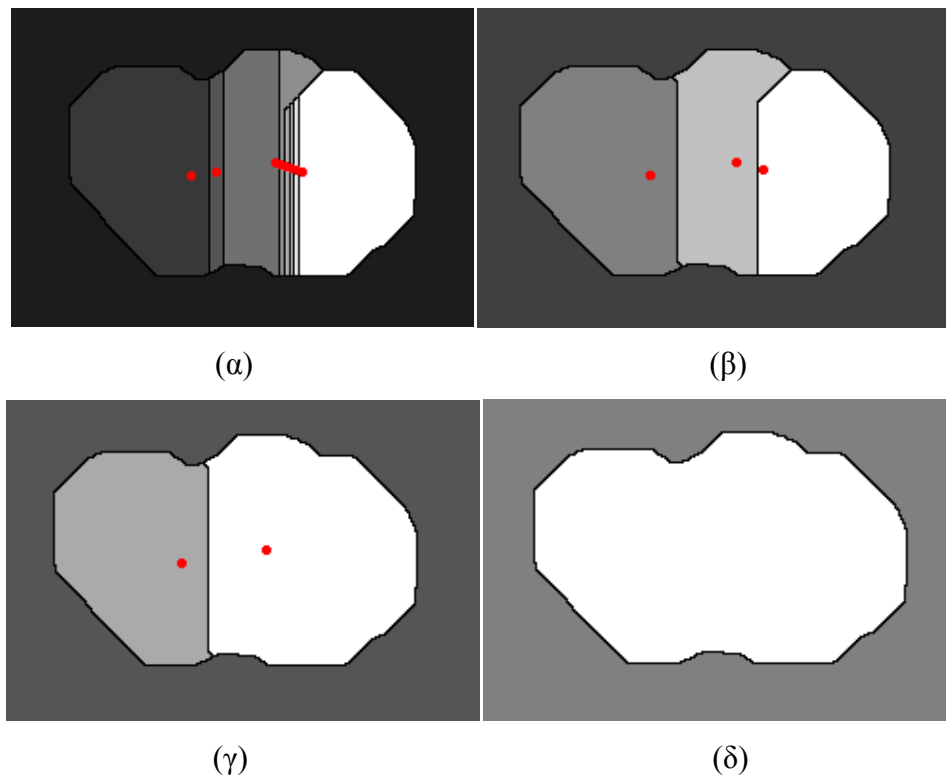
Επόμενο βήμα είναι η εύρεση της αντίστροφης εικόνας απόστασης εφαρμόζοντας μετασχηματισμό απόστασης στη δυαδική εικόνα. Το αποτέλεσμα του μετασχηματισμού είναι μια ασπρόμαυρη εικόνα που είναι όμοια με την αρχική, μόνο που το μέτρο της φωτεινότητας κάθε εικονοστοιχείου στα επίπεδα του γκρι δηλώνει την απόσταση του στοιχείου από το τα σημεία που απέχουν τη μέγιστη απόσταση από το φόντο όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.1(γ). Από την αντίστροφη εικόνα απόστασης, βρίσκουμε τα τοπικά ελάχιστα στις εικόνας, που όπως βλέπουμε και στο σχήμα 2.1(δ), ο αριθμός τους ξεπερνά κατά πολύ αυτόν των πυρήνων. Στο συγκεκριμένο παράδειγμα εντοπίστηκαν εννέα τοπικά ελάχιστα ενώ στην αρχική εικόνα υπάρχουν μόλις δύο επικαλυπτόμενοι πυρήνες.

Τα τοπικά ελάχιστα που υπολογίστηκαν χρησιμοποιούνται έπειτα ως δείκτες (markers) στον μετασχηματισμό με υδροκρίτες. Ο μετασχηματισμός με υδροκρίτες εφαρμόζεται με σκοπό την κατάτμηση της περιοχής των πυρήνων σε τόσα τμήματα, όσα είναι και τα τοπικά ελάχιστα που υπολογίστηκαν. Έτσι γίνεται αντιληπτό ότι ο μετασχηματισμός υδροκριτών με χρήση δεικτών οδηγεί σε υπερκατάτμηση καθώς είναι εξαιρετικά δύσκολο να έχουμε ένα προς ένα αντιστοιχία τοπικού ελαχίστου με πυρήνα. Σε όλες τις εικόνες το πλήθος των τοπικών ελαχίστων ξεπερνά κατά πολύ αυτό των πυρήνων.



Σχήμα 2.1 Εξαγωγή αντίστροφης εικόνας απόστασης και τοπικών ελαχίστων. (α) αρχική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα, (γ) αντίστροφη εικόνα απόστασης, (δ) εικόνα απόστασης με τα τοπικά ελάχιστα (κόκκινο χρώμα).

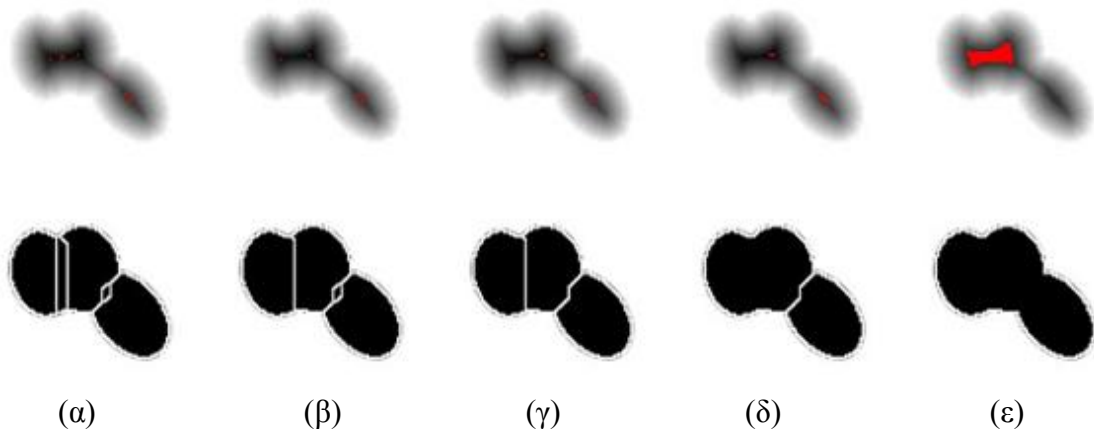
Για να ξεπεραστεί το πρόβλημα αυτό, συνεχίζουμε με εφαρμογή του H-minima μετασχηματισμού [5], ο οποίος, εφαρμοζόμενος στην αντίστροφη εικόνα απόστασης, έχει την ιδιότητα να καταστέλλει το πλήθος των τοπικών ελαχίστων καθώς αυξάνεται η παράμετρος  $h$ . Συγκεκριμένα, όλα τα τοπικά ελάχιστα των οποίων το βάθος είναι μικρότερο ή ίσο από την τιμή της παραμέτρου καταστέλλονται και το βάθος των υπολοίπων μειώνεται κατά  $h$ . Όσο η τιμή της παραμέτρου μεγαλώνει, το πλήθος των τοπικών ελαχίστων μειώνεται και συνεπώς μικραίνει και το πλήθος των εν δυνάμει πυρήνων. Έτσι, γίνεται αντιληπτό ότι το πρόβλημα του προσδιορισμού των πυρήνων έγκειται στον υπολογισμό της βέλτιστης τιμής για το  $h$ , που επιτυγχάνεται εισάγοντας μια συνάρτηση εκτίμησης σφάλματος κατάτμησης. Ο στόχος είναι η εύρεση της τιμής του  $h$  για την οποία η συνάρτηση αυτή παίρνει ελάχιστο.



Σχήμα 2.2 Κατάτμηση εικόνας με αλγόριθμο υδροκριτών. Στις εικόνες (α)-(δ) απεικονίζονται οι περιοχές στις οποίες έχει χωριστεί η εικόνα από τον αλγόριθμο υδροκριτών και με κόκκινο σημειώνονται οι δείκτες κάθε περιοχής.

### 2.2.2. Ταίριασμα ελλείψεων και χρήση της συνάρτησης εκτίμησης σφάλματος

Προκειμένου να υπολογιστεί η κατάλληλη τιμή της παραμέτρου  $h$ , θεωρούμε ότι ο πυρήνας θα μπορούσε να προσεγγιστεί ως ένα ελλειψοειδές μοντέλο, καθώς τα επιθηλιακά κύτταρα έχουν περιγράμματα που μοιάζουν με ελλείψεις. Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονιστεί ότι έχουμε τη δυνατότητα να παρατηρούμε μόνο το εξωτερικό περίγραμμα κάθε πυρήνα και όχι το τμήμα του ορίου του πυρήνα που ανήκει στην περιοχή της επικάλυψης, για το λόγο αυτό στην ανάλυση που ακολουθεί όταν γίνεται αναφορά στο όριο του πυρήνα εννοούμε πάντα το εξωτερικό όριο.



Σχήμα 2.3 Τα τοπικά ελάχιστα σημειωμένα με κόκκινο (άνω γραμμή) και τα αποτελέσματα της κατάτμησης με υδροκρίτες για διαφορετικές τιμές του  $h$ : (α)  $h=0$ , (β)  $h=1$ , (γ)  $h=2$ , (δ)  $h=5$  και (ε)  $h=47$ . Το σχήμα προέρχεται από το [8].

Κάθε περιοχή της εικόνας που προκύπτει από την κατάτμηση με υδροκρίτες προσεγγίζεται από μια έλλειψη. Η έλλειψη που κάνει το καλύτερο δυνατό ταίριασμα με το περίγραμμα του πυρήνα, υπολογίζεται κάνοντας χρήση του αλγορίθμου ελαχίστων τετραγώνων (Direct Least Squares algorithm) [19]. Ας θεωρήσουμε ότι το  $(x,y)$  είναι σημείο του ορίου ενός πυρήνα. Η έλλειψη μπορεί να περιγραφεί από το πολυώνυμο δευτέρου βαθμού

$$F(\mathbf{x}) = \mathbf{a} \cdot \mathbf{x} = ax^2 + bxy + cy^2 + dx + ey + f = 0, \quad (2.2.1)$$

όπου  $\mathbf{a} = [a \ b \ c \ d \ e \ f]^T$  αντιπροσωπεύει τις παραμέτρους της έλλειψης και  $\mathbf{x} = [x^2 \ xy \ y^2 \ x \ y \ 1]^T$ . Η  $F(\mathbf{x})$  ονομάζεται αλγεβρική απόσταση του σημείου  $(x,y)$  από την κωνική τομή  $F(\mathbf{x}) = 0$  και στόχος είναι η ελαχιστοποίηση αυτής της απόστασης. Για το λόγο αυτό θεωρούμε ότι έχουμε ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης με περιορισμό  $4ac - b^2 = 1$ , η οποία σε μορφή πινάκων γράφεται  $\mathbf{a}^T \mathbf{C} \mathbf{a} = 1$ , όπου  $\mathbf{C}$  είναι ο  $6 \times 6$  πίνακας περιορισμών:

$$\mathbf{C} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}. \quad (2.2.2)$$

Έτσι, το πρόβλημα της αντιστοίχισης των ελλείψεων με περιορισμούς συνοψίζεται ως εξής :

$$\arg \min_{\mathbf{a}} \|\mathbf{D}\mathbf{a}\|^2 \text{ υπό τον περιορισμό } \mathbf{a}^T \mathbf{C}\mathbf{a} = 1, \quad (2.2.3)$$

όπου  $\mathbf{D}$  είναι ο πίνακας σχεδίασης:

$$\mathbf{D} = \begin{bmatrix} x_1^2 & x_1 y_1 & y_1^2 & x_1 & y_1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_n^2 & x_n y_n & y_n^2 & x_n & y_n & 1 \end{bmatrix}, \quad (2.2.4)$$

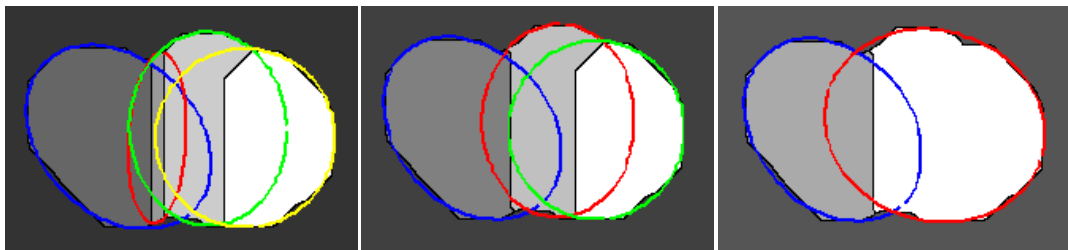
όπου  $n$  είναι ο αριθμός των σημείων του περιγράμματος. Για την επίλυση του προβλήματος, εισάγεται ο πολλαπλασιαστής Lagrange  $\lambda$  και καταλήγουμε στη σχέση

$$J(\mathbf{a}, \lambda) = \|\mathbf{D}\mathbf{a}\|^2 + \lambda(1 - \mathbf{a}^T \mathbf{C}\mathbf{a}). \quad (2.2.5)$$

Θέτοντας την παράγωγο της σχέσης (2.2.5) ίση με το μηδέν και εκτελώντας τις πράξεις καταλήγουμε στην ακόλουθη εξίσωση

$$\mathbf{D}^T \mathbf{D}\mathbf{a} = \lambda \mathbf{C}\mathbf{a}, \quad (2.2.6)$$

όπου ο πίνακας  $\mathbf{D}^T \mathbf{D}$  είναι θετικά ορισμένος. Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι μετατρέψαμε το πρόβλημα ελαχιστοποίησης με περιορισμούς στο πρόβλημα ιδιοτιμών που περιγράφεται από την εξίσωση (2.2.6) η οποία έχει μοναδική θετική ιδιοτιμή, δίνοντας μοναδική λύση. Εφόσον ο  $\mathbf{D}^T \mathbf{D}$  είναι θετικά ορισμένος, το πρόβλημα με περιορισμούς έχει ελάχιστο το οποίο πρέπει να ικανοποιεί την σχέση 2.2.3. Επομένως καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η μοναδική λύση της εξίσωσης 2.2.6 αποτελεί τη λύση στο πρόβλημα με περιορισμούς.



Σχήμα 2.4 Ταίριασμα ελλείψεων για διαφορετικά αποτελέσματα κατάτμησης.

Στη συνέχεια αξιολογείται το αποτέλεσμα της κατάτμησης χρησιμοποιώντας την συνάρτηση εκτίμησης σφάλματος κατάτμησης:

$$S(p_h) = \sum_{i=1}^m AFR(p_{h,i}), \quad (2.2.7)$$

όπου ο  $p_h$  δηλώνει το αποτέλεσμα της κατάτμησης που εξαρτάται από την παράμετρο  $h$  του H-minima μετασχηματισμού,  $m$  είναι ο αριθμός των πυρήνων στο σύνολο  $p_h$  και  $p_{h,i}$  είναι ο  $i$ -στος πυρήνας του  $p_h$ . Όπως φαίνεται και από την εξίσωση 2.2.7, θεωρούμε ότι κάθε πυρήνας έχει τη δική του παράμετρο σφάλματος κατάτμησης η οποία ονομάζεται μέση αντιστοίχιση περιγράμματος (Average Fitting Residuals, AFR) και προσδιορίζεται από την εξίσωση:

$$AFR(p_{h,i}) = \frac{1}{N_{h,i}} \sum_{j=1}^{N_{h,i}} d(b_{h,i,j}, F_{h,i}), \quad (2.2.8)$$

όπου  $N_{h,i}$  και  $b_{h,i,j}$  είναι ο αριθμός των σημείων του περιγράμματος του  $i$ -στού πυρήνα για το αποτέλεσμα κατάτμησης  $p_h$  και το  $j$ -στο σημείο του περιγράμματος αντίστοιχα και  $d(b_{h,i,j}, F_{h,i})$  δηλώνει την απόσταση από το  $b_{h,i,j}$  στο κοντινότερο σημείο της έλλειψης  $F_{h,i}$ . Η τιμή του AFR υπολογίζεται για κάθε περιοχή της εικόνας, δηλαδή για κάθε εν δυνάμει πυρήνα, ως η μέση τιμή της απόστασης κάθε σημείου του περιγράμματος της περιοχής από το κοντινότερο σημείο της έλλειψης που έχουμε ταιριάζει σε αυτή. Η συνάρτηση εκτίμησης σφάλματος ορίζεται ως το άθροισμα των τιμών του AFR και η τιμή της εξάγεται για κάθε αποτέλεσμα κατάτμησης. Τελικά επιλέγουμε το αποτέλεσμα που αντιστοιχεί στη μικρότερη τιμή της συνάρτησης.

Ο συνολικός αλγόριθμος μπορεί να συνοψιστεί ως εξής:

---

#### **Αλγόριθμος 1** Εξαγωγή δεικτών με χρήση H-minima μετασχηματισμού

---

Εξαγωγή αντίστροφου πίνακα απόστασης και εύρεση των τοπικών ελαχίστων

Επαναληπτικά

- Εφαρμογή του H-minima μετασχηματισμού και μείωση ελαχίστων
- Εφαρμογή του μετασχηματισμού υδροκριτών
- Ταίριασμα ελλείψεων στις περιοχές που προέκυψαν στο προηγούμενο βήμα
- Εκτίμηση της τιμής της συνάρτησης σφάλματος κατάτμησης

Επιλογή της ελάχιστης τιμής της συνάρτησης

---

### 2.3. Κατάτμηση επικαλυπτόμενων πυρήνων με μοντέλα μικτών κανονικών κατανομών

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί μια χωρίς επίβλεψη τεχνική ομαδοποίησης με σκοπό να λύσει το πρόβλημα της κατάτμησης των επικαλυπτόμενων πυρήνων [9]. Η βασική ιδέα της μεθόδου είναι ότι ερμηνεύει την εικόνα απόστασης σαν τοπογραφικό διάγραμμα το οποίο προσεγγίζεται από το μοντέλο μικτών κανονικών κατανομών (Gaussian Mixture Model-GMM) [20]. Εφόσον είναι γνωστός ο τύπος των κατανομών, εφαρμόζουμε τον EM αλγόριθμο (Expectation-Maximization) [20], με σκοπό να εκτιμήσουμε τις παραμέτρους του μοντέλου. Στη συνέχεια ο δείκτης εγγύτητας κάθε αποτελέσματος χρησιμοποιείται για την εύρεση του αριθμού των πυρήνων που επικαλύπτονται. Τέλος, εφαρμόζεται μια τεχνική ανακατασκευής του περιγράμματός των πυρήνων αυτών.

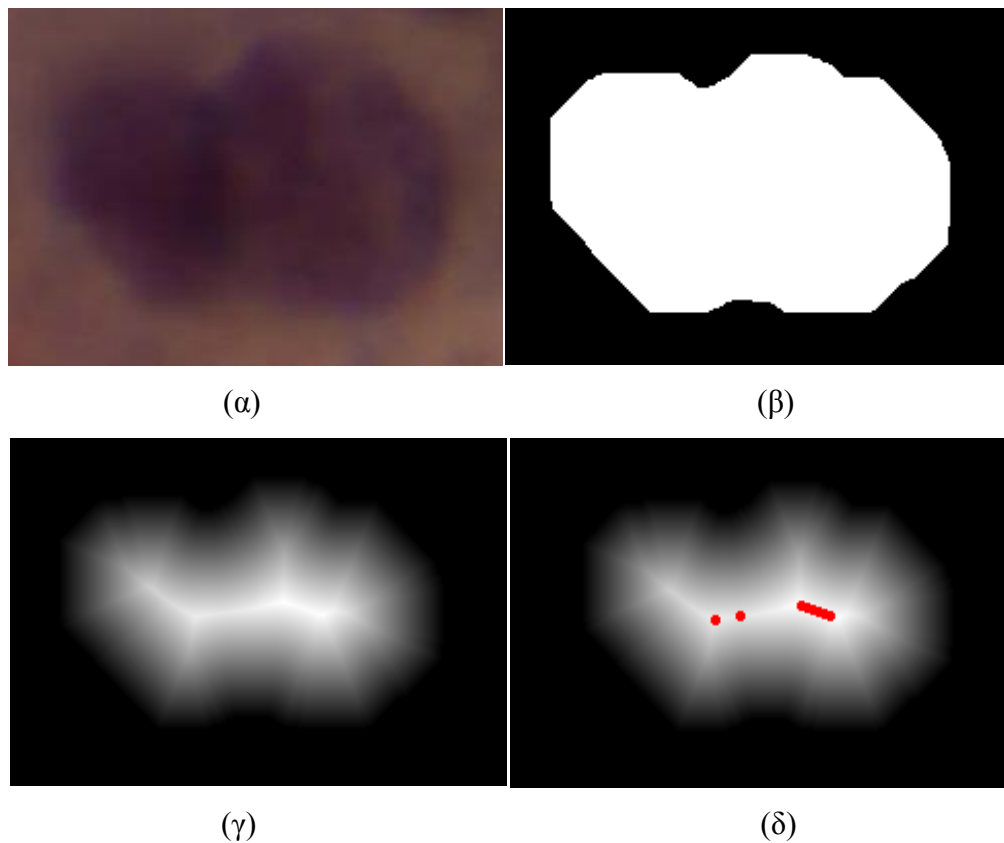
#### 2.3.1. Εξαγωγή της εικόνας απόστασης και εφαρμογή του H-maxima μετασχηματισμού

Αρχικά η εικόνα υφίσταται μια διαδικασία προεπεξεργασίας με στόχο τη μείωση του θορύβου και την εξομάλυνση του περιγράμματος, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 2.2.1. Στη συνέχεια εξάγεται η εικόνα απόστασης εφαρμόζοντας μετασχηματισμό απόστασης στην δυαδική εικόνα της αρχικής (Σχήμα 2.5(β)). Το αποτέλεσμα του μετασχηματισμού είναι μια ασπρόμαυρη εικόνα που μοιάζει με την αρχική, μόνο που το μέτρο της φωτεινότητας κάθε εικονοστοιχείου στα επίπεδα του γκρι δηλώνει την απόσταση του στοιχείου από το κοντινότερο σημείο του περιγράμματος όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.5(γ). Από την εικόνα απόστασης, βρίσκουμε τα τοπικά μέγιστα της εικόνας, που όπως βλέπουμε και στο σχήμα 2.5(δ), ο αριθμός τους ξεπερνά κατά πολύ αυτόν των πυρήνων, επομένως δεν υπάρχει 1-1 αντιστοιχία μεγίστου-πυρήνα. Στο συγκεκριμένο παράδειγμα εντοπίστηκαν εννέα τοπικά ελάχιστα ενώ στην αρχική εικόνα υπάρχουν μόλις δύο επικαλυπτόμενοι πυρήνες.

Για να αντιμετωπίσουμε αυτό το ζήτημα της μη αντιστοιχίας μεγίστου-πυρήνα, εφαρμόζουμε τον H-maxima μετασχηματισμό στην εικόνα απόστασης. Ο μετασχηματισμός αυτός καταστέλλει τα εικονοστοιχεία με ύψος μικρότερο ή ίσο της παραμέτρου  $h$  του μετασχηματισμού και μειώνει το ύψος των υπολοίπων κατά  $h$ . Όσο



η τιμή της παραμέτρου αυξάνεται, το πλήθος των τοπικών μεγίστων μειώνεται και συνεπώς μικραίνει και το πλήθος των εν δυνάμει πυρήνων.

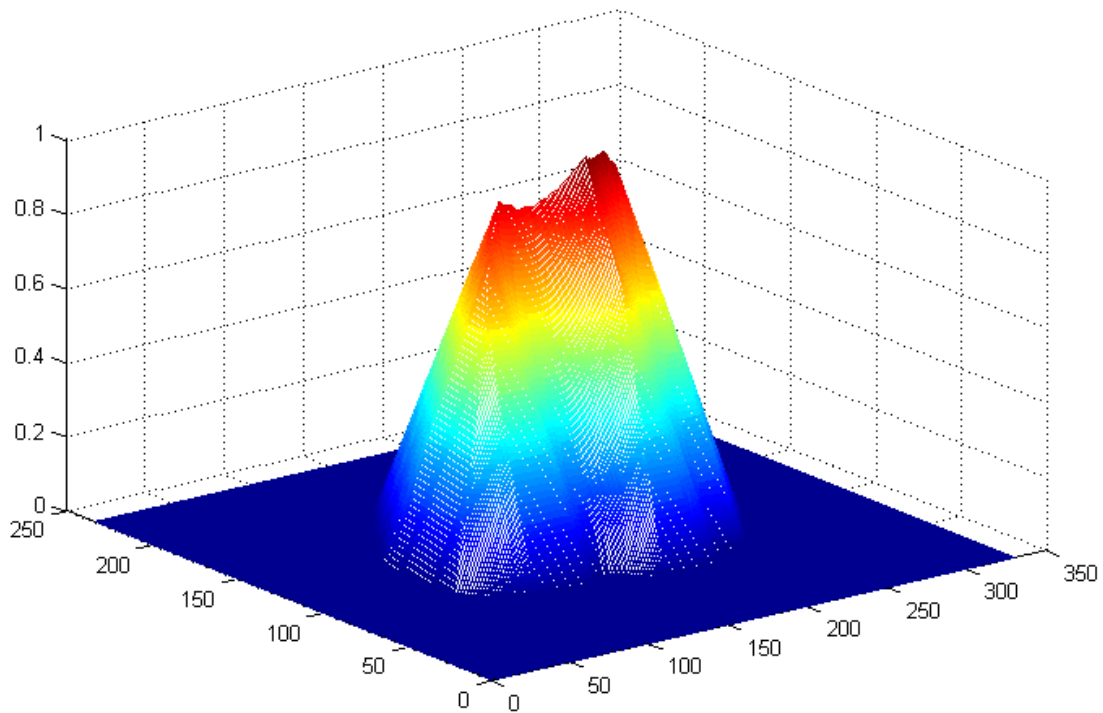


Σχήμα 2.5 Εξαγωγή εικόνας απόστασης και τοπικών μεγίστων (α) αρχική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα, (γ) εικόνα απόστασης, (δ) εικόνα απόστασης με τα τοπικά μέγιστα.

### 2.3.2. Μικτή κανονική κατανομή και ο αλγόριθμος EM

Όπως είναι φανερό και από το τοπογραφικό διάγραμμα της εικόνας απόστασης (σχήμα 2.6), η τρισδιάστατη επιφάνεια αυτή μπορεί να θεωρηθεί ως μίξη από κανονικές κατανομές οι οποίες αναλύονται και προσδιορίζονται κάνοντας χρήση τεχνικών χωρίς επίβλεψη. Το μοντέλο των μικτών κατανομών μπορεί να γραφτεί ως γραμμική υπέρθεση Gaussian κατανομών στη μορφή:

$$p(x) = \sum_{k=1}^K \pi_k \mathcal{N}(\mathbf{x} | \boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k), \quad (2.3.1)$$



Σχήμα 2.6 Τοπογραφικό διάγραμμα του χάρτη απόστασης.

όπου  $\pi_k$ ,  $\boldsymbol{\mu}_k$  και  $\boldsymbol{\Sigma}_k$  αναπαριστούν την εκ των προτέρων πιθανότητα ή βάρος, τη μέση τιμή και τον πίνακα συμμεταβλητότητας της ομάδας  $k$  αντίστοιχα. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι οι παράμετροι  $\pi_k$  πρέπει να ικανοποιούν τις εξής σχέσεις:

$$0 \leq \pi_k \leq 1,$$

$$\text{και } \sum_{k=1}^K \pi_k = 1,$$

προκειμένου να αποτελούν πιθανότητες.

Επίσης εισάγεται η παράμετρος:

$$\gamma(z_{nk}) \equiv p(z_{nk} = 1 | \mathbf{x}_n) = \frac{\pi_k N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k)}{\sum_{j=1}^K \pi_j N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_j, \boldsymbol{\Sigma}_j)}, \quad (2.3.2)$$

όπου για κάθε παρατηρούμενο δείγμα  $\mathbf{x}_n$ , η πιθανότητα  $\gamma(z_{nk})$  εκφράζει την εκ των υστέρων πιθανότητα το δείγμα αυτό να έχει παραχθεί από την  $k$  κατανομή. Η  $k$

κατανομή δηλαδή είναι υπεύθυνη με πιθανότητα  $\gamma(z_{nk})$  για τη δημιουργία του δείγματος  $\mathbf{x}_n$ , όπου  $z_{nk}$  δηλώνει την  $k$  συνιστώσα του  $z_n$ .

Από τη εξίσωση (2.3.1) η συνάρτηση πιθανοφάνειας είναι:

$$\ln p(\mathbf{X} | \boldsymbol{\pi}, \boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma}) = \sum_{n=1}^N \ln \left\{ \sum_{k=1}^K \pi_k N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k) \right\}$$

Στόχος μας είναι να μεγιστοποιήσουμε ένα κάτω φράγμα της συνάρτησης πιθανοφάνειας και αυτό είναι εφικτό με τη χρήση του αλγορίθμου EM (Expectation-Maximization) [20].

Ο αλγόριθμος EM συνοψίζεται ως εξής:

Αρχικοποίηση των τιμών των μεταβλητών  $\boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k, \pi_k$

Επαναληπτικά:

**E-step.** Εκτίμηση των εκ των υστέρων πιθανοτήτων

$$\gamma(z_{nk}) = \frac{\pi_k N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k)}{\sum_{j=1}^K \pi_j N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_j, \boldsymbol{\Sigma}_j)}$$

**M-step.** Εκτίμηση των παραμέτρων των κανονικών κατανομών χρησιμοποιώντας τις τρέχουσες τιμές των  $\gamma(z_{nk})$  που υπολογίστηκαν στο E-step:

$$\begin{aligned} \boldsymbol{\mu}_k^{new} &= \frac{1}{N_k} \sum_{n=1}^N \gamma(z_{nk}) \mathbf{x}_n \\ \boldsymbol{\Sigma}_k^{new} &= \frac{1}{N_k} \sum_{n=1}^N \gamma(z_{nk}) (\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_k^{new})(\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_k^{new})^T \\ \pi_k^{new} &= \frac{N_k}{N}, \\ N_k &= \sum_{n=1}^N \gamma(z_{nk}). \end{aligned}$$

Υπολογισμός της συνάρτησης πιθανοφάνειας

$$\ln p(\mathbf{X} | \boldsymbol{\pi}, \boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma}) = \sum_{n=1}^N \ln \left\{ \sum_{k=1}^K \pi_k N(\mathbf{x}_n | \boldsymbol{\mu}_k, \boldsymbol{\Sigma}_k) \right\}$$

και έλεγχος για σύγκλιση της τιμής της σε σχέση με την προηγούμενη τιμή.

Έτσι, κάνουμε χρήση του παραμετρικού αλγορίθμου EM προκειμένου να εκτιμήσουμε το μοντέλο των κανονικών κατανομών, να υπολογίσουμε δηλαδή τις τιμές των  $\mu^{new}$ ,  $\Sigma^{new}$ ,  $\pi^{new}$ . Στον αλγόριθμο EM πρέπει να δοθούν 2 παράμετροι ως είσοδος: τα δεδομένα και ο αριθμός των ομάδων.

Όσον αφορά στην πρώτη παράμετρο του EM, δείγματα αποτελούν όλα τα εικονοστοιχεία που αντιστοιχούν στην περιοχή των επικαλυπτόμενων πυρήνων, δηλαδή κάθε εικονοστοιχείο που στην εικόνα απόστασης έχει τιμή μεγαλύτερη του μηδέν. Γνωρίζοντας ότι η τιμή της φωτεινότητας κάθε εικονοστοιχείου αντιστοιχεί στην απόσταση  $d$  του σημείου αυτού από το υπόβαθρο στο τοπογραφικό διάγραμμα, θεωρούμε ότι το δείγμα αυτό παρατηρείται  $d$  φορές και με τον τρόπο αυτό συσχετίζουμε τη τρισδιάστατη επιφάνεια με την εικόνα απόστασης. Δηλαδή αν  $\mathbf{x}_i$  ένα δείγμα και  $\lambda$  ο αριθμός των δειγμάτων, των σημείων δηλαδή που βρίσκονται στην περιοχή επικάλυψης, ο συνολικός αριθμός των ανεξάρτητων δειγμάτων είναι [9]

$$N = \sum_{i=1}^{\lambda} d(\mathbf{x}_i).$$

Ο αριθμός των ομάδων-κατανομών στις οποίες θα ομαδοποιηθούν τα δείγματα αυτά προσδιορίζεται από τον αριθμό των τοπικών μεγίστων. Ο αλγόριθμος σε κάθε επανάληψη εφαρμόζει τον μετασχηματισμό H-maxima με αποτέλεσμα να μειώνεται συνεχώς το πλήθος των τοπικών μεγίστων και κατά συνέπεια ο αλγόριθμος EM να ομαδοποιεί τα δείγματα σε λιγότερες ομάδες σε κάθε επανάληψη του αλγορίθμου.

Η εφαρμογή του αλγορίθμου EM έχει ως αποτέλεσμα την ομαδοποίηση των στοιχείων σε τόσες ομάδες ίσες με τον αριθμό των επικαλυπτόμενων πυρήνων όπως βλέπουμε και στο Σχήμα 2.7 και στην εκτίμηση των παραμέτρων  $\mu^{new}$ ,  $\Sigma^{new}$ ,  $\pi^{new}$  της κάθε ομάδας.



Σχήμα 2.7 Κατάτμηση των επικαλυπτόμενων πυρήνων σε δύο ομάδες.

Τέλος, αξιολογούμε τα αποτελέσματα του EM χρησιμοποιώντας τον δείκτη εγγύτητας κάθε ομάδας ώστε να εκτιμήσουμε τον αριθμό των επικαλυπτόμενων πυρήνων. Ο δείκτης εγγύτητας  $V$  εξαρτάται από τον διαχωρισμό και τη συνεκτικότητα κάθε πυρήνα [9]. Συγκεκριμένα:

$$V = \frac{\varepsilon}{\phi},$$

όπου  $\varepsilon$  και  $\phi$  αντιστοιχούν στον διαχωρισμό και τη συνεκτικότητα. Ο διαχωρισμός  $\varepsilon$  δίνεται από:

$$\varepsilon = \text{trace}(\mathbf{S}),$$

όπου  $\mathbf{S}$  δηλώνει το σταθμισμένο πίνακα διασποράς ανάμεσα στις ομάδες και ορίζεται ως

$$\mathbf{S} = \sum_{k=1}^K \sum_{n=1}^N \gamma(z_{nk}) (\boldsymbol{\mu}_k - \boldsymbol{\mu}_d) (\boldsymbol{\mu}_k - \boldsymbol{\mu}_d)^T,$$

όπου  $\gamma(z_{nk})$  είναι η εκ των υστέρων πιθανότητα,  $K$  είναι ο συνολικός αριθμός πυρήνων και  $N$  ο συνολικός αριθμός δειγμάτων. Τα  $\boldsymbol{\mu}_k$  και  $\boldsymbol{\mu}_d$  δηλώνουν το κέντρο της  $k$ -στης ομάδας και το κέντρο των συνολικών παρατηρούμενων δειγμάτων αντίστοιχα. Η συνεκτικότητα δίνεται από τη σχέση:

$$\phi = \sum_{k=1}^K \text{trace}(\boldsymbol{\Sigma}_k),$$

όπου  $\boldsymbol{\Sigma}_k$  δηλώνει τον κανονικοποιημένο πίνακα συμμεταβλητότητας. Ο  $\boldsymbol{\Sigma}_k$  ορίζεται από τον τύπο:

$$\boldsymbol{\Sigma}_k = \frac{\sum_{n=1}^N \gamma(z_{nk}) (\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_k) (\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_k)^t}{\sum_{k=1}^K \gamma(z_{nk})}.$$

Τέλος, επιλέγουμε το αποτέλεσμα κατάτμησης με την μέγιστη τιμή εγγύτητας. Μια συνοπτική περιγραφή του αλγορίθμου είναι η εξής:

---

### **Αλγόριθμος 2** Διαδικασία αξιολόγησης των ομάδων

---

Εξαγωγή εικόνας απόστασης και εύρεση των τοπικών μεγίστων

Επαναληπτικά

-Εφαρμογή του H-maxima μετασχηματισμού και μείωση τοπικών μεγίστων

-Εφαρμογή του αλγορίθμου EM (ομαδοποίηση σε ομάδες ίσες με τον αριθμό τοπικών μεγίστων του προηγούμενου βήματος)

-Εκτίμηση της τιμής της εγγύτητας του αποτελέσματος κατάτμησης.

Επιλογή της μέγιστης τιμής της εγγύτητας

---

#### *2.3.3. Ανακατασκευή περιγράμματος πυρήνων*

Στα προηγούμενα βήματα του αλγορίθμου πραγματοποιήθηκε ο διαχωρισμός των σημείων της περιοχής των πυρήνων σε ομάδες και η εξαγωγή του εξωτερικού περιγράμματος κάθε πυρήνα. Προκειμένου να υπολογίσουμε το τμήμα του ορίου των πυρήνων που αντιστοιχεί στην περιοχή της επικάλυψης, συνεχίζουμε με την αντιστοίχιση ελλείψεων στα εξωτερικά όρια που ήδη γνωρίζουμε, κάνοντας χρήση της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων [19]. Έπειτα στο τμήμα του εξωτερικού ορίου ενώνουμε το κομμάτι της έλλειψης που αντιστοιχεί στο τμήμα εκείνο που υπολείπεται, όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.7.

#### **2.4. Διαχωρισμός πυρήνων χρησιμοποιώντας πληροφορία περιγράμματος και σημεία καμπής**

Η μέθοδος αυτή εστιάζει στη γεωμετρία του περιγράμματος της περιοχής των επικαλυπτόμενων πυρήνων και πραγματοποιεί την κατάτμηση τους βασιζόμενη στην εύρεση των σημείων καμπής και στο ταίριασμα ελλείψεων σε κάθε τμήμα του περιγράμματος [14]. Ο αλγόριθμος περιλαμβάνει δύο μέρη: την προεπεξεργασία

περιγράμματος και την επεξεργασία των ελλείψεων. Η προεπεξεργασία περιγράμματος χρησιμοποιείται για την εξομάλυνση των διακυμάνσεων του περιγράμματος, την εύρεση των σημείων καμπής και τη διαίρεση του περιγράμματος με βάση τα σημεία καμπής. Σκοπός της επεξεργασίας ελλείψεων είναι το ταίριασμα ελλείψεων σε κάθε τμήμα του περιγράμματος το οποίο θεωρείται πιθανός μεμονωμένος πυρήνας.

#### 2.4.1. Προεπεξεργασία περιγράμματος και ανίχνευση των σημείων καμπής

Αρχικά η εικόνα υφίσταται προεπεξεργασία με στόχο τη μείωση του θορύβου και την εξομάλυνση του περιγράμματος, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 2.2.1. Έπειτα, συνεχίζουμε με την ανίχνευση των σημείων καμπής στο εξομαλυμένο περίγραμμα που προέκυψε από την επεξεργασία που προηγήθηκε. Ας θεωρήσουμε ότι το  $p_c(x_c, y_c)$  αντιπροσωπεύει ένα σημείο του περιγράμματος των επικαλυπτόμενων πυρήνων και τα  $p_{pre}(x_{pre}, y_{pre})$  και  $p_{next}(x_{next}, y_{next})$  είναι το προηγούμενο και επόμενο σημείο του  $p_c$  πάνω στο όριο αντίστοιχα. Τότε, η καμπυλότητα (concavity) του περιγράμματος στο σημείο  $p_c$  μπορεί να υπολογιστεί ως εξής:

$$concavity(p_c) = \begin{cases} |a(p_{pre}, p_c) - a(p_{next}, p_c)|, & \text{if } |a(p_{pre}, p_c) - a(p_{next}, p_c)| < \pi \\ \pi - |a(p_{pre}, p_c) - a(p_{next}, p_c)|, & \text{else} \end{cases},$$

όπου

$$a(p_{pre}, p_c) = \tan^{-1}(y_{pre} - y_c)/(x_{pre} - x_c)$$

και

$$a(p_{next}, p_c) = \tan^{-1}(y_{next} - y_c)/(x_{next} - x_c).$$

Δηλαδή η  $a(p_{pre}, p_c)$  είναι η κλίση του ευθύγραμμου τμήματος  $\overline{p_{pre}p_c}$ ,  $a(p_{next}, p_c)$  είναι η κλίση του τμήματος  $\overline{p_{next}p_c}$  και  $concavity(p_c)$  είναι η γωνία που ορίζεται από τις ευθείες  $\overline{p_{pre}p_c}$  και  $\overline{p_{next}p_c}$ . Για να θεωρηθεί το σημείο  $p_c$  σημείο καμπής θα πρέπει να ισχύουν οι παρακάτω περιορισμοί:

1.  $a_1 < concavity(p_c) < a_2$
2. η γραμμή  $\overline{p_{next}p_{pre}}$  να μην διέρχεται μέσα από την περιοχή των πυρήνων.

Σύμφωνα με τον πρώτο κανόνα, για να θεωρηθεί το σημείο ως πιθανό σημείο καμπής, θα πρέπει η καμπυλότητα του σημείου αυτού να παίρνει τιμές στο διάστημα  $[a_1, a_2]$ . Τα  $a_1$  και  $a_2$  είναι προκαθορισμένα κατώφλια των οποίων η τιμή υπολογίζεται με τη χρήση αλγορίθμων εκπαίδευσης ή βασίζεται σε εκ των προτέρων γνώση. Ωστόσο, εξαιτίας πιθανών διακυμάνσεων του περιγράμματος, ενδέχεται η τιμή της καμπυλότητας κάποιου σημείου να ανήκει στο προκαθορισμένο εύρος αλλά το σημείο αυτό να μην αποτελεί πραγματικό σημείο καμπής. Προκειμένου να αποφύγουμε λανθασμένες εκτιμήσεις, εισάγουμε και τον δεύτερο κανόνα .

#### 2.4.2. Επεξεργασία των ελλείψεων

Αφού έχουμε χωρίσει το περίγραμμα των πυρήνων σε διαφορετικά τμήματα που οριοθετούνται από τα σημεία καμπής, συνεχίζουμε με το ταίριασμα ελλείψεων σε κάθε τμήμα με τη χρήση του αλγορίθμου ελαχίστων τετραγώνων όπως φαίνεται και στο σχήμα 2.8. Έπειτα περνάμε στη διαδικασία διαλογής των ελλείψεων αυτών που αντιστοιχούν σε κάθε τμήμα του περιγράμματος. Για τη διαδικασία αυτή εφαρμόζονται οι εξής κανόνες :

α) υπολογίζεται η ελάχιστη απόσταση κάθε σημείου του περιγράμματος από την αντίστοιχη έλλειψη. Αν η απόσταση αυτή είναι μεγαλύτερη από ένα προκαθορισμένο κατώφλι, η έλλειψη απομακρύνεται.

β) υπολογίζεται ο λόγος του μικρού άξονα προς τον μεγάλο άξονα της έλλειψης. Αν το μέτρο του λόγου αυτού, το οποίο παίρνει τιμές στο διάστημα  $(0,1]$ , είναι μικρότερο από ένα προκαθορισμένο κατώφλι, η αντίστοιχη έλλειψη αφαιρείται. Ο κανόνας αυτός βασίζεται στην εκ των προτέρων γνώση του σχήματος των πυρήνων το οποίο προσεγγίζει το ωοειδές, οπότε δεν αναμένουμε πυρήνες εξαιρετικά λεπτούς.

Εάν η έλλειψη δεν ικανοποιεί τους παραπάνω κανόνες, το αντίστοιχο τμήμα απομακρύνεται από το σύνολο των υποψήφιων ελλείψεων για τη διαδικασία του συνδυασμού ελλείψεων και επεξεργάζεται στο τελικό βήμα της. Έτσι, αφού ολοκληρωθεί η διαλογή των ελλείψεων, οι ελλείψεις που έχουν επιλεγεί ταιριάζουν καλά στα αντίστοιχα τμήματα περιγράμματος και θεωρούνται υποψήφιες ελλείψεις



για τη διαδικασία του συνδυασμού των ελλείψεων. Στο σημείο αυτό να σημειώσουμε ότι για τη συγκεκριμένη εικόνα καμία έλλειψη δεν απορρίφθηκε κατά τη διαδικασία της διαλογής.



Σχήμα 2.8 Περίγραμμα επικαλυπτόμενων πυρήνων με σημεία καμπής και ταίριασμα ελλείψεων (α) αρχική εικόνα με το περίγραμμα των επικαλυπτόμενων πυρήνων και τα σημεία καμπής, (β) οι ελλείψεις που ταιριάζουν στα τμήματα στα οποία έχει διαιρεθεί το περίγραμμα με τη βοήθεια των σημείων καμπής.

Κάποιες από τις ελλείψεις που επιλέχθηκαν στο προηγούμενο βήμα του αλγορίθμου πιθανόν να ανήκουν στον ίδιο πυρήνα. Για το λόγο αυτό συνδυάζουμε τα τμήματα του περιγράμματος που αντιστοιχούν στις ελλείψεις αυτές ανά 2, ταιριάζουμε στο καινούργιο μεγαλύτερο τμήμα μια καινούργια έλλειψη και σύμφωνα με τους δύο κανόνες που προηγήθηκαν, αποφασίζουμε για το αν η νέα έλλειψη είναι αποδεκτή. Εάν η καινούργια έλλειψη δεν είναι αποδεκτή, απορρίπτεται, ενώ στην περίπτωση που ικανοποιεί τους κανόνες ακολουθεί η εξής διαδικασία διαλογής:

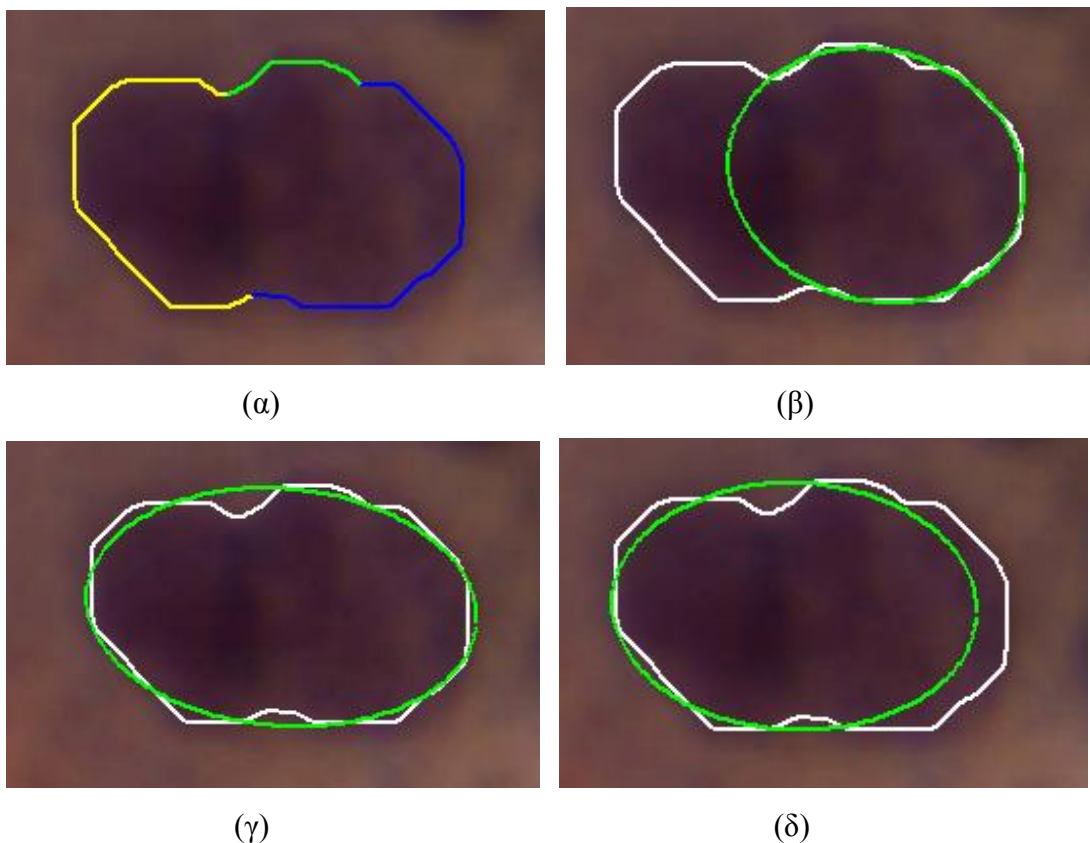
α) Αν η απόσταση ανάμεσα στο κέντρο της νέας έλλειψης και στα κέντρα των δύο προηγούμενων ελλείψεων είναι μεγαλύτερη από το κατώφλι, σημαίνει ότι αφορά πυρήνες οι οποίοι δεν επικαλύπτονται και απλά βρίσκονται σε επαφή. Άρα δεν θα πρέπει να συνδυαστούν.

β) Αν η απόσταση ανάμεσα στα κέντρα των δύο προηγούμενων ελλείψεων είναι αρκετά μεγάλη, οι ελλείψεις αυτές δεν θα πρέπει να συνδυαστούν.

Με τον τρόπο αυτό αποφεύγουμε σε συνενώσουμε ελλείψεις που ανήκουν σε διαφορετικούς πυρήνες. Για την περίπτωση όμως που οι ελλείψεις ανήκουν στον ίδιο πυρήνα, υπολογίζουμε το μέσο σφάλμα ταιριάσματος της καινούργιας έλλειψης και

το συγκρίνουμε με τα μέσα σφάλματα των προηγούμενων ελλείψεων. Αν οι ελλείψεις αυτές ανήκουν στον ίδιο πυρήνα, τα τιμές των μέσων σφαλμάτων ταιριάσματος σχεδόν συμπίπτουν.

Στο σχήμα 2.9 βλέπουμε τις ελλείψεις που αντιστοιχούν σε κάθε συνδυασμό των τμημάτων του περιγράμματος. Η ελλείψεις των σχημάτων 2.9(γ) και 2.9(δ) ικανοποιούσαν τα παραπάνω κριτήρια με αποτέλεσμα να μη συνδυαστούν. Αντίθετα, το μέσο σφάλμα αντιστοίχισης της έλλειψης στο σχήμα 2.9(β) ήταν ίσο με το σφάλμα των ελλείψεων που αντιστοιχούν στο πράσινο και μπλε τμήμα περιγράμματος του σχήματος 2.9(α), με αποτέλεσμα να παραμείνει.



Σχήμα 2.9 Υποψήφιες ελλείψεις (α) τα 3 διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος, (β) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του πράσινου και μπλε τμήματος, (γ) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του κίτρινου και του μπλε τμήματος και (δ) η έλλειψη που προκύπτει από τον συνδυασμό του κίτρινου και πράσινου τμήματος.

Τέλος, περνάμε στο στάδιο της επεξεργασίας των ελλείψεων που είχαμε απομακρύνει κατά την παραπάνω διαδικασία. Τα τμήματα του περιγράμματος τα οποία αντιστοιχούν στις ελλείψεις που απορρίπτονται, έχουν συνήθως μικρό αριθμό σημείων με αποτέλεσμα οι ελλείψεις να μη μπορούν να ταιριάξουν καλά και να είναι είτε πολύ μικρές είτε πολύ μεγάλες ή πολύ επιμήκεις. Όμως τα τμήματα αυτά είναι μέρος του περιγράμματος των επικαλυπτόμενων πυρήνων, άρα θα πρέπει να τα επεξεργαστούμε ώστε να τα εντάξουμε σε κάποιον από τους πυρήνες. Έτσι, κάθε ένα από τα τμήματα συνδυάζεται με κάθε τμήμα που αντιστοιχεί στις επιλεγμένες ελλείψεις και προκύπτουν καινούργιες ελλείψεις. Στη συνέχεια υπολογίζεται το σφάλμα ταιριάσματος της κάθε νέας έλλειψης με το περίγραμμα. Το τμήμα με το μικρότερο σφάλμα είναι το τμήμα στο οποίο ανήκει το αρχικά απορριφθέν κομμάτι το περιγράμματος. Μια συνοπτική περιγραφή του αλγορίθμου είναι η εξής:

---

### **Αλγόριθμος 3** Διαδικασία επιλογής ελλείψεων

---

Προεπεξεργασία εικόνας και εξαγωγή σημείων καμπής.

Ταίριασμα ελλείψεων σε κάθε τμήμα του περιγράμματος που οριοθετείται από τα σημεία καμπής.

Απόρριψη των ελλείψεων που δεν ικανοποιούν τα κριτήρια ελάχιστης απόστασης και λόγου μικρού προς μεγάλο άξονα.

Συγχώνευση των υπόλοιπων ελλείψεων ανά 2 και εφαρμογή κριτηρίων απόφασης για την επιλογή ή μη της καινούργιας έλλειψης.

Συγχώνευση κάθε έλλειψης που απορρίφθηκε στο βήμα 3 με μια από τις ελλείψεις που προέκυψαν από το βήμα 4.

---

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ ΚΑΘΟΓΗΓΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥΣ ΣΗΜΕΙΩΝ ΚΑΜΠΗΣ**

---

3.1 Εντοπισμός των ισχυρών σημείων καμπής κατά μήκος του συνολικού ορίου της συστάδας των πυρήνων

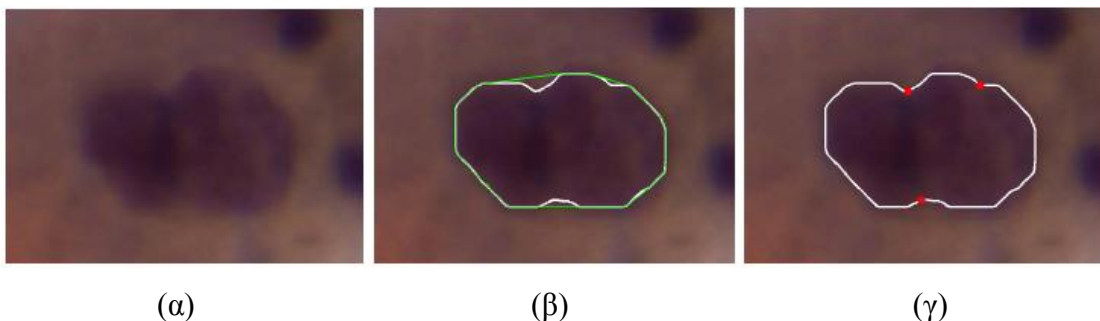
3.2 Προσδιορισμός των επικαλυπτόμενων πυρήνων

---

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται μια καινούργια μέθοδος για τον ακριβή διαχωρισμό των επικαλυπτόμενων πυρήνων σε εικόνες μικροσκοπίου. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην πληροφορία που παρέχεται από το συνολικό όριο της συστάδας των πυρήνων καθώς και στον προσδιορισμό των σημείων καμπής αυτού του ορίου. Ο αριθμός των πυρήνων και η περιοχή που καταλαμβάνει ο κάθε πυρήνας υπολογίζονται αυτόματα εκμεταλλευόμενοι τα διαφορετικά τμήματα του περιγράμματος της συστάδας που οριοθετούνται από τα σημεία καμπής. Η χρήση μιας παραμέτρου που αξιολογεί το καλύτερο ταίριασμα των ελλείψεων, εξασφαλίζει τον προσδιορισμό κάθε ξεχωριστού πυρήνα.

### 3.1. Εντοπισμός των ισχυρών σημείων καμπής κατά μήκος του συνολικού ορίου της συστάδας των πυρήνων

Αρχικά εκτελείται μια διαδικασία προεπεξεργασίας στην αρχική εικόνα με σκοπό τη μείωση των επιδράσεων του θορύβου. Έτσι ένα Gaussian φίλτρο εφαρμόζεται στην εικόνα κλίμακας του γκρι που προκύπτει από την αρχική εικόνα. Στη συνέχεια, η καταφλίωση της εικόνας με τη μέθοδο του Otsu [18] έχει ως αποτέλεσμα την εξαγωγή της δυαδικής εικόνας και του συνολικού περιγράμματος της περιοχής των επικαλυπτόμενων πυρήνων, όπως βλέπουμε και στο σχήμα 3.1(β). Αυτή αποτελεί μια πολύ απλή και αποτελεσματική τεχνική, ειδικά για εφαρμογές πραγματικού χρόνου, δεδομένου ότι οι πυρήνες είναι πιο σκούροι από το φόντο, ώστε ένα ολικό κατώφλι να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει αυτά τα διακριτά τμήματα της εικόνας. Τέλος, άνοιγμα από ανακατασκευή (opening by reconstruction) και κλείσιμο από ανακατασκευή (closing by reconstruction) εκτελούνται διαδοχικά με σκοπό να παρέχουν ένα ομαλότερο όριο της συστάδας των πυρήνων.



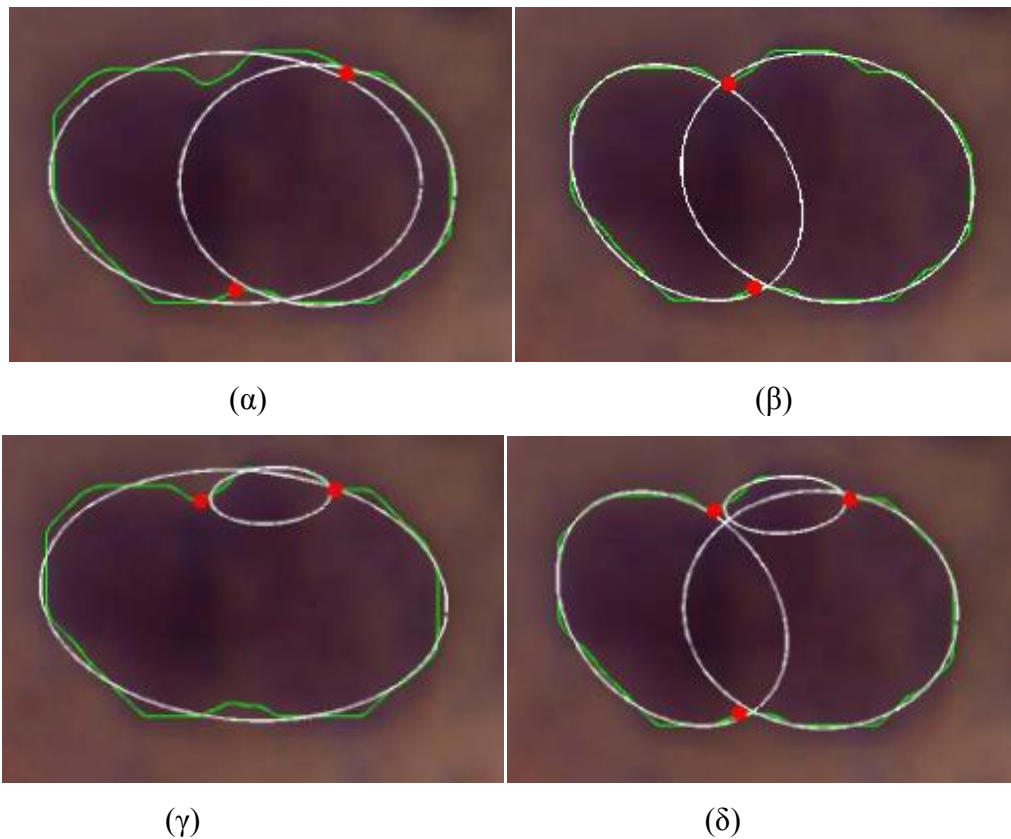
Σχήμα 3.1 Περίγραμμα συστάδας πυρήνων και σημεία καμπής (α) αρχική εικόνα, (β) το όριο της συστάδας των πυρήνων (σε άσπρο) μαζί με κυρτό περίβλημα (σε πράσινο), (γ) τα σημεία καμπής.

Στη ιδανική περίπτωση, το συνολικό όριο της συστάδας των πυρήνων θα μπορούσε να θεωρηθεί ως συνένωση τμημάτων ελλείψεων, καθώς το σχήμα κάθε πυρήνα είναι ελλειπτικό. Έτσι, κάθε σημείο καμπής θα δείχνει τη θέση της επικάλυψης δύο μεμονωμένων πυρήνων. Ωστόσο, η ύπαρξη θορύβου και παρασίτων που εισάγονται από την ανομοιόμορφη χρώση των κυττάρων, έχει ως αποτέλεσμα την ανίχνευση περισσότερων σημείων καμπής κατά μήκος του ορίου του συμπλέγματος των πυρήνων. Αυτά τα σημεία καμπής ανήκουν στο περίγραμμα μεμονωμένων πυρήνων

και η παρουσία τους οφείλεται στην ανίχνευση ανώμαλων περιοχών στο όριο των πυρήνων. Για τον εντοπισμό του συνόλου των σημείων καμπής, πρώτα υπολογίζουμε την κυρτό περίβλημα του ολικού περιγράμματος των πυρήνων, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.1(β). Στη συνέχεια, για κάθε ευθύγραμμο τμήμα του κυρτού περιβλήματος που δεν ανήκει στο συνολικό όριο, βρίσκουμε τα σημεία εκείνα του ορίου τα οποία απέχουν τη μεγαλύτερη απόσταση από το κυρτό περίβλημα. Για το παράδειγμα μας, τα σημεία αυτά παρουσιάζονται στο σχήμα 3.1(γ). Για να εντοπίσουμε τα ισχυρά σημεία καμπής, θεωρούμε ένα συγκεκριμένο σημείο του περιγράμματος ως σημείο καμπής μόνο στην περίπτωση που η απόσταση του από το κυρτό περίβλημα είναι μεγαλύτερη από κάποιον αριθμό εικονοστοιχείων (π.χ. 3 εικονοστοιχεία για τα πειράματα που παρουσιάζονται εδώ σε εικόνες τεστ Παπανικολάου), διαφορετικά απορρίπτουμε αυτό το σημείο. Με τον τρόπο αυτό, αποφεύγουμε να επεξεργαστούμε σημεία κοντά στο κυρτό περίβλημα καθώς είναι πιθανό να προκύπτουν από την ανομοιογένεια της εικόνας.

### **3.2. Προσδιορισμός των επικαλυπτόμενων πυρήνων**

Τα σημεία καμπής που έχουν ανιχνευτεί χρησιμοποιούνται για τη διαίρεση του συνολικού ορίου σε διαφορετικά μέρη. Κάθε πιθανός συνδυασμός σημείων καμπής χωρίζει το ολικό περίγραμμα σε ανεξάρτητα τμήματα. Αυτά τα τμήματα αποτελούν υποψήφια όρια για κάθε πυρήνα που ανήκει στη συστάδα. Όπως μπορούμε να δούμε στο σχήμα 3.2(β), μόνο ένα ζεύγος σημείων καμπής παρέχει τον σωστό διαχωρισμό του ορίου κάθε πυρήνα. Για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων ορίων κάθε πυρήνα, εφαρμόζουμε αντιστοιχία ελλείψεων σε κάθε ένα τμήμα του ολικού περιγράμματος. Το περίγραμμα της συστάδας των πυρήνων περιέχει τμήματα του ορίου κάθε ξεχωριστού πυρήνα. Αναμένουμε ότι τα όρια αυτά μοιάζουν με ελλειψοειδή, όπως το πραγματικό σχήμα του πυρήνα [8,9,14]. Για το λόγο αυτό, συνεχίζουμε με την προσέγγιση κάθε τμήματος του περιγράμματος από μια έλλειψη της οποίας οι παράμετροι λαμβάνονται κάνοντας χρήση του αλγορίθμου ελαχίστων τετραγώνων [19].



Σχήμα 3.2 Υποψήφιες λύσεις για διαφορετικούς συνδυασμούς σημείων καμπής (α) – (γ) Τα ζεύγη των σημείων καμπής και οι ελλείψεις που αντιστοιχούν στα τμήματα του περιγράμματος, το βέλτιστο αποτέλεσμα φαίνεται στο (β), (δ) το αποτέλεσμα της διαίρεσης του συνολικού ορίου σε 3 τμήματα υποθέτοντας την ύπαρξη τριών πυρήνων.

Ο αριθμός των διάφορων συνδυασμών των υποψήφιων ελλείψεων που ταιριάζουν στο περίγραμμα εξαρτάται από τον αριθμό των ανιχνευμένων σημείων καμπής. Πιο συγκεκριμένα, για  $N$  σημεία καμπής, ο αριθμός των υποψήφιων ελλείψεων κατά μήκος του ορίου δίνεται από την σχέση

$$C_m^N = \binom{N}{m} = \frac{N!}{m!(N-m)!}, \quad (3.1)$$

όπου  $m$  ανήκει στο διάστημα  $[2, N]$ . Κατά συνέπεια, σε εικόνες που περιέχουν θόρυβο ή το περίγραμμα της συστάδας δεν είναι εξομαλυμένο, η ανίχνευση πολλών σημείων καμπής θα οδηγήσει στον υπολογισμό μεγάλου αριθμού ελλείψεων καθώς ο συνολικός αριθμός των υποψήφιων ελλείψεων είναι:  $\sum_{m=1}^N C_m^N$ .

Παρ' όλα αυτά, μόνο ένας συνδυασμός των ελλείψεων αυτών αντιστοιχεί στα πραγματικά περιγράμματα των πυρήνων. Οι ελλείψεις αυτές επιλέγονται χρησιμοποιώντας την τιμή μιας συνάρτησης εκτίμησης σφάλματος η οποία μετρά την μέσο σφάλμα αντιστοίχισης AFR (Average Fitting Residual) [8], κάθε σημείου του περιγράμματος με την αντίστοιχη έλλειψη.

Έστω ότι  $B_{(m,N)}^j = \{b_{(m,N)}^{j1}, b_{(m,N)}^{j2}, \dots\}$  είναι η κατάτμηση του περιγράμματος που αντιστοιχεί στον  $j$ -στο από τους  $C_m^N$  συνδυασμούς των σημείων καμπής. Ας θεωρήσουμε ότι  $E_{(m,N)}^j = \{e_{(m,N)}^{j1}, e_{(m,N)}^{j2}, \dots\}$  δηλώνει το αντίστοιχο σετ ελλείψεων που ταιριάζει στα τμήματα του περιγράμματος. Τότε, το ακόλουθο μέτρο ανάμεσα σε μια δεδομένη κατάτμηση του ορίου και στις αντίστοιχες ελλείψεις το οποίο ενσωματώνει τα σημεία εκείνα του ορίου που δεν συμπίπτουν με σημεία των ελλείψεων είναι

$$D(B_{(m,N)}^j, E_{(m,N)}^j) = \sum_i r(b_{(m,N)}^{ji}, e_{(m,N)}^{ji}) \quad (3.2)$$

όπου το  $r$  αντιπροσωπεύει την απόσταση ανάμεσα σε κάθε σημείο κάθε τμήματος του περιγράμματος με το κοντινότερο σημείο της έλλειψης που αντιστοιχεί στο τμήμα στο οποίο ανήκει. Η βέλτιστη κατάτμηση επιτυγχάνεται με τον συνδυασμό των σημείων καμπής που ελαχιστοποιούν την εξίσωση 3.2. Ο συνολικός αλγόριθμος μπορεί να συνοψιστεί ως εξής:

---

#### **Αλγόριθμος 4** Ανίχνευση σημείων καμπής και ταίριασμα ελλείψεων

---

-Εξαγωγή του περιγράμματος της συστάδας των πυρήνων.

-Ανίχνευση των σημείων καμπής του περιγράμματος.

-Για κάθε συνδυασμό σημείων καμπής

-Αντιστοίχιση ελλείψεων στα τμήματα του περιγράμματος που προσδιορίζονται από τα σημεία καμπής και υπολογισμός του μέσου σφάλματος.

-Επιλογή του σετ των ελλείψεων με το ελάχιστο σφάλμα.

---

Στο σχήμα 3.2 μπορούμε να παρατηρήσουμε τα αποτελέσματα της μεθόδου σε μια εικόνα που περιέχει συστάδα πυρήνων. Για την συγκεκριμένη εικόνα, ανιχνεύθηκαν 3 σημεία καμπής στο ολικό περίγραμμα, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.1(γ). Ο



συνδυασμός αυτών των σημείων καμπής ανά 2, έχει ως αποτέλεσμα τη διαίρεση του περιγράμματος με 3 διαφορετικούς τρόπους, όπως βλέπουμε και στα σχήματα 3.2(α, β, γ). Σε κάθε περίπτωση, το περίγραμμα χωρίζεται σε 2 μέρη. Μετά την αντιστοίχιση των ελλείψεων, οι ελλείψεις που προκύπτουν απεικονίζονται και υπολογίζεται η τιμή της συνάρτησης  $D$  (3.2) η οποία για την πρώτη, δεύτερη και τρίτη περίπτωση είναι 5.7851, 2.9294 και 4.4811 αντίστοιχα. Επιπλέον, στο σχήμα 3.2.1(δ) απεικονίζεται το αποτέλεσμα του συνδυασμού τριών σημείων καμπής και η αντίστοιχη τιμή της συνάρτησης είναι 3.6889. Έτσι, η δεύτερη περίπτωση στο σχήμα 3.2.1(β) είναι η βέλτιστη, όπως και είναι αναμενόμενο από μια απλή οπτική επιθεώρηση.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

---

### 4.1 Σύγκριση μεθόδων και αποτελέσματα

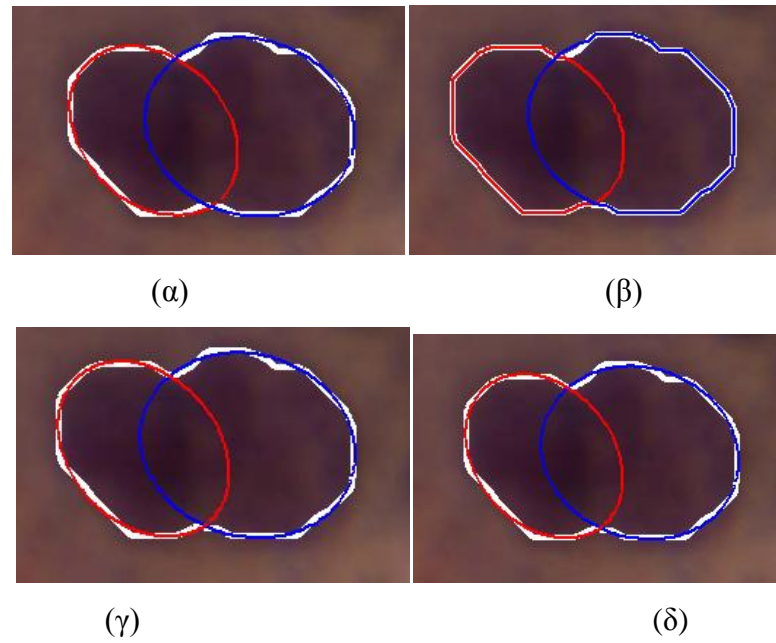
### 4.2 Προτεινόμενη μέθοδος και αποτελέσματα

---

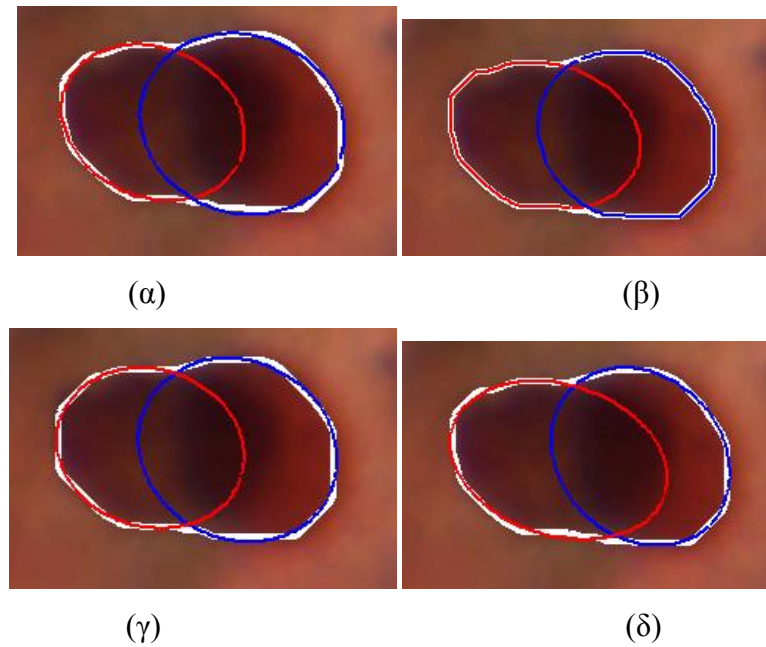
Οι μέθοδοι που περιγράφηκαν αναλυτικά στο κεφάλαιο 3 αξιολογήθηκαν σε ένα σύνολο δεδομένων από 30 εικόνες τραχηλικού επιχρίσματος που περιέχουν επικαλυπτόμενους πυρήνες. Ο αριθμός των πυρήνων στις εικόνες αυτές κυμαίνεται από 2 έως 4. Οι εικόνες ελήφθησαν από μια CCD κάμερα, μοντέλο Olympus DP71, προσαρμοσμένη σε οπτικό μικροσκόπιο (Olympus BX51). Χρησιμοποιήθηκε μεγεθυντικός φακός 40 και οι εικόνες αποθηκεύτηκαν σε μορφή JPEG. Το κεφάλαιο είναι χωρισμένο σε δύο μέρη. Το πρώτο αφορά τη σύγκριση των μεθόδων που περιγράφηκαν ενώ το δεύτερο εστιάζει στην αποτελεσματικότητα και ευχρηστία της προτεινόμενης μεθόδου.

### 4.1. Σύγκριση μεθόδων και αποτελέσματα

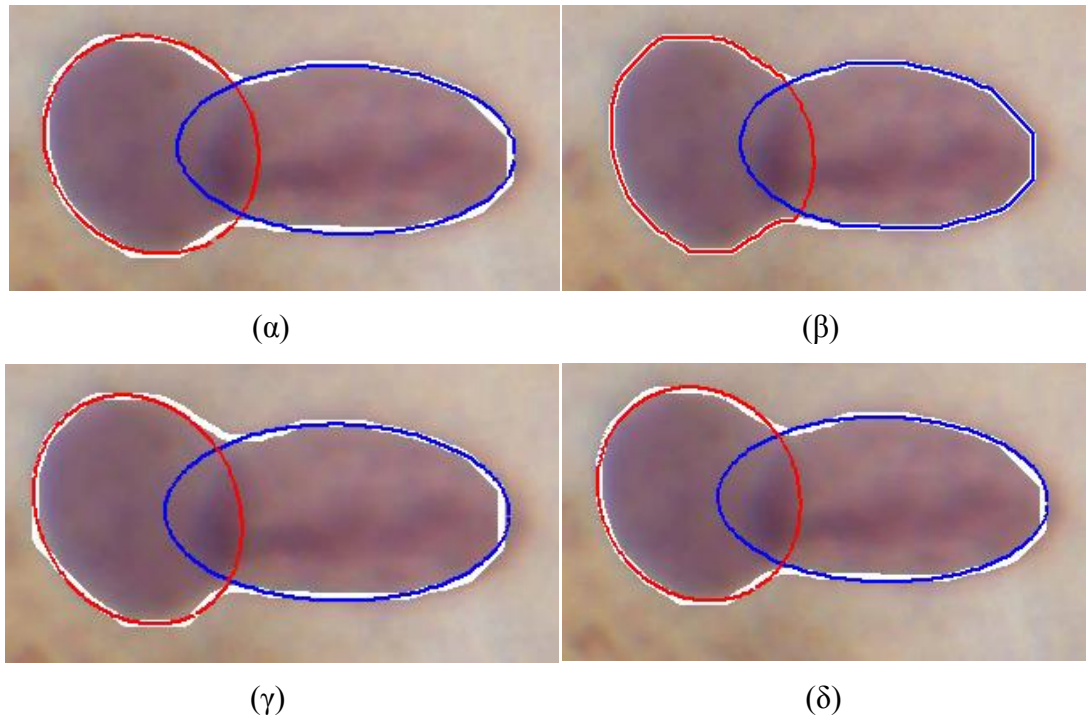
Στην ενότητα αυτή παραθέτονται πέντε εικόνες από το σύνολο δεδομένων με τα αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (σχήμα 4.1-4.5) και στη συνέχεια παρουσιάζεται ο πίνακας των αποτελεσμάτων ως προς την ακρίβεια και το χρόνο επεξεργασίας κάθε μεθόδου και σχολιάζεται η επίδοση των τεχνικών αυτών.



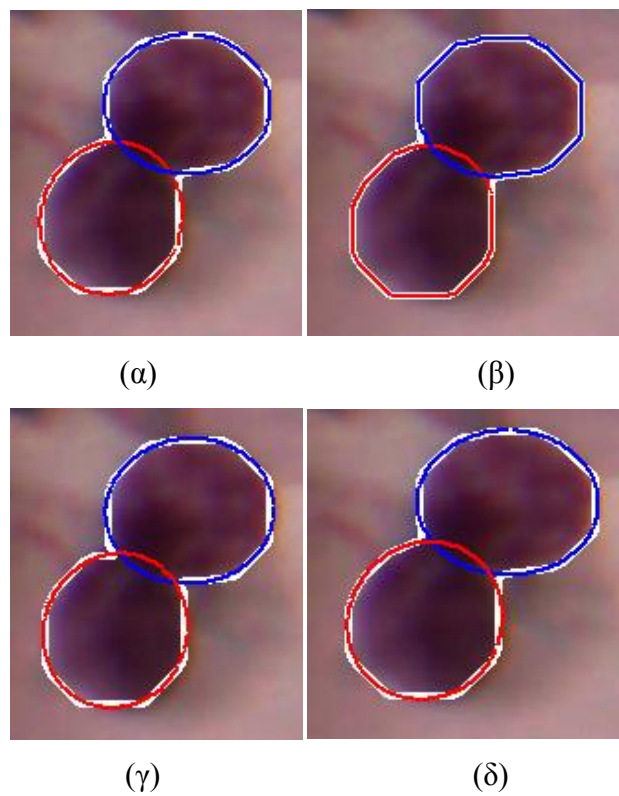
Σχήμα 4.1 Αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού σημείων καμπής.



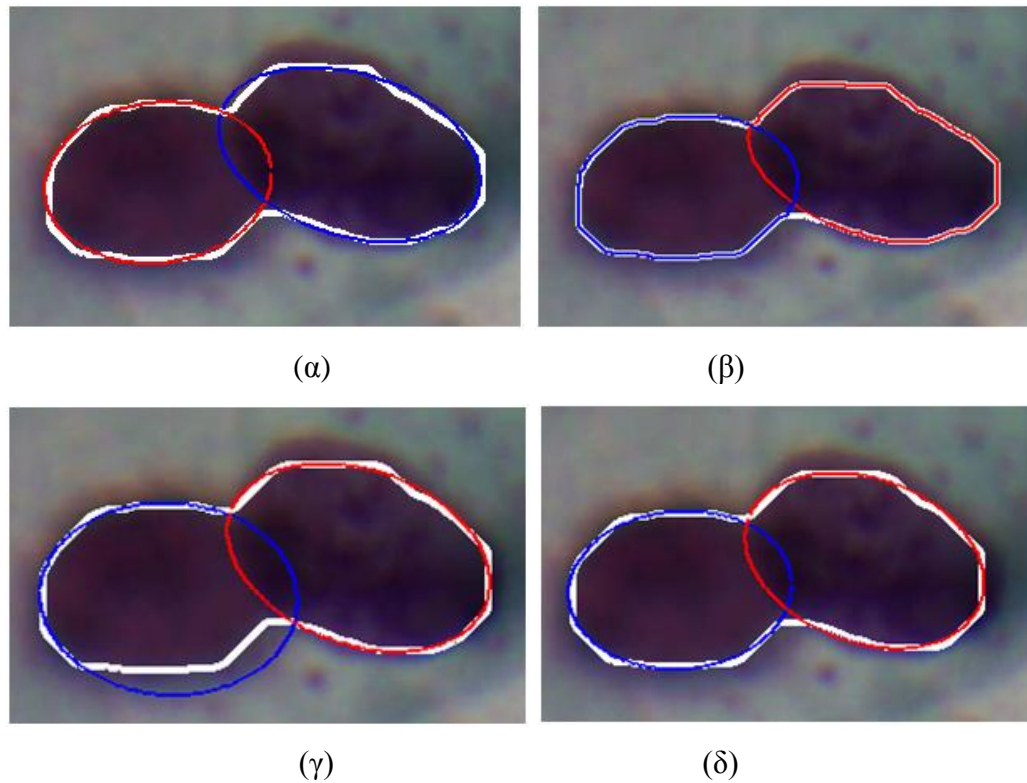
Σχήμα 4.2 Αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού σημείων καμπής.



Σχήμα 4.3 Αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού σημείων καμπής.



Σχήμα 4.4 Αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού σημείων καμπής.



Σχήμα 4.5 Αποτελέσματα κατάτμησης για κάθε μέθοδο (α) υδροκριτών, (β) ομαδοποίησης, (γ) πληροφορίας καμπυλότητας και (δ) συνδυασμού σημείων καμπής.

Πίνακας 4.1 Συγκριτικά αποτελέσματα ως προς την ακρίβεια και το χρόνο επεξεργασίας (μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση)

Μέθοδος	Σφάλμα (pixels)		Χρόνος επεξεργασίας (sec)
	Euclidean	Hausdorff	
<b>Προτεινόμενη μέθοδος</b>	6.34 $\pm$ 2.51	18.21 $\pm$ 7.15	3.15 $\pm$ 2.69
<b>Σημείων καμπής</b>	7.77 $\pm$ 4.01	20.15 $\pm$ 13.84	1.49 $\pm$ 0.14
<b>Υδροκριτών</b>	9.16 $\pm$ 8.09	20.05 $\pm$ 10.84	11.44 $\pm$ 6.24
<b>Μικτών Gaussian</b>	6.42 $\pm$ 3.00	16.25 $\pm$ 5.06	827.20 $\pm$ 565.3

Όπως φαίνεται στον πίνακα 4.1, η προτεινόμενη μέθοδος συγκρίθηκε με τις άλλες τρεις προαναφερθείσες τεχνικές ως προς την ακρίβεια και τον χρόνο εκτέλεσης που απαιτείται για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων. Η ακρίβεια της κάθε μεθόδου

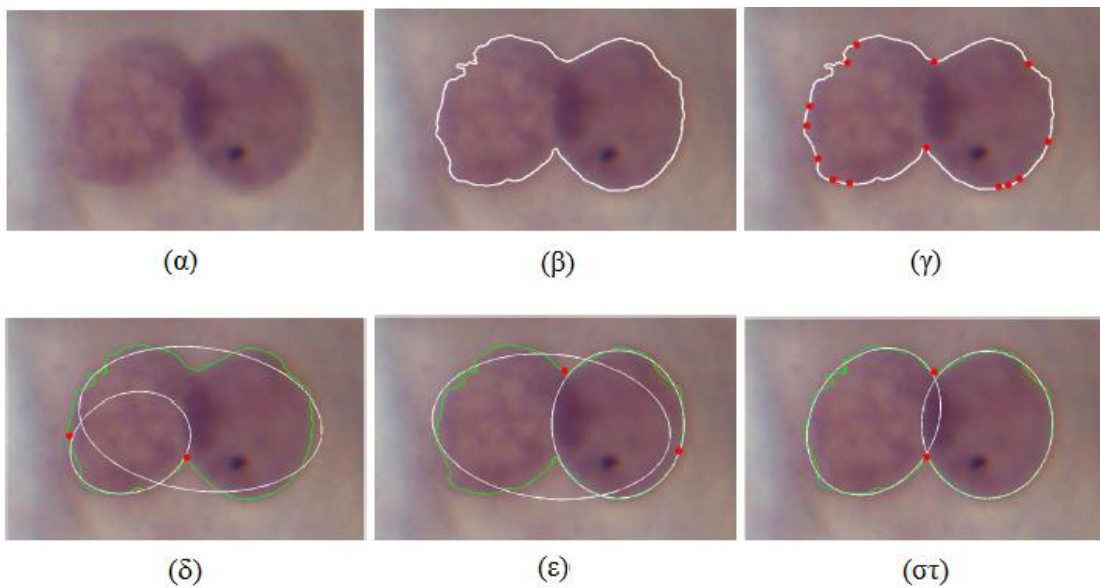
αξιολογήθηκε με βάση την ευκλείδεια και απόσταση Hausdorff των εκτιμώμενων περιγραμμάτων κάθε πυρήνα από την πραγματική λύση. Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειωθεί ότι η εξαγωγή της πραγματικής λύσης πραγματοποιήθηκε από ειδικό κυτταρολόγο. Όσον αφορά την ακρίβεια των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν, με απλή επισκόπηση του παραπάνω πίνακα διαπιστώνουμε ότι η προτεινόμενη μέθοδος εμφανίζει καλύτερη απόδοση όταν ο υπολογισμός του σφάλματος γίνεται με τη χρήση της ευκλείδειας απόστασης, ενώ στην περίπτωση που ο υπολογισμός γίνεται με την Hausdorff μετρική, η μέθοδος των μικτών Gaussian υπερτερεί έναντι των υπόλοιπων τεχνικών. Η απόσταση Hausdorff αποτελεί μέτρο της ομοιότητας μεταξύ δύο σχημάτων.

Από τον πίνακα 4.1 επίσης διαπιστώνουμε ότι η μέθοδος των σημείων καμπής απαιτεί λιγότερο χρόνο επεξεργασίας από την προτεινόμενη μέθοδο. Ωστόσο, δεδομένου ότι η μέθοδος αυτή απαιτεί τον προκαθορισμό αρκετών κατωφλίων τα οποία ορίζονται εμπειρικά και εξαρτώνται από την πληροφορία που παρέχει κάθε εικόνα, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι πιο ακριβής, συμπεραίνουμε ότι η μέθοδος αυτή είναι περισσότερο αποτελεσματική. Τα αποτελέσματα δείχνουν επίσης ότι η μέθοδος μας είναι ταχύτερη σε σχέση με τις δύο μεθόδους που περιγράφονται στα [8] και [9], δεδομένου ότι παράγει τα βέλτιστα αποτελέσματα σε  $3.15 \pm 2.69$  δευτερόλεπτα (μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση) σε αντίθεση με αυτές τις μεθόδους που απαιτούν  $11.44 \pm 6.24$  και  $827.2 \pm 565.3$  δευτερόλεπτα αντίστοιχα. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί καθώς η επαναληπτική εφαρμογή του μετασχηματισμού υδροκριτών στο [8] για τον προσδιορισμό της βέλτιστης κατάτμησης του κάθε πυρήνων εισάγει μια υπολογιστική επιβάρυνση. Επιπλέον, η εκτίμηση των παραμέτρων κάθε κατανομής μέσω του EM αλγορίθμου στο [9] έχει σαν αποτέλεσμα τη εντυπωσιακή αύξηση του υπολογιστικού χρόνου. Το στοιχείο αυτό καθιστά τη μέθοδο απαγορευτική σε εφαρμογές πραγματικού χρόνου παρά το γεγονός ότι παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα. Αντίθετα, στην προτεινόμενη μέθοδο που βασικοί παράμετροι αποτελούν τα σημεία καμπής, αυτά υπολογίζονται μόνο μια φορά και δεν υπάρχουν επιπλέον παράμετροι προς υπολογισμό. Για το λόγο αυτό εμφανίζει αρκετά χαμηλές απαιτήσεις σε υπολογιστικό χρόνο. Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί ότι η σχετικά υψηλή τιμή τυπικής απόκλισης ως προς την μέση τιμή για τη

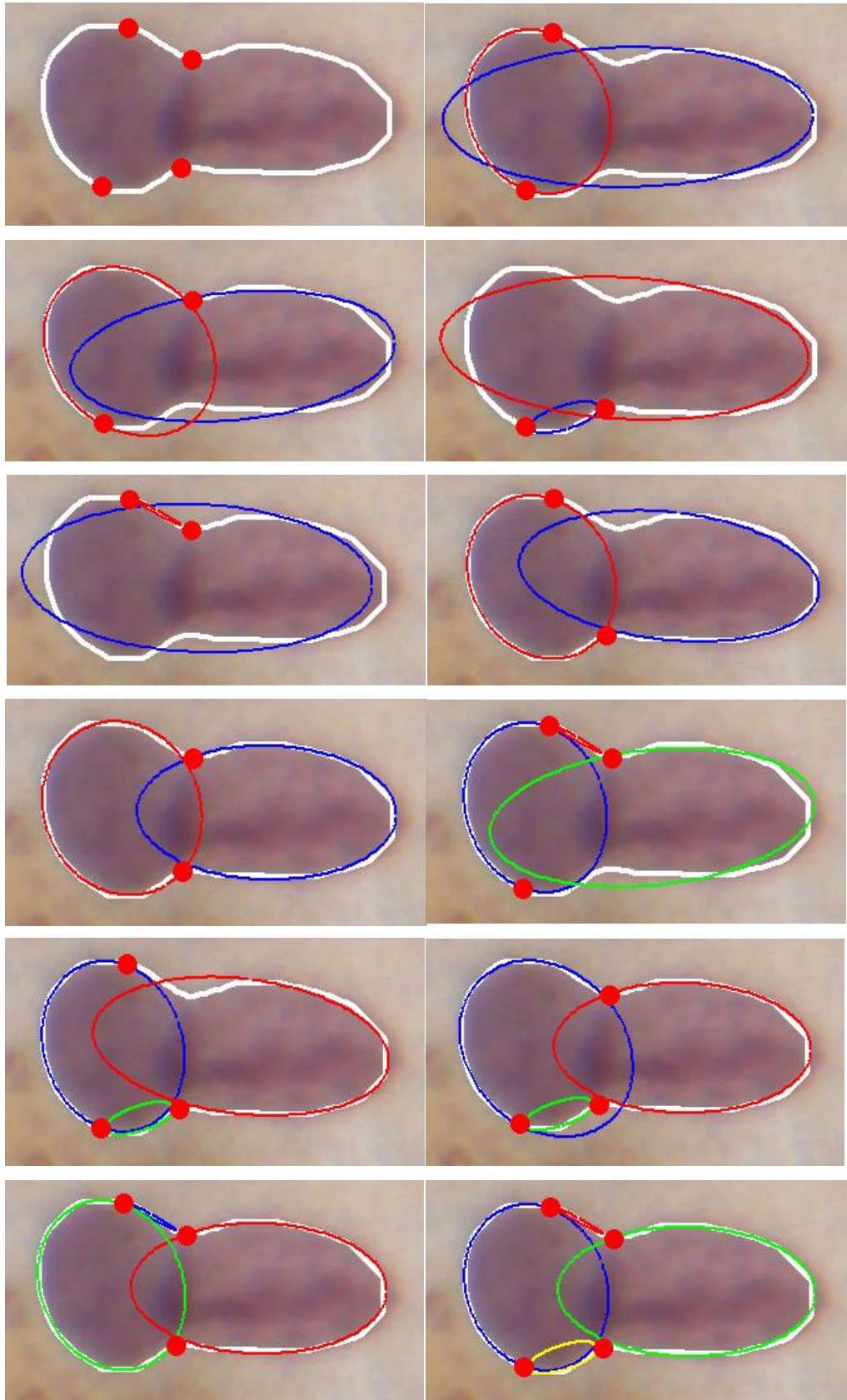
μέθοδο αυτή οφείλεται στο ότι κάποιες εικόνες παρουσιάζουν πολλά σημεία καμπής και επομένως πολλούς πιθανούς συνδυασμούς σημείων καμπής που θα πρέπει να εξεταστούν.

#### 4.2. Προτεινόμενη μέθοδος και αποτελέσματα

Στην παράγραφο αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα κατάτμησης της προτεινόμενης μεθόδου για διαφορετικούς συνδυασμούς σημείων καμπής σε κάποιες χαρακτηριστικές εικόνες από τη βάση. Επίσης σχολιάζεται η επίδοση της μεθόδου σε περιπτώσεις ομάδων με περισσότερους από δύο πυρήνες.



Σχήμα 4.6 Περίπτωση εικόνας με ανώμαλα σημεία (α) Αρχική εικόνα, (β) περίγραμμα των επικαλυπτόμενων πυρήνων, (γ) σημεία καμπής, (δ) – (ε) υποψήφιες λύσεις με την επιλογή δύο σημείων καμπής, (στ) βέλτιστη κατάτμηση.

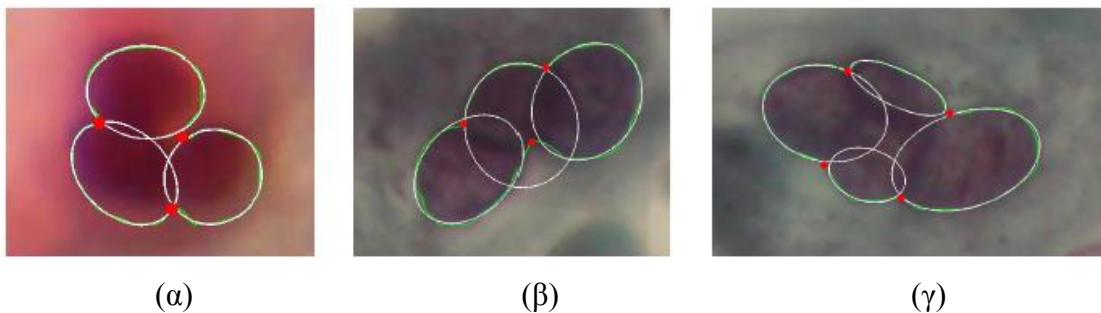


Σχήμα 4.7 Όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί σημείων καμπής με τα αντίστοιχα αποτελέσματα.



Το σύνολο των δεδομένων μας περιλαμβάνει και σύνθετες εικόνες με ανομοιόμορφη χρώση των πυρήνων και ανομοιογένεια στην φωτεινότητα του φόντου και της περιοχής των πυρήνων. Ακόμη και σε αυτές τις περιπτώσεις, όπως στο σχήμα 4.7, όπου το περίγραμμα της συστάδας παρουσιάζει ανώμαλα σημεία, τα όρια των πυρήνων προσδιορίζονται με ακρίβεια. Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε στο σχήμα 4.7 (β), το ανιχνευόμενο περίγραμμα της συστάδας των πυρήνων είναι αρκετά τραχύ και παρουσιάζει αρκετά σημεία καμπής (σχήμα 4.7 (γ)). Η μέθοδος επεξεργάζεται διεξοδικά όλους τους πιθανούς συνδυασμούς των σημείων καμπής με σκοπό να καταλήξει στις δύο ελλείψεις που ταιριάζουν στα συγκεκριμένα σημεία του ορίου (σχήμα 4.7 (δ)-(στ)). Από το σύνολο των συνδυασμών μόνο ένα είναι αποδεκτό με τη χρήση της συνάρτησης εκτίμησης σφάλματος. Έτσι η μέθοδος επιτυγχάνει να προσδιορίσει κάθε ξεχωριστό πυρήνα της συστάδας, καθώς τα πραγματικά σημεία καμπής που διαχωρίζουν τους πυρήνες προσδιορίζονται σε κάθε περίπτωση. Αυτό οδηγεί στην ανίχνευση τμημάτων του περιγράμματος που αντιστοιχούν σε κάθε πυρήνα.

Τέλος θα πρέπει να επισημανθεί ότι η μέθοδος αυτή είναι γενική και μπορεί αυτόματα να ανιχνεύσει τους πυρήνες που ανήκουν σε μια συστάδα ακόμα και στην περίπτωση που ο αριθμός των επικαλυπτόμενων πυρήνων ξεπερνάει τους δύο. Στην εικόνα 4.8 (α)-(γ) παρατηρούμε ότι η μέθοδος παρέχει ακριβή αποτελέσματα και σε συστάδες αποτελούμενες από τρεις και τέσσερις επικαλυπτόμενους πυρήνες.



Σχήμα 4.8 Περιπτώσεις συστάδων με περισσότερους από δύο πυρήνες (α)-(β) τριών και (γ) τεσσάρων πυρήνων

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΟΡΙΟΘΕΤΗΣΗ ΣΥΣΤΑΔΩΝ ΠΥΡΗΝΩΝ

---

### 5.1 Παρουσίαση της μεθόδου

---

Στα προηγούμενα κεφάλαια έγινε περιγραφή καινοτόμων μεθόδων για την κατάτμηση επικαλυπτόμενων πυρήνων σε εικόνες των οποίων το μεγαλύτερο τμήμα καταλαμβάνεται από την περιοχή της συστάδας των πυρήνων. Το επόμενο βήμα είναι η ανάπτυξη μιας τεχνικής που θα επεξεργάζεται μια κυτταρολογική εικόνα που περιέχει μεγάλο πλήθος πυρήνων, είτε μεμονωμένων είτε συστάδων, και θα πραγματοποιεί ανίχνευση των πυρήνων αυτών και εξαγωγή του περιγράμματος τους. Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 1, πρόκειται για ένα σπουδαίο επίτευγμα στο πεδίο της ανάλυσης εικόνων μικροσκοπίου που θα συμβάλει στην ακριβή και σε ελάχιστο χρόνο ανάλυση της πληροφορίας. Στο κεφάλαιο αυτό λοιπόν, θα παρουσιαστεί μια τεχνική για αυτοματοποιημένη ανίχνευση και κατάτμηση πυρήνων σε εικόνες με μεγάλο αριθμό πυρήνων.

#### **5.1. Παρουσίαση της μεθόδου**

Σε συμβατικές εικόνες τεστ Παπανικολάου, παρατηρείται συχνά ότι η θέση των κυττάρων (μεμονωμένα κύτταρα ή συστάδες κυττάρων) περιορίζεται σε μικρό χώρο συγκριτικά με το μέγεθος της εικόνας. Ειδικότερα, σε εικόνες χαμηλής εστίασης συχνά το φόντο αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα της εικόνας. Ωστόσο, το φόντο, εξαιτίας του θορύβου, δεν είναι ομοιογενές και περιέχει μικρά σωματίδια κυττάρων

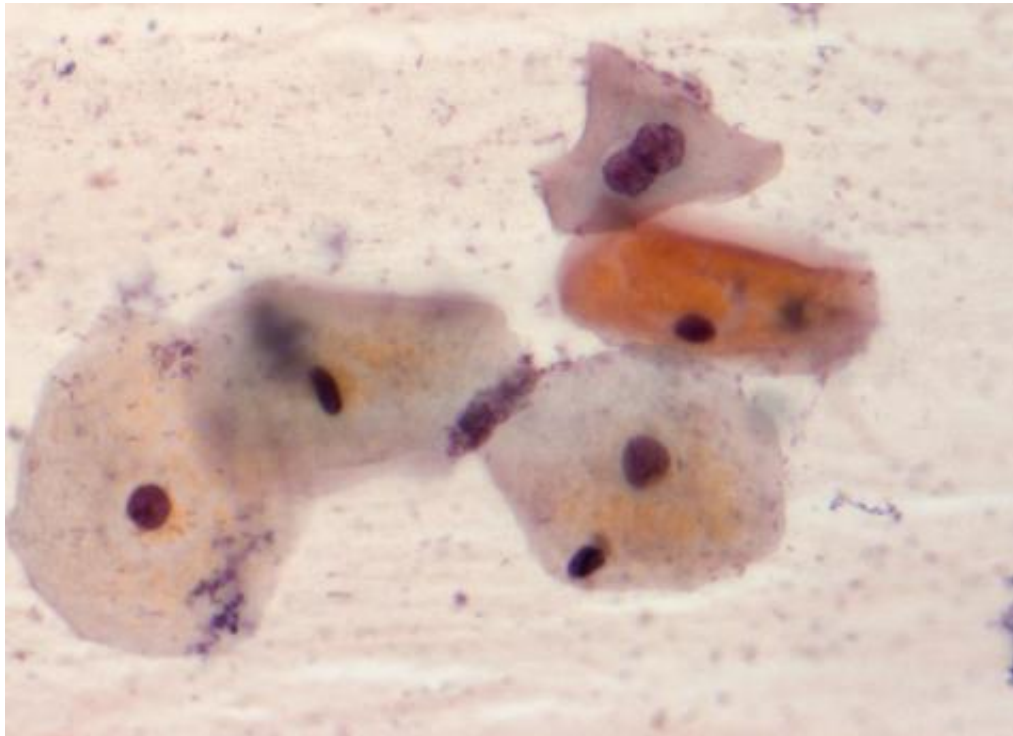
χωρίς ενδιαφέρον. Αυτά τα σωματίδια θα πρέπει να εξαλειφθούν διότι η παρουσία τους ενδέχεται να προκαλέσει σφάλματα στην αυτόματη ανίχνευση των πυρήνων. Γενικά, το στάδιο προεπεξεργασίας είναι απαραίτητο για την εξαγωγή του φόντου και τον προσδιορισμό της εξομαλυμένης και απαλλαγμένης από θόρυβο περιοχής ενδιαφέροντος με σκοπό τη μείωση της περιοχής αναζήτησης στην εικόνα.

Όπως είδαμε στα προηγούμενα κεφάλαια, το στάδιο προεπεξεργασίας που περιελάμβανε άνοιγμα, κλείσιμο και εξομάλυνση της εικόνας ακολουθούμενη από κατωφλίωση με τη μέθοδο του Otsu [18] αποδείχθηκε αποτελεσματικό για την εξαγωγή της δυαδικής εικόνας και του περιγράμματος της. Στην περίπτωση όμως μιας εικόνας με μεγάλο πλήθος πυρήνων, η τεχνική αυτή δεν θα απέφερε σωστά αποτελέσματα λόγω της ανομοιογένειας των διαφόρων περιοχών της εικόνας. Έτσι, για την εύρεση του περιγράμματος των πυρήνων σε μια τέτοια εικόνα ακολουθήθηκε μια διαφορετική προσέγγιση που βασίζεται της χρήση της μορφολογικής παραγωγού της εικόνας. Συγκεκριμένα, από την αρχική εικόνα A δημιουργούμε δύο διαφορετικές εικόνες, B και Γ. Η πρώτη εικόνα B κατασκευάζεται από την αρχική εικόνα A μετά την εφαρμογή συστολής επιπέδων του γκρι (grayscale erosion) στην αρχική εικόνα ως εξής, [25] :

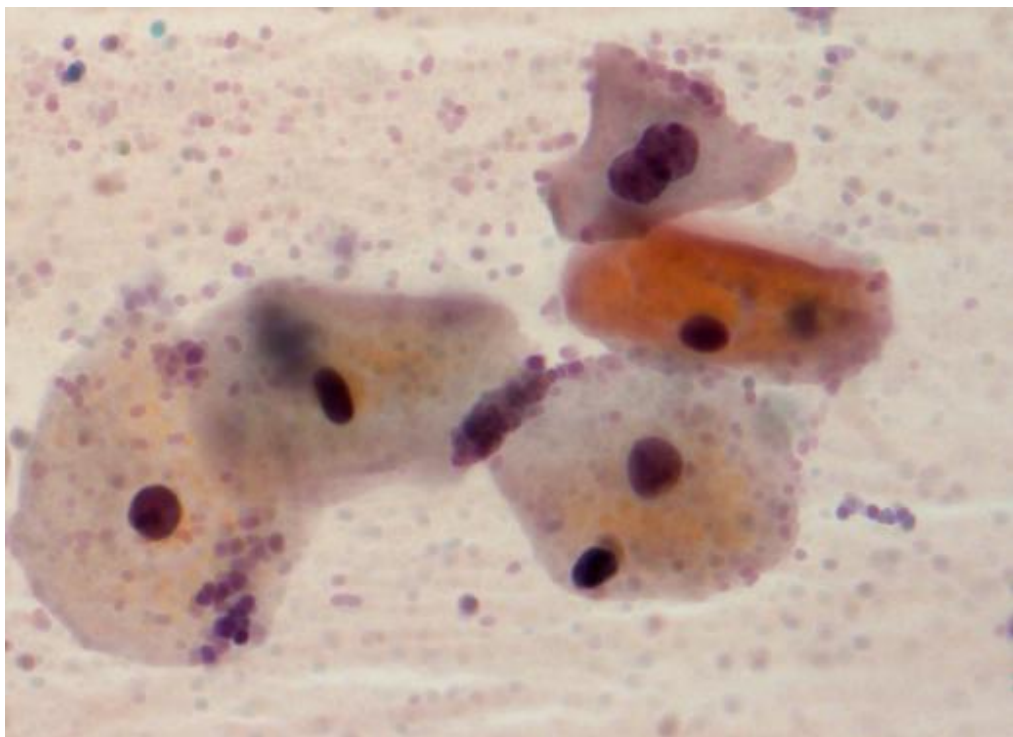
$$B = A \ominus F,$$

όπου F είναι ένα κυκλικό δομικό στοιχείο με ακτίνα 3. Η χρήση ενός δισκοειδούς δομικού στοιχείου για την κατασκευή της διαβρωμένης εικόνας, αλλάζει τα αντικείμενα στην εικόνα με τέτοιο τρόπο ώστε τα σκοτεινά αντικείμενα να διευρύνονται ακτινωτά. Έτσι οι πυρήνες γίνονται ομαλότεροι και πιο έντονοι, δηλαδή η περιοχή τους γίνεται μεγαλύτερη και πιο σκούρα, όπως μπορούμε να δούμε και στο σχήμα 5.1(β).

Η εικόνα Γ είναι το αποτέλεσμα της εφαρμογής ενός 5x5 φίλτρου μέσου όρου στην αρχική εικόνα. Ακολουθώντας τη διαδικασία αυτή, η επίδραση του θορύβου και οι ανομοιογένειες στην εικόνα περιορίζονται σημαντικά και εξάγεται μια ομαλότερη εικόνα.

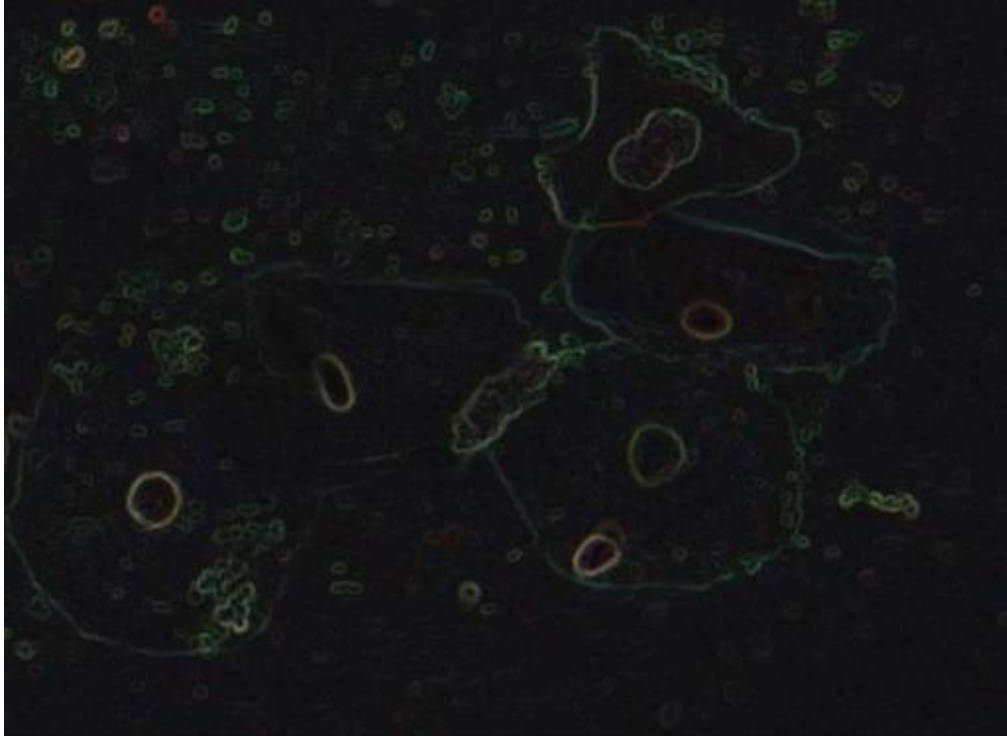


(α)

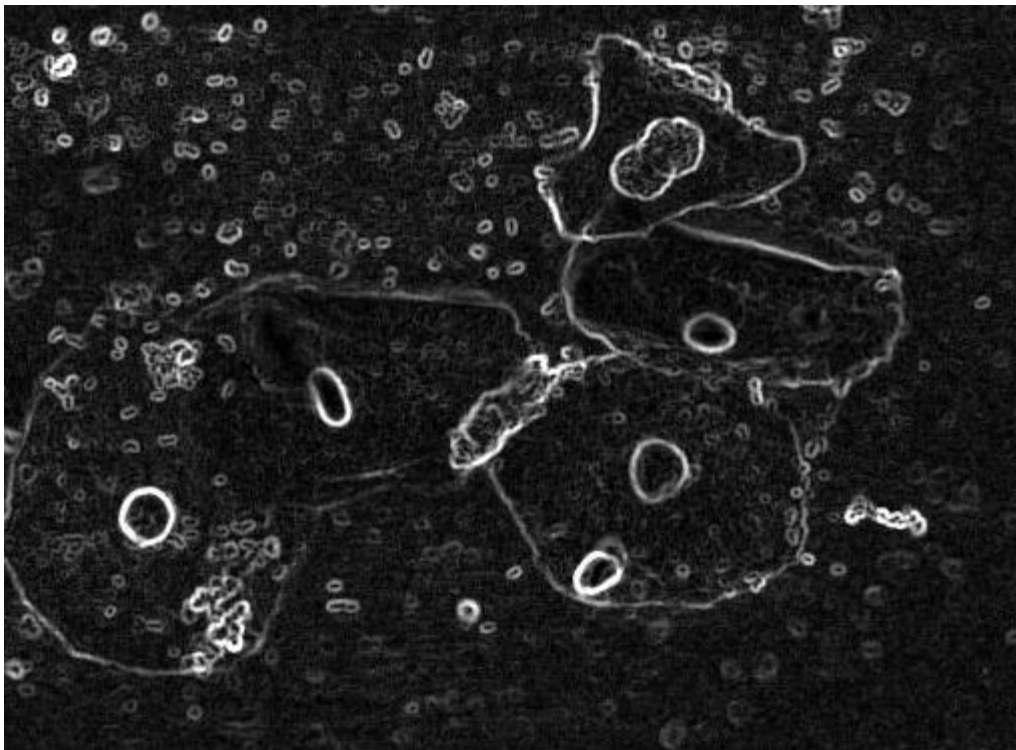


(β)

Σχήμα 5.1 (α) Αρχική εικόνα, (β) εικόνα μετά από συστολή (erosion).



(α)



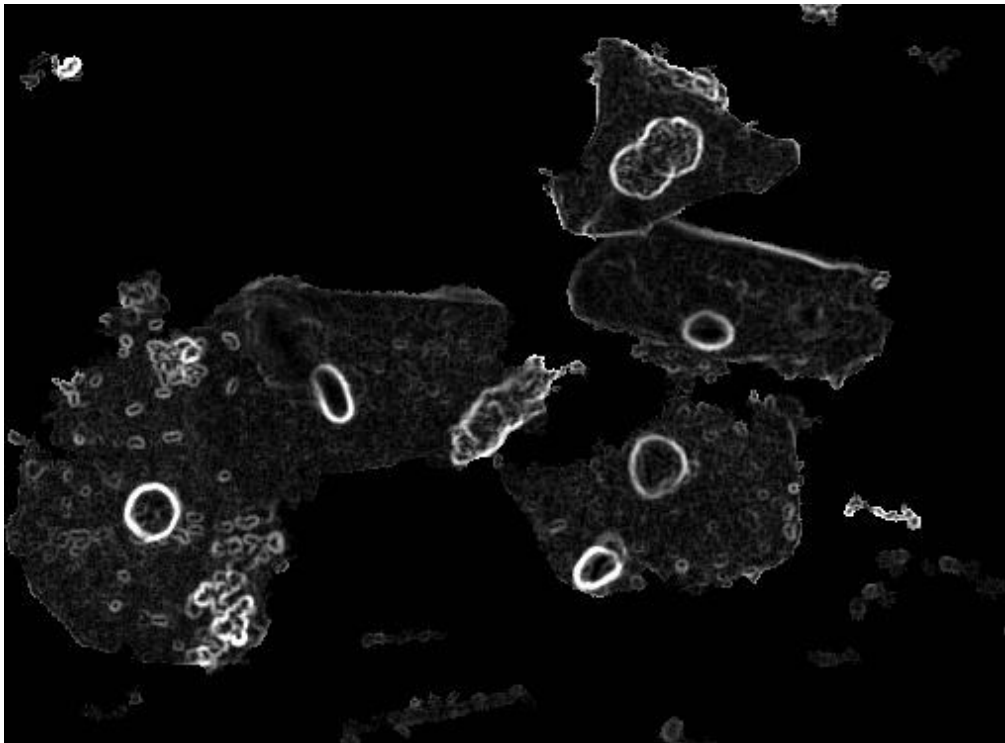
(β)

Σχήμα 5.2 Μορφολογική παράγωγος (α) Διαφορά της διαβρωμένης με την εξομαλυμένη εικόνα, (β) εικόνα μετά την εφαρμογή του φίλτρου ενίσχυσης αντίθεσης.

Για την κατασκευή της μορφολογικής παραγώγου  $G$  της εικόνας  $A$  [25], όπου τα όρια των πυρήνων οξύνονται, συνεχίζουμε με την αφαίρεση των εικόνων (σχήμα 5.2(α)).

$$G(x,y) = | B(x,y) - \Gamma(x,y) |.$$

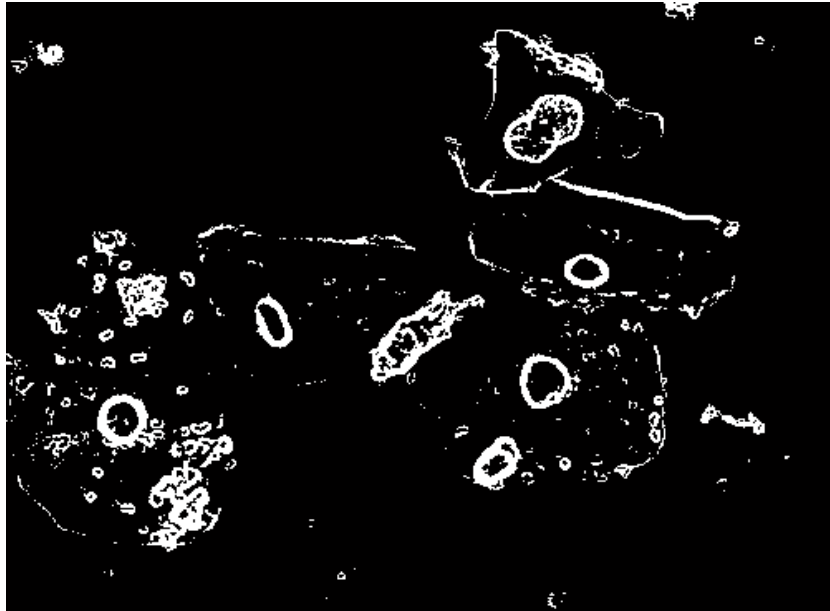
Σε αυτό το στάδιο, μας ενδιαφέρει ο προσδιορισμός των μεγάλων εναλλαγών στην φωτεινότητα, οι οποίες δείχνουν τις θέσεις των ορίων των πυρήνων στην εικόνα. Έτσι αγνοούμε την πληροφορία χρώματος και δουλεύουμε με την αντίστοιχη εικόνα κλίμακας του γκρι. Για την όξυνση των περιγραμμάτων των πυρήνων εφαρμόζουμε φίλτρο ενίσχυσης αντίθεσης στην τελική εικόνα [25]. Το αποτέλεσμα φαίνεται στο σχήμα 5.2(β). Στη συνέχεια απομακρύνουμε το φόντο δημιουργώντας μια δυαδική μάσκα (σχήμα 5.3). Η εικόνα που προκύπτει μετά την απομάκρυνση του φόντου υφίσταται κατωφλίωση με τη μέθοδο του Otsu και προκύπτει η δυαδική της (σχήμα 5.4(α)).



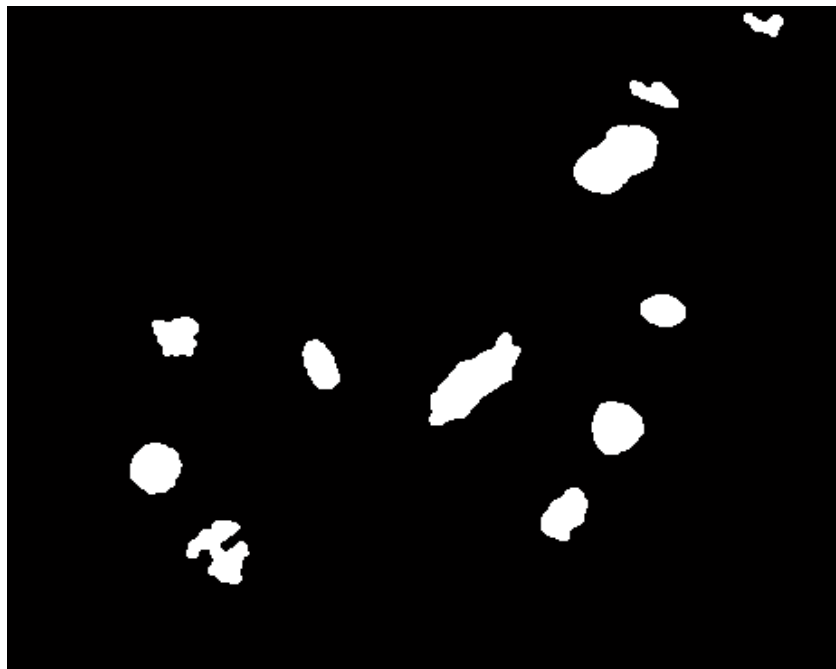
Σχήμα 5.3 Εικόνα μετά την απομάκρυνση του φόντου.

Στο επόμενο στάδιο εκτελείται γέμισμα των οπών της δυαδικής εικόνας καθώς και διάβρωση ακολουθούμενη από μια διαστολή έτσι ώστε να προκύψουν ομαλότερα σχήματα. Επίσης απομακρύνονται συνδεδεμένες συνιστώσες με εμβαδό μικρότερο από 500 εικονοστοιχεία, που είναι μια τιμή μικρότερη από την περιοχή που

καταλαμβάνει κάθε μεμονωμένο κύτταρο (που σε γενικές γραμμές κυμαίνεται στο εύρος των 900-7000 εικονοστοιχείων, προσδιοριζόμενο εμπειρικά μετά από προσεκτική εξέταση από κυτταροπαθολόγο). Με αυτόν τον τρόπο εξαλείφουμε τα μικρά σωματίδια και προκύπτει η εικόνα 5.4(β).



(α)



(β)

Σχήμα 5.4 (α) Δυαδική εικόνα, (β) δυαδική εικόνα μετά το γέμισμα των οπών.

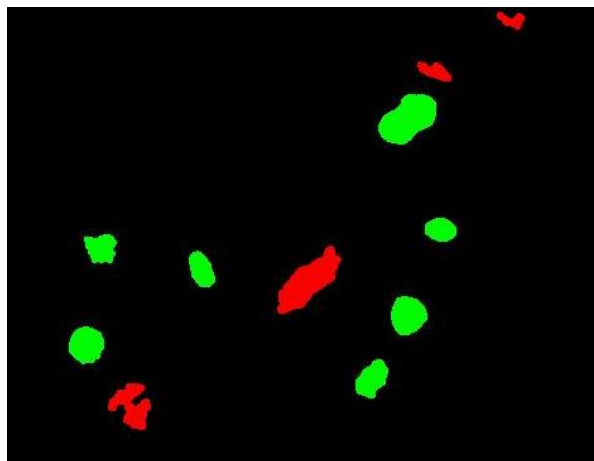
Η εφαρμογή της διαδικασίας που περιγράφηκε οδηγεί, όπως διαπιστώνουμε και στο σχήμα 5.4(β), στην εξαγωγή περιοχών που δεν αντιστοιχούν σε πραγματικούς πυρήνες. Η εξάλειψη αυτών των σημείων της εικόνας είναι απαραίτητη και μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή μεθόδων ομαδοποίησης όπως περιγράφεται ακολούθως.

Ο αποτελεσματικός διαχωρισμός των πραγματικών περιοχών πυρήνων με τις υπόλοιπες περιοχές που ανιχνεύτηκαν απαιτεί αρχικά την εξαγωγή χαρακτηριστικών με καλή διακριτική ικανότητα. Εφόσον γνωρίζουμε τις περιοχές που μας ενδιαφέρουν, η εξαγωγή χαρακτηριστικών που αφορούν το σχήμα, την υφή και τη φωτεινότητα των περιοχών αυτών είναι εύκολο να προσδιοριστούν και σύμφωνα με αυτά να γίνει η ομαδοποίηση τους με τη χρήση του αλγορίθμου K-means. Τα χαρακτηριστικά που μας ενδιαφέρουν παρουσιάζονται στον πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1 Χαρακτηριστικά

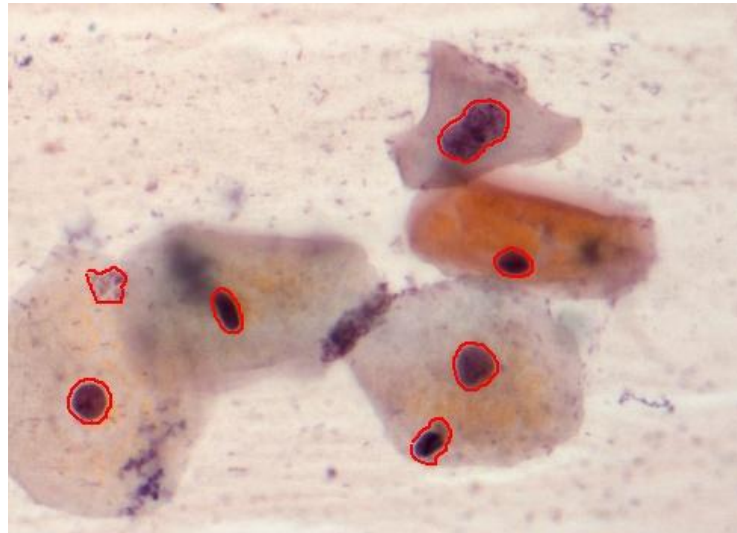
Περίμετρος	αριθμός των σημείων του περιγράμματος
Κυκλικότητα	$\frac{4\pi * \text{εμβαδο}}{\text{περιμετρος}}$
Φωτεινότητα	

Μετά την εφαρμογή του K-means, πραγματοποιείται διαχωρισμός των περιοχών σε δύο ομάδες όπως φαίνεται και στο σχήμα 5.5.

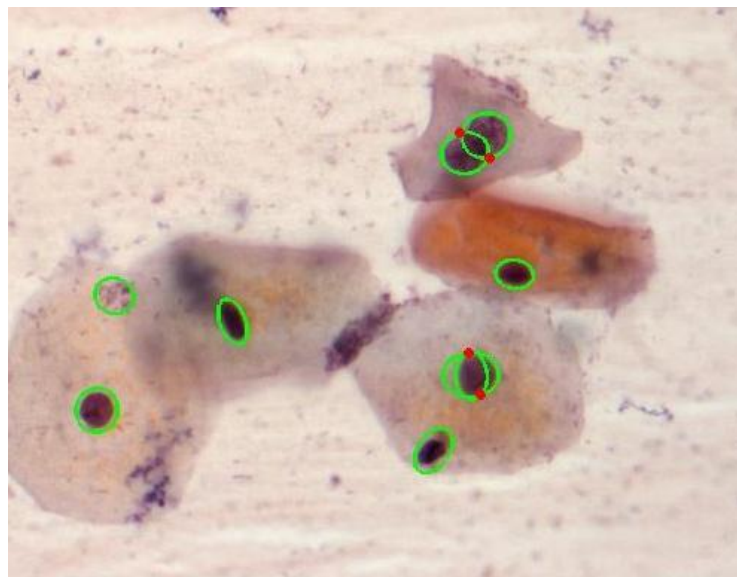


Σχήμα 5.5 Ομαδοποίηση.





(α)



(β)

Σχήμα 5.6 Αποτελέσματα (α) Περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων.

Μετά την ομαδοποίηση των περιοχών με τη χρήση του αλγορίθμου K-means, το επόμενο βήμα είναι η εύρεση των περιγραμμάτων τους, η ανίχνευση των σημείων καμπής και ο προσδιορισμός του βέλτιστου συνδυασμού των σημείων αυτών ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή κατάτμηση στην περίπτωση των επικαλυπτόμενων πυρήνων. Δηλαδή για κάθε περιοχή του σχήματος 5.6(α) που έχει περίγραμμα σε κόκκινο χρώμα εφαρμόζουμε τη μέθοδο που παρουσιάστηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 3. Όπως διαπιστώνουμε από την εικόνα 5.6(β), στην περιοχή των επικαλυπτόμενων πυρήνων

πραγματοποιήθηκε μια σωστή κατάτμηση, όπως και στην περίπτωση των περισσότερων από τους μεμονωμένους πυρήνες. Ο συνολικός αλγόριθμος μπορεί να συνοψιστεί ως εξής:

---

**Αλγόριθμος 5** Ανίχνευση των περιοχών πυρήνων και εξαγωγή του συνολικού ορίου

---

Εφαρμογή συστολής επιπέδων του γκρι στην αρχική εικόνα

Εξομάλυνση της αρχικής εικόνας

Εξαγωγή της μορφολογικής παραγωγού από τις παραπάνω εικόνες

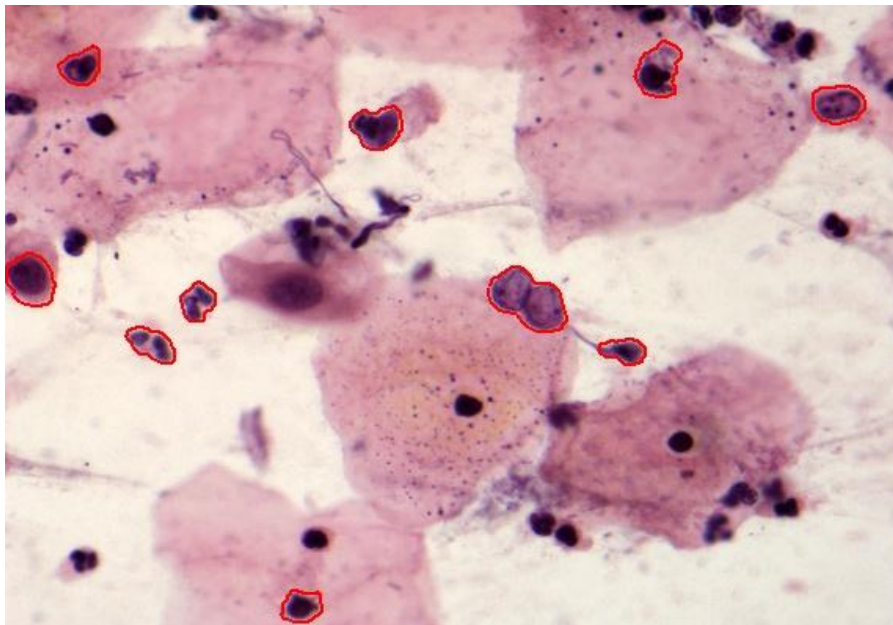
Κατωφλίωση και δημιουργία της δυαδικής εικόνας

Εξαγωγή χαρακτηριστικών από τις περιοχές της εικόνας και διαχωρισμός των περιοχών σε δύο ομάδες με τη χρήση του K-means

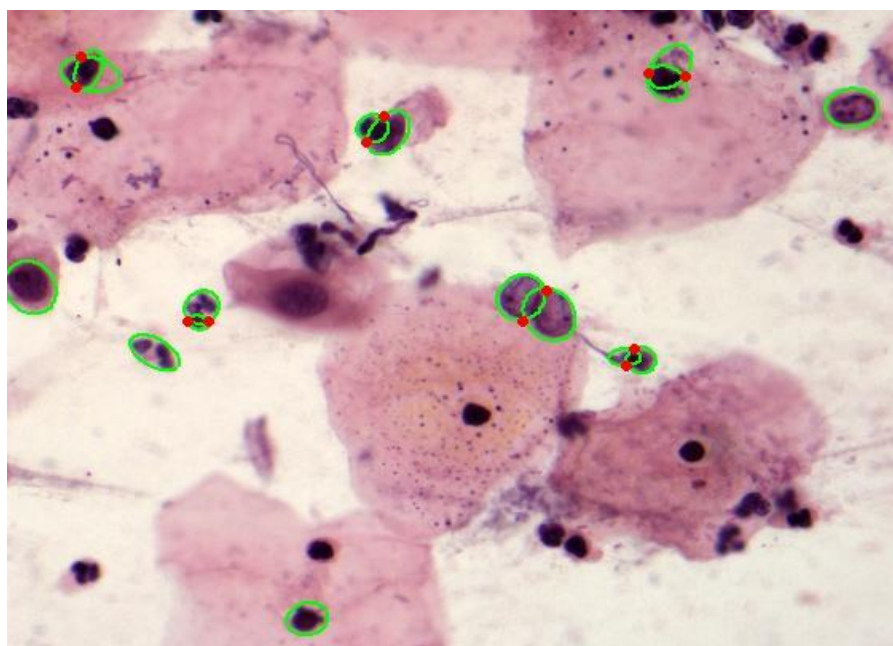
Επιλογή της ομάδας ενδιαφέροντος και εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου για την εξαγωγή του περιγράμματος κάθε πυρήνα ή συστάδας πυρήνων

---

Παρακάτω παρουσιάζεται μια σειρά μικροσκοπικών εικόνων στις οποίες εφαρμόστηκε η μέθοδος και είναι φανερό ότι τα αποτελέσματα είναι αρκετά ενθαρρυντικά.

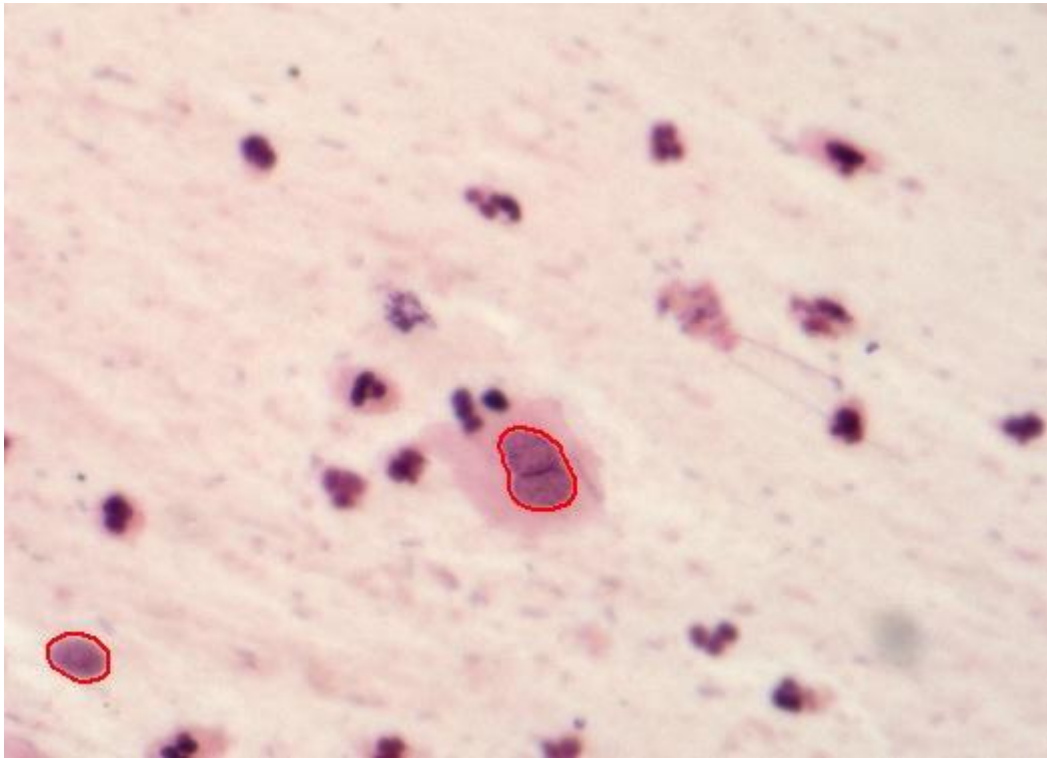


(α)

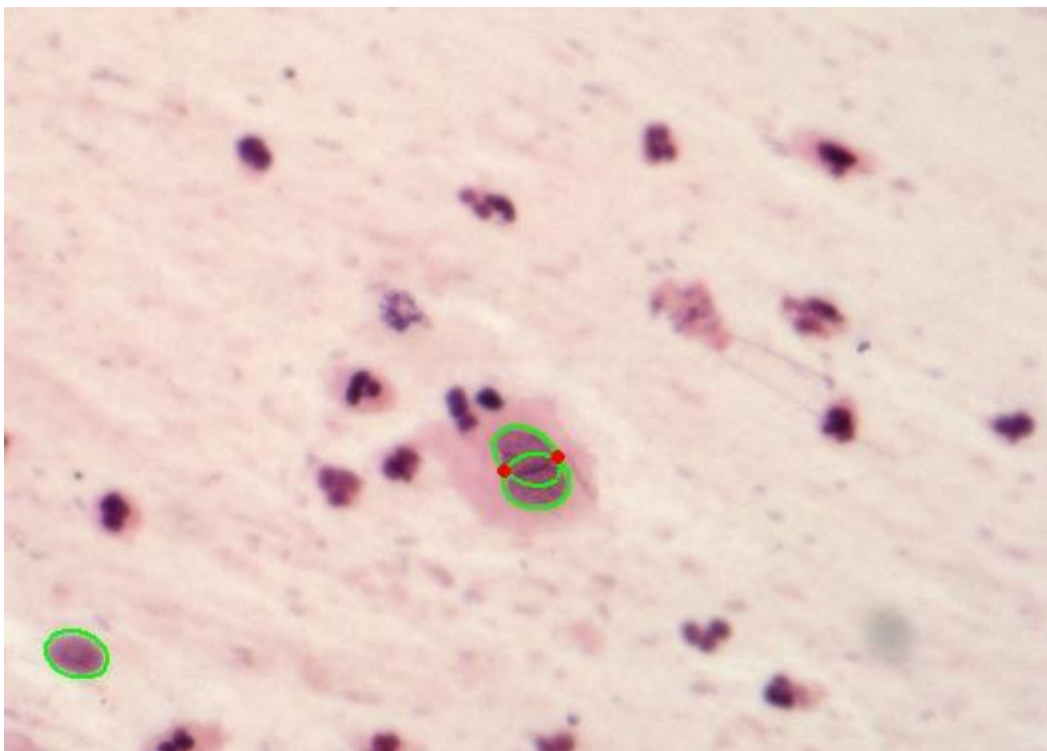


(β)

Σχήμα 5.7 Αποτελέσματα (α) Περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων.

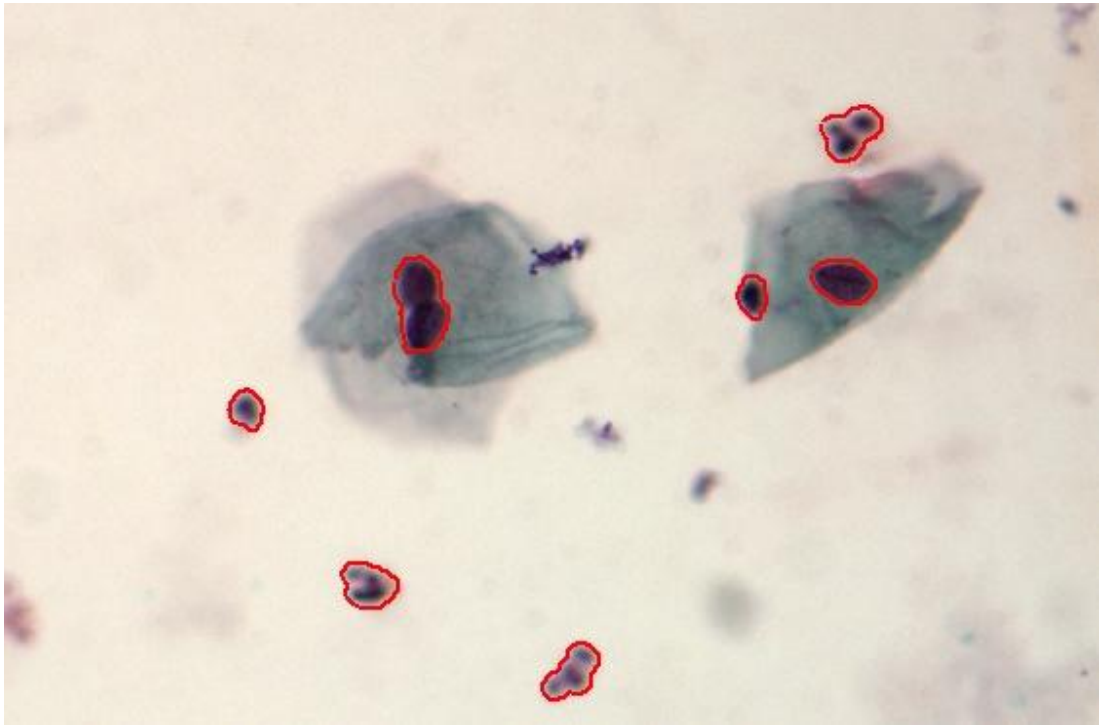


(α)

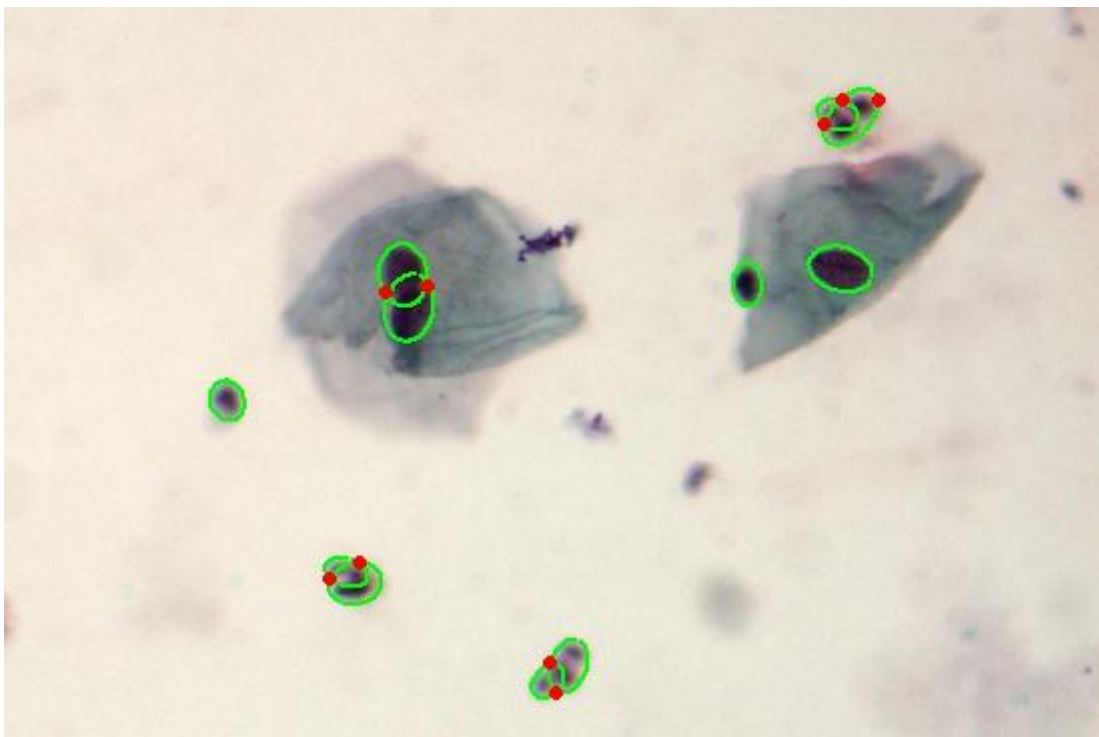


(β)

Σχήμα 5.8 Αποτελέσματα (α) Περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων.



(α)



(β)

Σχήμα 5.9 Αποτελέσματα (α) Περιγράμματα των πυρήνων, (β) εξαγωγή των ορίων των πυρήνων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

---

6.1 Συμπεράσματα

6.2 Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

---

### 6.1. Συμπεράσματα

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε το ζήτημα της κατάτμησης επικαλυπτόμενων πυρήνων σε κυτταρολογικές εικόνες. Για το διαχωρισμό των πυρήνων που ανήκουν σε συστάδες αποτελούμενες από δύο ή περισσότερους πυρήνες χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις διαφορετικές προσεγγίσεις. Η πρώτη μέθοδος εστιάζει στη φωτεινότητα στην περιοχή των πυρήνων και εφαρμόζοντας αλγόριθμο υδροκριτών ελέγχει την τιμή μιας συνάρτησης σφάλματος [8]. Η δεύτερη προσέγγιση αντιμετωπίζει το πρόβλημα αυτό σαν ένα πρόβλημα ομαδοποίησης και κάνει χρήση των μικτών κανονικών κατανομών σε συνδυασμό με τον αλγόριθμο EM [9]. Η επόμενη μέθοδος εκμεταλλεύεται την καμπυλότητα του περιγράμματος της συστάδας των πυρήνων και ανιχνεύοντας τα σημεία καμπής, συγχωνεύει ή απομακρύνει ελλείψεις που ταιριάζουν στα τμήματα που προσδιορίζονται από τα σημεία καμπής σύμφωνα με κριτήρια που αφορούν τις τιμές συγκεκριμένων παραμέτρων [14]. Στο σημείο αυτό, πρέπει να σημειωθεί ότι οι τρεις πρώτες μέθοδοι ανήκουν στις πιο σύγχρονες και εξελιγμένες μεθόδους που έχουν προταθεί μέχρι σήμερα οι οποίες και υλοποιήθηκαν. Τέλος, προτείνεται μια καινούργια μέθοδος όπου για τα διαφορετικά αποτελέσματα κατάτμησης που προκύπτουν από διαφορετικούς συνδυασμούς σημείων καμπής

υπολογίζεται η τιμή της συνάρτησης σφάλματος η οποία καθορίζει το τελικό αποτέλεσμα.

Οι τεχνικές εφαρμόστηκαν σε ένα πλήθος κυτταρολογικών εικόνων και μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα τους ως προς τον χρόνο επεξεργασίας καθώς και η ακρίβεια τους ως προς την σύγκλιση του ευρισκόμενου περιγράμματος κάθε πυρήνα με το κανονικό του περίγραμμα. Έτσι, ως προς τον χρόνο επεξεργασίας, διαπιστώθηκε ότι η τρίτη μέθοδος [14] είναι ταχύτερη από τις υπόλοιπες. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι η μέθοδος στο [14], παρά της αυξημένης ταχύτητας επεξεργασίας, απορρίπτεται διότι ο μεγάλος αριθμός παραμέτρων που καθορίζουν και το αποτέλεσμα την καθιστούν μη εύρωστη σε περιπτώσεις εφαρμογής της σε διαφορετικά σύνολα δεδομένων με ποικίλα χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα δείχνουν επίσης ότι η μέθοδος μας είναι ταχύτερη σε σχέση με τις δύο μεθόδους που περιγράφονται στα [8] και [9]. Τα αποτελέσματα αυτά είναι τα αναμενόμενα αν αναλογιστούμε ότι η μέθοδος στο [14] που είναι και η ταχύτερη έχει χαμηλή πολυπλοκότητα εφόσον εκτελεί απλούς ελέγχους για την απόρριψη ή συγχώνευση των ελλείψεων που έχει ταιριάζει στα διάφορα τμήματα. Η προτεινόμενη μέθοδος απαιτεί λίγο περισσότερο χρόνο αφού ουσιαστικά αποτελεί μια brute-force προσέγγιση εξετάζοντας όλους τους δυνατούς συνδυασμούς σημείων καμπής. Τέλος, οι υπόλοιπες δύο τεχνικές [8,9] εισάγουν μια υπολογιστική επιβάρυνση με την επαναληπτική εφαρμογή του αλγορίθμου υδροκριτών και με την εκτίμηση των παραμέτρων κάθε κατανομής με τον αλγόριθμο EM αντίστοιχα.

Όσον αφορά την ακρίβεια των παραπάνω μεθόδων, διαπιστώσαμε ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι και η πιο ακριβής λαμβάνοντας υπόψη την ευκλείδεια απόσταση για τη μέτρηση του σφάλματος, ενώ η μέθοδος των μικτών κανονικών κατανομών που υπερτερεί των υπολοίπων στην περίπτωση που το σφάλμα υπολογισθεί με την Hausdorff μετρική, απορρίπτεται λόγω του πολύ μεγάλου χρόνου επεξεργασίας που την καθιστά απαγορευτική σε εφαρμογές πραγματικού χρόνου. Τέλος, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι και η πιο αποτελεσματική διότι παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα στον ελάχιστο χρόνο.

## 6.2. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Αρχικά, μια πρόταση για περαιτέρω έρευνα θα ήταν η εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου σε διαφορετικά και μεγαλύτερα σύνολα εικόνων προκειμένου τα αποτελέσματα της και τα συμπεράσματα να είναι περισσότερο αξιόπιστα.

Όπως περιγράφεται και στο κεφάλαιο 5, αφού καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι και η πιο αποτελεσματική, δημιουργήσαμε ένα αυτοματοποιημένο σύστημα εντοπισμού πυρήνων σε μεγάλες εικόνες με πολλούς πυρήνες και εξαγωγής του περιγράμματος κάθε πυρήνα, είτε μεμονωμένου είτε μέλους συστάδας πυρήνων. Ένα από τα ζητήματα που καθορίζουν την επιτυχία της αυτοματοποιημένης μεθόδου είναι η σωστή απομάκρυνση του φόντου και ο διαχωρισμός του από τους πυρήνες. Σε μια εικόνα με πολύ θόρυβο και ομοιόμορφη χρώση του φόντου με τους πυρήνες δεν θα είχε επιτευχθεί σωστή κατάτμηση λόγω του ότι τα περιγράμματα των περιοχών των πυρήνων δεν θα συνέπιπταν με τα πραγματικά περιγράμματα τους. Η προτεινόμενη μέθοδος όμως βασίζεται αποκλειστικά στην καμπυλότητα του περιγράμματος, συνεπώς τα αποτελέσματα της σε περίπτωση μη κατάλληλης εικόνας θα ήταν απογοητευτικά. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να δοθεί εξαιρετική σημασία στην εξαγωγή των σωστών σχημάτων πυρήνων από το φόντο της εικόνας. Μια πρόταση είναι η μελέτη των χαρακτηριστικών του κυτταροπλάσματος το οποίο περιβάλλει τον πυρήνα και είναι μέρος του φόντου που επιθυμούμε να απομακρύνουμε. Με μια κατάλληλη μέθοδο ομαδοποίησης πιθανόν να ήταν εφικτός ο καλύτερος διαχωρισμός πυρήνα και κυτταροπλάσματος σε περιπτώσεις εικόνων με θόρυβο. Μια άλλη εναλλακτική πρόταση αποτελεί μια διαφορετική μέθοδος προεπεξεργασίας της εικόνας που βελτιώνει τα αποτελέσματα της κατάτμησης του κυτταροπλάσματος.

Ένα δεύτερο ζήτημα αποτελεί η επιλογή της σωστής ομάδας περιοχών μετά την εκτέλεση του αλγορίθμου K-means. Όπως αναφέρεται και στο κεφάλαιο 5, η μια ομάδα περιέχει τις περιοχές των πυρήνων ενώ η άλλη τις περιοχές που λανθασμένα παρέμειναν για επεξεργασία λόγω του θορύβου. Στην πλειοψηφία των εικόνων που μελετήθηκαν, ο αριθμός των πυρήνων είναι μεγαλύτερος από τον αριθμό των «σκουπιδιών» άρα η επιλογή της σωστής ομάδας έγινε σύμφωνα με τον αριθμό των



μελών της. Επειδή όμως σε διαφορετικά σύνολα εικόνων αυτό μπορεί να μην ισχύει θα μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε μια μέθοδο ταξινόμησης με επίβλεψη όπως για παράδειγμα τις μηχανές διανυσματικής στήριξης (Support Vector Machines). Αυτό φυσικά προϋποθέτει την ύπαρξη ενός μεγάλου συνόλου εικόνων με δύο ή και περισσότερους επικαλυπτόμενους πυρήνες προκειμένου να χρησιμοποιηθεί σαν σύνολο εκπαίδευσης.

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

---

- [1] G. N. Papanikolaou. “A new procedure for staining vaginal smears”, *Science*, Vol. 95, no. 2469, pp. 438-439, 1942.
- [2] N. Malpica, C. O. de Solortzano, J. J. Vaquero, A. Santos, I.Vallcobra, J. M. Garcia-Sagredo and F. del Pozo. “Applying watershed algorithms to the segmentation of clustered nuclei”, *Cytometry*, vol. 28, no. 4, pp. 289-297, August 1997.
- [3] F. Clopet and A. Boucher. “Segmentation of overlapping/aggregating nuclei cells in biological images”, *International Conference of Pattern Recognition (ICPR)*, Florida, USA. December 2008.
- [4] F. Clopet and A. Boucher. “Segmentation of complex nucleus configurations in biological images”, *Pattern Recognition Letters*, vol. 31, no. 8, pp. 755-761, June 2010.
- [5] J. Cheng and J. Rajapakse. “Segmentation of clustered nuclei with shape markers and marking function”, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 56, no. 3, March 2009.
- [6] C. Zhang, C. Sun, D. Pham and R. Su. “Segmentation of clustered nuclei based on curvature weighting”, *Proceedings of the 27th Conference on Image and Vision Computing New Zealand*, pp. 49-54, 2012.
- [7] C. Zhang, C. Sun and D. Pham. “Clustered nuclei splitting using curvature information”, *2011 International Conference on Digital Image Computing: Techniques and Applications*, Noosa, Australia, December 2011.

- [8] C. Jung and C. Kim. "Segmenting clustered nuclei using H-minima transform-based marker extraction and contour parameterization", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 57, no. 10, pp. 2600-2604, 2010.
- [9] C. Jung and C. Kim. "Unsupervised segmentation of overlapped nuclei using bayesian classification", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 55, no. 12, pp. 2825-2832, 2010.
- [10] O. Schmitt and M. Hasse. "Morphological multiscale decomposition of connected regions with emphasis on cell clusters", *Computer Vision and Image Understanding*, vol. 113, issue 2, pp. 188-201, February 2009.
- [11] H. Song and W. Wang. "A new separation algorithm for overlapping blood cells using shape analysis", *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, vol. 23, no. 4, pp. 847-864, 2009.
- [12] C. Bergmeir, M. G. Silvente and J. M. Benitez. "Segmentation of cervical cell nuclei in high-resolution microscopic images: A new algorithm and a web-based software framework", *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 107, no. 3, pp. 497-512, September 2012.
- [13] O. Schmitt and S. Reetz. "On the decomposition of cell clusters", *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, vol. 33, issue 1, pp. 85-103, January 2009.
- [14] X. Bai, C. Sun and F. Zhou. "Splitting touching cells based on concave points and ellipse fitting", *Pattern Recognition*, vol. 42, issue 11, pp. 2434-2446, November 2009.
- [15] C. Zimmer and J. -C. Olivo-Marin. "Coupled parametric active contours", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 27, no. 11, November 2005.

- [16] M. Plissiti and C. Nikou. "Overlapping cell nuclei segmentation using a spatially adaptive active physical model", *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 21, no. 11, November 2012.
- [17] B. Zhang, C. Zimmer and J. -C. Olivo-Marin. "Tracking fluorescent cells with coupled geometric active contours", *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: Nano to Macro*, vol. 1, pp. 476-479, April 2004.
- [18] N. Otsu. "A threshold selection method from gray-level histograms", *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, vol. 9, no. 1, pp. 62–66, 1979.
- [19] A. W. Fitzgibbon, M. Pilu and R. B. Fischer. "Direct least squares fitting of ellipses", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 21, no. 5, pp. 476-480, 1999.
- [20] C. Bishop. "Pattern Recognition and Machine Learning", Springer, 2006.
- [21] R. C. Gonzalez and R. E. Woods. "Digital Image Processing", Prentice Hall, 2008.
- [22] J. Canny. "A computational approach to edge detection", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 8, no. 6, pp. 679–698, 1986.
- [23] D. Forsyth and J. Ponce. "Computer Vision: A Modern Approach", Prentice Hall, 2002.
- [24] M. Kass, A. Witkin and D. Terzopoulos. "Snakes: active contour models", *International Journal of Computer Vision*, pp. 321-331, 1988.
- [25] M. Plissiti. "Methods of analysis of cytological images", PhD Thesis of University of Ioannina, January 2012.



## **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ**

---

M. Plissiti, E. Louka and C.Nikou. “Splitting of overlapping nuclei guided by robust combinations of concavity points”, SPIE Medical Imaging, San Diego, California, February 2014.

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

---

Η Ελένη Λουκά με καταγωγή από την Ηγουμενίτσα, γεννήθηκε τον Σεπτέμβριο του 1986. Το 2004 αποφοίτησε από το 1<sup>ο</sup> Ενιαίο Λύκειο Ηγουμενίτσας με βαθμό 19.1 και εισήχθη στο τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης από το οποίο αποφοίτησε με βαθμό 7.04 το 2010. Τον επόμενο χρόνο έγινε δεκτή στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών σπουδών του τμήματος Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και ολοκλήρωσε τις υποχρεώσεις της το Νοέμβριο του 2013 αποκτώντας Μεταπτυχιακό Δίπλωμα με ειδίκευση στις «Τεχνολογίες – Εφαρμογές».





