

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000265347



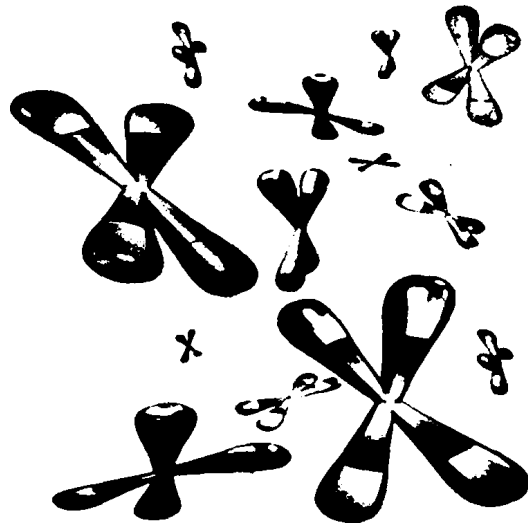
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

225

ΜΠΛΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ



ΠΕΤΡΟΣ ΚΑΡΒΕΛΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΗΜΗΤΡΗΣ Ι. ΦΩΤΙΑΔΗΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2004.



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Γεώργιο Καραγιάννη, διευθυντή του Κέντρου Επιστημονικών Μελετών του Παιδείας, για την άμεση ανταπόκριση στην αίτηση μου και για την άριστη συνεργασία που μας επιτρέπεται να έχουμε.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Γεώργιο Καραγιάννη, διευθυντή του Κέντρου Επιστημονικών Μελετών του Παιδείας, για την άμεση ανταπόκριση στην αίτηση μου και για την άριστη συνεργασία που μας επιτρέπεται να έχουμε.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Γεώργιο Καραγιάννη, διευθυντή του Κέντρου Επιστημονικών Μελετών του Παιδείας, για την άμεση ανταπόκριση στην αίτηση μου και για την άριστη συνεργασία που μας επιτρέπεται να έχουμε.

*Στον πατέρα μου, Σταύρο...*



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας ειδίκευσης κ. Δημήτρη Ι. Φωτιάδη για την συνεχή υποστήριξη του αλλά και για τις πολύ χρήσιμες παρατηρήσεις του οι οποίες βοήθησαν στην υλοποίηση της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Εργαστήριο Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και πιο συγκεκριμένα την επίκουρο καθηγήτρια κα. Μαρίνα Σύρρου η οποία παρείχε τις απαραίτητες εικόνες χρωμοσωμάτων.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους του φίλους μου που στήριξαν και αυτοί με τον τρόπο τους για την ολοκλήρωση της εργασίας αυτής: Βαγγέλη Καρβούνη, Νικόλαο Ντούβα, Στέφανο Πέτσιο, Αλέξανδρο Τζάλλα και Δημήτρη Τσαλικάκη.



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη των χρωμοσωμάτων αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους τομείς μελέτης για τη σύγχρονη Ιατρική – Γενετική και αυτό γιατί τα χρωμοσώματα αποτελούν τους φορείς όλου του γενετικού υλικού (*DNA*) ενός οργανισμού που μεταβιβάζονται από γενιά σε γενιά με την βοήθεια της αναπαραγωγής. Ως γνωστό, το γενετικό υλικό φέρει όλες εκείνες τις πληροφορίες για τη δημιουργία ενός οργανισμού και επιπλέον αρκετά από τα χαρακτηριστικά της προηγούμενης γενιάς. Μάλιστα έχουν γίνει αρκετές μελέτες και πλέον αποτελεί κοινή γνώση ότι αλλαγές (μορφολογικές ή αριθμητικές) στα χρωμοσώματα μπορούν να οδηγήσουν σε γενετικά νοσήματα

Οι κυτταρογενετιστές έχουν καταφέρει να κατηγοριοποιήσουν τα χρωμοσώματα σε 24 κατηγορίες (1...22, X, Y), από τις οποίες οι δύο τελευταίες αποτελούν τα φυλετικά χρωμοσώματα, XX στις γυναίκες και XY στους άνδρες. Μάλιστα σε κάθε βιολογικό είδος, τα χρωμοσώματα έχουν χαρακτηριστικό αριθμό και μορφολογία (καρυότυπος). Η μελέτη του καρυότυπου οδήγησε στην αναγνώριση πολλών γενετικών νοσημάτων: για παράδειγμα ένα επιπλέον χρωμόσωμα 21 (σύνολο 3) οδηγεί στο σύνδρομο DOWN (τρισωμία 21).

Η δημιουργία του καρυότυπου απαιτεί χρόνο αλλά και μεγάλη εμπειρία για την αποφυγή λαθών που μπορούν να οδηγήσουν σε εσφαλμένη διάγνωση. Για το λόγο αυτό και γύρω στα μέσα της δεκαετίας του '60, άρχισαν οι προσπάθειες για την αυτοματοποίηση της αναγνώρισης των χρωμοσωμάτων, τόσο για να αποφευχθούν λάθη όσο και για να μειωθεί ο χρόνος διάγνωσης. Σημαντική συνεισφορά έχει και η έρευνα που αφορά την ανάπτυξη αλγορίθμων και λογισμικού και γενικότερα αυτόματων συστημάτων για υπολογιστές. Έτσι αναπτύχθηκαν τεχνικές για την επεξεργασία εικόνων χρωμοσωμάτων και την αναγνώριση τους.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να μελετηθούν αλγόριθμοι *watershed* και ένας νέος αλγόριθμος κατάτμησης εικόνων χρωμοσωμάτων με αρκετά ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας. Οι αλγόριθμοι *watershed* είναι γνωστοί από την χρήση τους στην κατάτμηση εικόνων κυττάρων.

Ο προτεινόμενος τροποποιημένος αλγόριθμος *watershed* αφού μετατρέψει σε δυαδική μια εικόνα χρωμοσωμάτων, με τη βοήθεια στατιστικής μεθόδου Otsu, υπολογίζει τον μετασχηματισμό απόστασης. Στον παραπάνω μετασχηματισμό εφαρμόζουμε τον μετασχηματισμό *watershed* με τη βοήθεια του οποίου λαμβάνουμε μια αρχική εκτίμηση των περιοχών ενδιαφέροντος (χρωμοσώματα). Όπως είναι εύκολα κατανοητό, δεν καταφέρνουμε πάντα την πλήρη κατάτμηση των χρωμοσωμάτων από την εικόνα μας και αυτό γιατί η εικόνα μας περιέχει χρωμοσώματα τα οποία είτε εφάπτονται το ένα στο άλλο (*touching chromosomes*) είτε επικαλύπτουν το ένα το άλλο (*overlapping chromosomes*).

Για το λόγο αυτό, κάθε περιοχή ενδιαφέροντος επεξεργάζεται με την βοήθεια τοπικής ισοστάθμισης ιστογράμματος και επαναλαμβάνεται η προηγούμενη μέθοδος



επαναληπτικά σε κάθε περιοχή μέχρι ο αλγόριθμος να μην οδηγή σε εύρεση νέων αντικειμένων.

Η εφαρμογή του αλγορίθμου έχει ως αποτέλεσμα την κατάτμηση των εικόνων μας με ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας. Για την βελτίωση της επίδοσης του αλγορίθμου για τα εφapτόμενα χρωμοσώματα εφαρμόζεται τεχνική διαχωρισμού τους και η επίδοση συνολικά του αλγορίθμου βελτιώνεται σημαντικά.

Στο Κεφάλαιο 1 περιγράφεται το βιολογικό υπόβαθρο όσον αφορά στα ανθρώπινα χρωμοσώματα. Στο 2<sup>ο</sup> Κεφάλαιο γίνεται καταγραφή μεθόδων κατάτμησης που έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί σε ανθρώπινα χρωμοσώματα. Στο Κεφάλαιο 3 αναλύονται γενικές τεχνικές κατάτμησης εικόνων όπου ορισμένες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην μέθοδο μας αναλύονται με αρκετές λεπτομέρειες. Στο 4<sup>ο</sup> Κεφάλαιο περιγράφεται η προτεινόμενη μέθοδος και τέλος στο τελευταίο Κεφάλαιο 5, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εφαρμογής της μεθόδου με χρήση δεδομένων που προέρχονται από το εργαστήριο Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, καθώς και σύγκριση της προτεινόμενης μεθόδου με άλλες μεθόδους.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ</b>	
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.2. ΔΙΑΙΡΕΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ .....	1
1.3. ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ.....	2
1.4. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ .....	3
1.5. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ .....	5
1.6. ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ .....	9
1.7. ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ.....	11
<b>2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ</b>	
2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	13
2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ .....	14
2.2.1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΩΦΛΙΩΣΗΣ .....	14
2.2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΥΡΕΣΗΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ.....	15
2.2.3. ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ Ή ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ .....	19
2.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	21
<b>3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ</b>	
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	22
3.2. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΒΑΣΙΣΜΕΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΚΑΤΩΦΛΙΟΥ.....	23
3.2.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ OTSU.....	24
3.3. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΒΑΣΙΣΜΕΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΑΚΜΩΝ.....	27
3.4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΒΑΣΙΣΜΕΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΟΜΟΙΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ.....	28
3.4.1. ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED.....	28
3.4.2. WATERSHED ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ ΤΩΝ VINCENT & SOILLE .....	34
3.4.3. ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ .....	36
3.4.3.1. ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ .....	38
3.4.4. ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	41
3.5. ΙΣΟΣΤΑΘΜΙΣΗ ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ .....	42
3.6. ΤΟΠΙΚΗ ΙΣΟΣΤΑΘΜΙΣΗ ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ .....	44
3.7. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΑΣ.....	45



<b>4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ</b>	
4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	46
4.2. ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	47
4.3. ΟΜΑΛΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΓΚΑΟΥΣΙΑΝΟΥ ΠΥΡΗΝΑ.....	47
4.4. ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΔΥΑΔΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ .....	49
4.5. ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΜΙΚΡΩΝ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΩΝ.....	50
4.5. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ.....	50
4.6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED.....	53
4.7. ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED .....	60
4.8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ .....	62
<b>5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	
5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	70
5.2. ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	70
5.3. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΛΗΘΟΥΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΕΦΑΠΤΟΝΤΑΙ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ OTSU.....	72
5.4. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΥΡΕΣΗΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑ.....	72
5.5. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ.....	73
5.6. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΚΑΙ ΕΥΡΕΣΗ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ.....	75
5.7. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ.....	76
5.8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	78
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	80
<b>7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α: ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ OTSU</b>	84
<b>8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β: ΟΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΙ ΤΕΛΕΣΤΕΣ DILATION ΚΑΙ EROSION</b>	85





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

### 1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η θεωρία των χρωμοσωμάτων βασίζεται σε παρατηρήσεις σχετικά με την συμπεριφορά των χρωμοσωμάτων κατά τη διαίρεση του πυρήνα των κυττάρων. Πολλοί βιολόγοι προσπάθησαν να εξηγήσουν το κληρονομικό υλικό σε ένα κύτταρο. Αν και το μέγεθος του σπερματοζωαρίου και του ωαρίου διέφερε οι βιολόγοι πίστευαν ότι προσέφεραν το ίδιο στο γενετικό υλικό των απογόνων. Ο πυρήνας αποτέλεσε το πρώτο δομικό στοιχείο του κυττάρου που ερευνήθηκε αφού παρουσίαζε το ίδιο μέγεθος τόσο στο ωάριο όσο και στο σπερματοζωάριο.

Η μελέτη των χρωμοσωμάτων ξεκίνησε το 1956 (3 χρόνια μετά την ανακάλυψη της δομής του DNA) όταν οι Τζιο και Λεναρ ανέπτυξαν κατάλληλες τεχνικές για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων και διαπίστωσαν ότι ο φυσιολογικός αριθμός τους στον άνθρωπο είναι 46 [1]. Έκτοτε, οι γνώσεις μας για τα ανθρώπινα χρωμοσώματα, τη φυσιολογική τους δομή, τη μοριακή τους σύνθεση, τη χαρτογράφηση των γονιδίων που περιέχουν τις πολλές και ποικίλες ανωμαλίες τους διευρύνθηκαν σημαντικά.

### 1.2 ΔΙΑΙΡΕΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

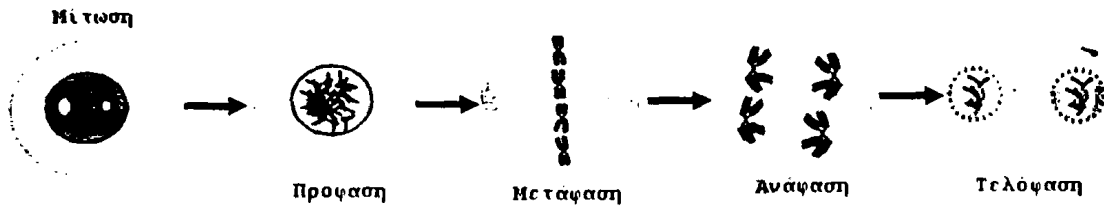
Υπάρχουν δύο είδη κυτταρικής διαίρεσης, η μίτωση και η μείωση. Μίτωση είναι η συνήθης διαίρεση των σωματικών κυττάρων, που επιτρέπει στο σώμα να αναπτύσσεται, να διαφοροποιείται και να αποκαθιστά διάφορες βλάβες. Η μίτωση καταλήγει σε δύο θυγατρικά κύτταρα, κάθε ένα από τα οποία περιέχει χρωμοσώματα και γονίδια πανομοιότυπα με εκείνα του αρχικού κυττάρου.

Τα στάδια της μίτωσης είναι τα ίδια σε όλους τους οργανισμούς και είναι τα εξής, [2]  
Εικόνα 1:

- *Πρόφαση*, αρχικό στάδιο όπου τα χρωμοσώματα συστέλλονται σε μια σπείρα (χρωματίδα) και στην συνέχεια διπλασιάζονται σε δύο αδελφές χρωματίδες.
- *Μετάφαση*, όπου τα χρωμοσώματα μεταφέρονται στον ισημερινό του κυττάρου και παρουσιάζουν την μεγαλύτερη συσπείρωση.
- *Ανάφαση*, οι χρωματίδες έλκονται προς τις αντίθετες πλευρές του κυττάρου.
- *Τελόφαση*, δημιουργία νέας μεμβράνης και διαχωρισμός του κυττάρου.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ



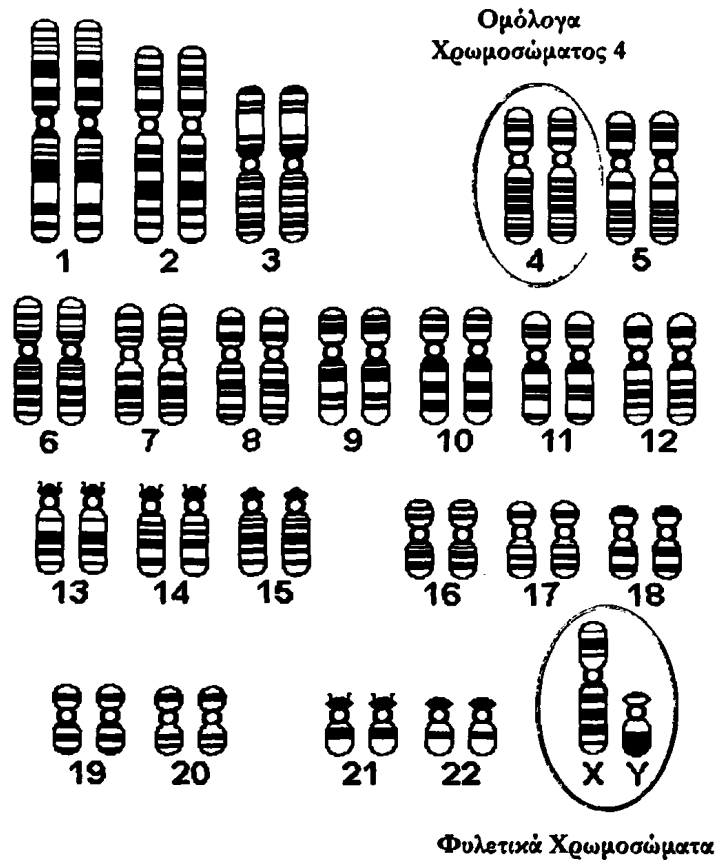
Εικόνα 1: Τα στάδια της μίτωσης.

Η μείωση λαμβάνει χώρα μόνο στα κύτταρα της αναπαραγωγικής σειράς και συμβαίνει μόνο μια φορά σε κάθε γενεά. Η μείωση καταλήγει στον σχηματισμό αναπαραγωγικών κυττάρων (τους γαμέτες), που καθένα διαθέτει μόνο 23 χρωμοσώματα ένα από κάθε είδος αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων και ένα X ή ένα Y [2].

## 1.3 ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

Τα 46 χρωμοσώματα των σωματικών κυττάρων του ανθρώπου σχηματίζουν 23 ζεύγη. Από αυτά, τα 21 είναι όμοια στους άνδρες και στις γυναίκες και ονομάζονται αυτοσωματικά. Το τελευταίο ζεύγος αποτελεί το φυλετικό χρωμόσωμα: XX στις γυναίκες και XY στους άνδρες (Εικόνα 2.1). Τα μέλη ενός ζεύγους (τα οποία ονομάζονται ομόλογα χρωμοσώματα) φέρουν την ίδια γενετική πληροφορία, δηλαδή έχουν τους ίδιους γενετικούς τόπους με την ίδια διάταξη, αν και σε κάθε συγκεκριμένο τόπο μπορεί να έχουν είτε πανομοιότυπες είτε ελαφρά διαφορετικές μορφές, οι οποίες ονομάζονται αλληλόμορφα.

Το ένα μέλος κάθε ζεύγους κληρονομείται από τον πατέρα, ενώ το άλλο από τον πατέρα. Υπό κανονικές συνθήκες, τα μέλη ενός ζεύγους αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων φαίνονται πανομοιότυπα, [2]. Το ίδιο ισχύει για τα δύο χρωμοσώματα X στις γυναίκες, ενώ στους άνδρες τα φυλετικά χρωμοσώματα διαφέρουν μεταξύ τους. Το μεν ένα είναι το χρωμόσωμα X, πανομοιότυπο με τα X των γυναικών, το οποίο ο άνδρας κληρονομεί από τη μητέρα και μεταβιβάζει στις κόρες του, ενώ το άλλο, το χρωμόσωμα Y, κληρονομείται από τον πατέρα και μεταβιβάζεται στους γιούς του.



Εικόνα 2: Τα ανθρώπινα χρωμοσώματα.

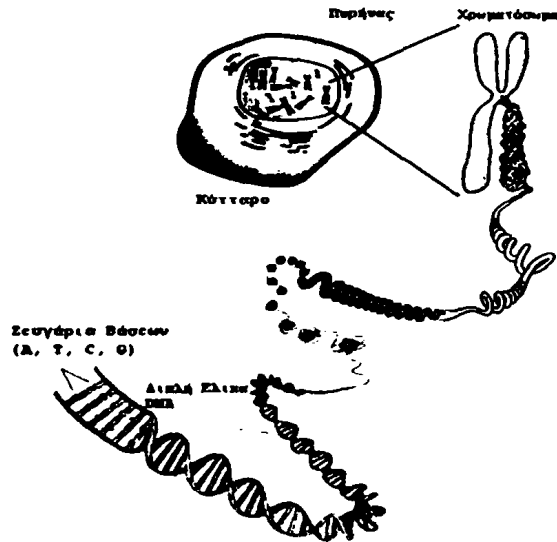


1.4 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Τα χρωμοσώματα ενός διαιρουμένου ανθρώπινου κυττάρου αναλύονται κυρίως κατά τη μετάφαση ή το προμεταφασικό στάδιο της μίτωσης. Κατά το στάδιο αυτό τα χρωμοσώματα φαίνονται στο μικροσκόπιο διασκορπισμένα, (Εικόνα 3) και το καθένα από αυτά αποτελείται από δύο χρωματίδες, (Εικόνα 4). Κάθε χρωματίδα είναι μια διπλή έλικα DNA.



Εικόνα 3: Μετάφαση χρωμοσωμάτων από καλλιέργεια με χρήση Quinacrine χρώσης.

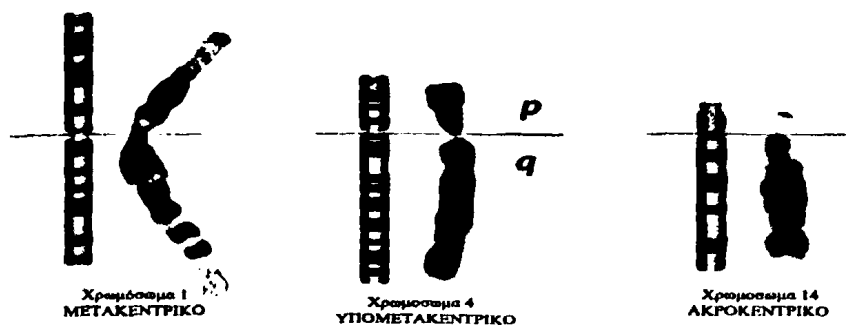


Εικόνα 4: Το ανθρώπινο χρωμόσωμα.

Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από τέσσερα μέρη: Βραχύς Βραχίονας, Μακρός Βραχίονας, Κεντρομερίδιο και Τελομερές. Το κεντρομερίδιο χωρίζει το χρωμόσωμα στα δύο μέρη: τον μικρό ( $p$ ) και τον μεγάλο βραχίονα ( $q$ ).

Ανάλογα με τη θέση του κεντρομεριδίου τα χρωμοσώματα διακρίνονται στους εξής τύπους [2], (Εικόνα 5):

- (α) Ακροκεντρικά (*Acrocentric*), αυτά που εμφανίζονται κυλινδρικά με έναν μικρό βραχίονα στο άκρο, Χρωμοσώματα: 1, 3, 16, 19, 20.
- (β) Υπομετακεντρικά (*Submetacentric*), αυτά που έχουν σχήμα L και αποτελούνται από δύο ανισομεγέθεις βραχίονες, Χρωμοσώματα: 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18.
- (γ) Μετακεντρικά (*Metacentric*), αυτά που έχουν σχήμα V και αποτελούνται από δύο ισομεγέθη περίπου βραχίονες, Χρωμοσώματα: 13, 14, 15, 21, 22, Y.



Εικόνα 5: Κατηγορίες των χρωμοσωμάτων ανάλογα με τη θέση του κεντρομεριδίου.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

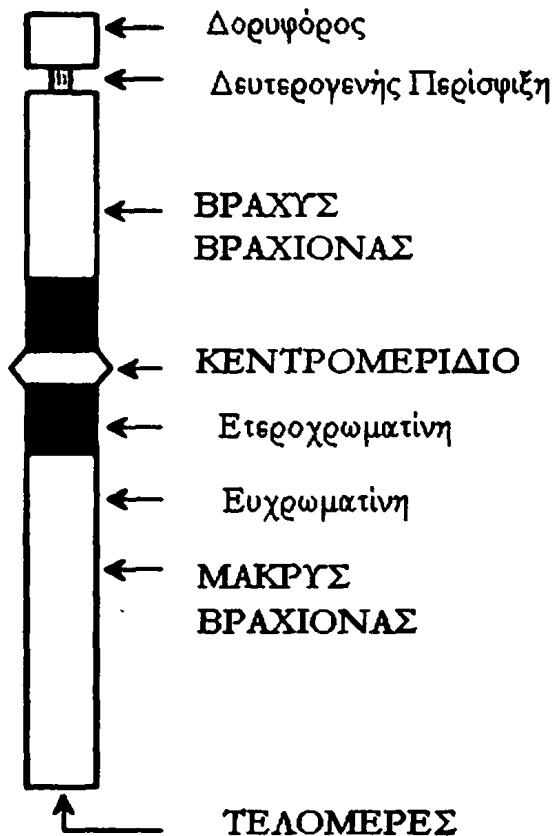
Τα σημαντικότερα μέρη του χρωμοσώματος τα οποία είναι εύκολο να διακριθούν με τη βοήθεια μικροσκοπίου είναι τα εξής [2], (Εικόνα 6):

### Κεντρομερίδιο (*centromere*)

Το σχήμα του χρωμοσώματος καθορίζεται από μια περίσφιξη που υπάρχει στο σώμα του που ονομάζεται κεντρομερίδιο ή πρωτογενής περίσφιξη (*primary constriction*) ή κινητοχώρος (*kinetochore*). Με σύγχρονες μεθόδους βρέθηκε ότι το κεντρομερίδιο έχει πολύπλοκη υφή και αυτό γιατί στο κέντρο του υπάρχει μικρή σφαίρα η οποία έχει λεπτότερη υφή και διακρίνεται σε τρεις ζώνες (έξω, μέση και κεντρική). Κατά την μετάφαση διπλασιάζονται οι ζώνες.

### Δευτερογενής περίσφιξεις (*secondary constrictions*)

Σε μερικά χρωμοσώματα διακρίνεται μια άλλη περίσφιξη διαφορετική της πρωτογενούς (κεντρομεριδίου), η οποία ονομάζεται δευτερογενής. Η δευτερογενής περίσφιξη αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα μερικών χρωμοσωμάτων και είναι χρήσιμη για την αναγνώριση - ταυτοποίηση αυτών.



Εικόνα 6: Τα σημαντικότερα μέρη ενός χρωμοσώματος.

### Δορυφόρος (*satellite*)

Ένα άλλο χαρακτηριστικό γνώρισμα ορισμένων χρωμοσωμάτων είναι η ύπαρξη ενός στρογγυλού ή ωοειδούς σχηματισμού που ονομάζεται δορυφόρος. Τα χρωμοσώματα που έχουν δορυφόρο ονομάζονται sat.

### Πυρηνιακή ζώνη (*nucleolar zone*)

Ορισμένες δευτερογενής περίσφιξεις σχετίζονται με τον σχηματισμό πυρηνίων. Οι περίσφιξεις αυτές έχουν χαρακτηριστική μορφολογία και αποκαλούνται πυρηνιακές ζώνες. Τα χρωμοσώματα που έχουν τέτοιες ζώνες ονομάζονται πυρηνιακά.

### Χρωμονημάτια (*chromonema*)

Υπό ειδικές συνθήκες στις οποίες επιτυγχάνεται εκδίπλωση των χρωμοσωμάτων παρατηρείται η ύπαρξη ενός ελικοειδούς νηματίου το οποίο ονομάζεται χρωμονημάτιο.

### Ευχρωματινή, ετεροχρωματινή, χρωμομερή

Ως ετεροχρωματινή θεωρείται το εντόνως χρωματισμένο τμήμα του χρωμοσώματος ενώ το μη εντόνως ονομάζεται ευχρωματινή. Τα διαφορετικά χρώματα οφείλονται σε διαφορετικές πυκνότητες των ελίκων των χρωμονημάτων. Στις περιοχές της ετεροχρωματινής οι έλικες είναι πλησιέστεροι μεταξύ τους και πολυπληθέστεροι.



Στα χρωμονημάτια παρατηρούνται επίσης και τα χρωμομερή. Τα χρωμομερή χαρακτηρίζονται από τις εναλλασσόμενες πυκνότερες και αραιότερες ζώνες κατά μήκος του χρωμονηματίου. Δεν είναι γνωστό αν οι ζώνες αυτές οφείλονται σε ειδική ελίκωση των χρωμονηματίων ή σε μεγαλύτερη άθροιση DNA στις πυκνές ζώνες.

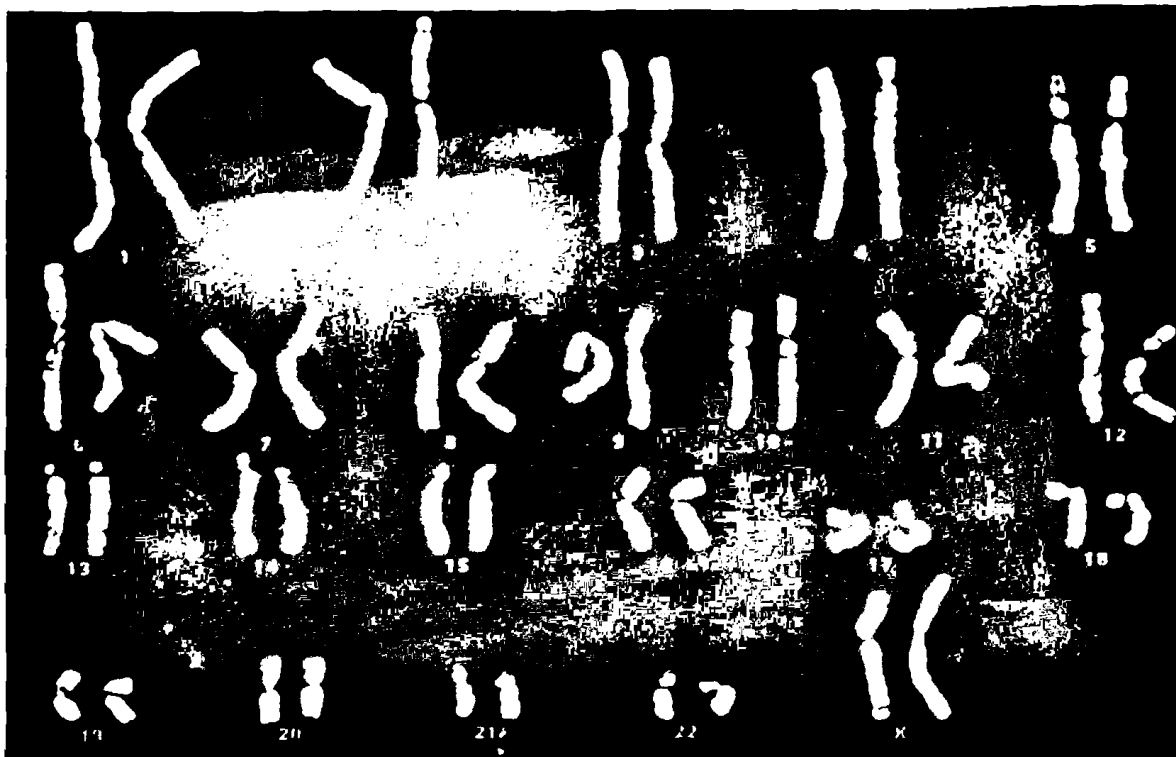
## 1.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Το στάδιο στον κυτταρικό κύκλο στο οποίο μπορούμε να διακρίνουμε καλύτερα και άρα να αναγνωρίσουμε τα χρωματοσώματα είναι η μετάφαση. Από κύτταρα που βρίσκονται στο στάδιο της μετάφασης κατηγοριοποιήθηκαν τα χρωματοσώματα σε 7 κατηγορίες (Α, Β, ..., Γ) βάση του μεγέθους τους [3]. Ο περαιτέρω διαχωρισμός των χρωματοσωμάτων όμως ήταν αρκετά δύσκολος αφού χρωμοσώματα ίδιας κατηγορίας έμοιαζαν αρκετά το ένα με το άλλο.

Δημιουργήθηκε επομένως η ανάγκη για τεχνικές όπου τα χρωματοσώματα θα εμφάνιζαν πιο ευδιάκριτες διαφορές. Δημοσιεύτηκαν αρκετές εργασίες όπου περιγραφόταν πως μπορούσαν να χρωματιστούν τα χρωματοσώματα με την χρήση της φθορίζουσας ουσίας, *Quinacrine* [4].

### Q – Banding

Το αποτέλεσμα ήταν τα χρωματοσώματα να εμφανίζουν σκούρες και φωτεινές περιοχές οι οποίες ονομάστηκαν μπάντες (*bands*), (Εικόνα 7). Οι μπάντες που εμφανίζουν έντονη χρώση ονομάζονται θετικές, ενώ αυτές που εμφανίζουν αδύνατη χρώση ονομάζονται αρνητικές. Οι μπάντες χρησιμοποιήθηκαν ως οδηγοί με την βοήθεια των οποίων οι ειδικοί μπόρεσαν εύκολα να κατατάξουν τα χρωματοσώματα στις 24 κατηγορίες.



Εικόνα 7: Μέθοδος χρώσης Q-Banding.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

Οι φωτεινές ζώνες πιστεύεται ότι είναι περιοχές των χρωμοσωμάτων πλούσιες σε *Adenosine - Thymidine (AT-rich)* ενώ περιοχές πλούσιες σε *Guanine - Cytosine (CG-rich)* φαίνονται πιο σκούρες.

### G - Banding

Είναι από τις πλέον διαδεδομένες μεθόδους χρώσης [5]. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι τα χρωματοσώματα αφού βαφτούν με χρωστική *Giemsa* μπορούν να μελετηθούν από ένα κοινό μικροσκόπιο και όχι μικροσκόπιο φθορισμού.

Κάθε ζεύγος χρωματοσωμάτων παρουσιάζει μια συγκεκριμένη και σταθερή αλληλοδιαδοχή σκούρων και φωτεινών ζωνών (*G - bands*). Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται αρκετά για την δημιουργία του καρυότυπου γιατί πρώτον είναι σχετικά απλή και δεύτερον εντοπίζονται εύκολα χρωμοσωματικές ανωμαλίες βάση των ζωνών με βάση τις ζώνες.



Εικόνα 8: Μέθοδος χρώσης Giemsa.

### C - Banding

Η τεχνική αυτή χρωματίζει επιλεκτικά την περιοχή του κεντρομεριδίου καθώς και όσες άλλες περιοχές περιέχουν ετεροχρωματίνη [6].

- Οι C-bands είναι δυνατόν να διαφέρουν αρκετά σε μέγεθος μεταξύ των ομολόγων ενός ανθρώπου. Οι διαφορές αυτές ονομάζονται C - Bands πολυμορφισμοί ή απλώς ετερομορφισμοί.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

- Οπτικά οι C-bands όλων των ομολόγων χρωματοσωμάτων διαφέρουν μεταξύ τους και κατηγοριοποιούνται σε 5 κατηγορίες (Πολύ μικρές, Μικρές, ..., Πολύ Μεγάλες).

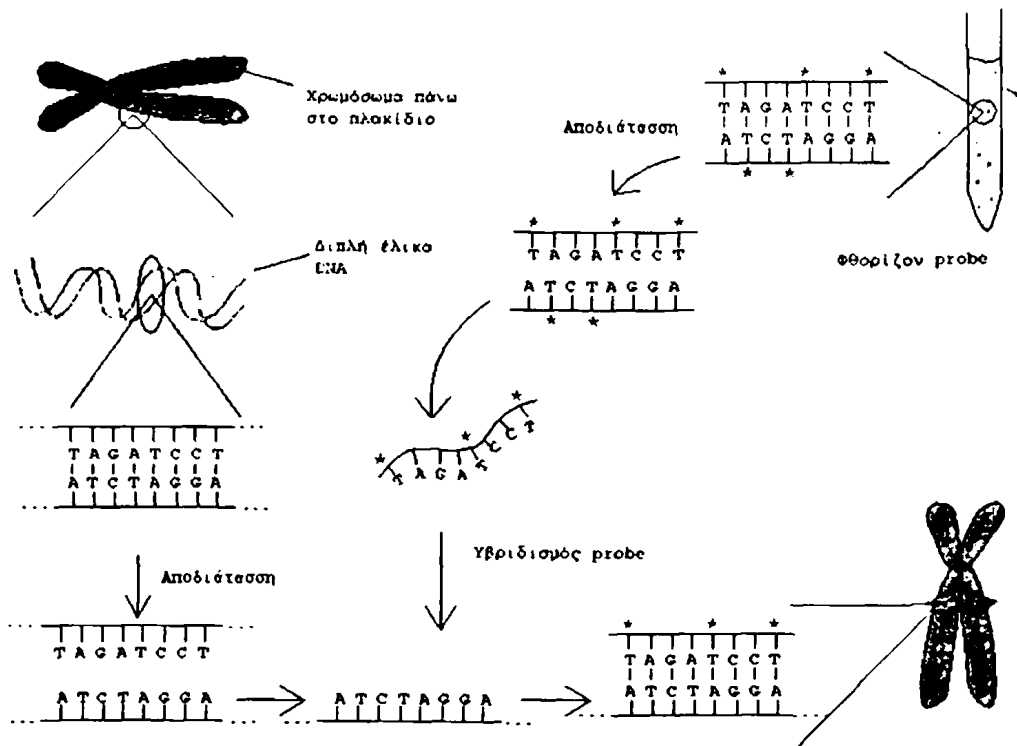


Εικόνα 9: Μέθοδος χρώσης C-Banding.

### Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)

Είναι σχετικά μια νέα μέθοδος [7] η οποία επιτρέπει την χρώση συγκεκριμένων τμημάτων των χρωματοσωμάτων με διάφορα χρώματα. Αρχικά δημιουργούνται ενώσεις (*probes*) οι οποίες είναι συμπληρωματικές στο κομμάτι του χρωματοσώματος (*DNA*) που θέλουμε να φθορίζει και στην συνέχεια προστίθεται κάποια χρωστική ουσία στο *probe* (Εικόνα 10). Τέλος με κατάλληλη επεξεργασία το *probe* υβριδοποιείται (συνδέεται) στο *DNA* και φθορίζει.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ



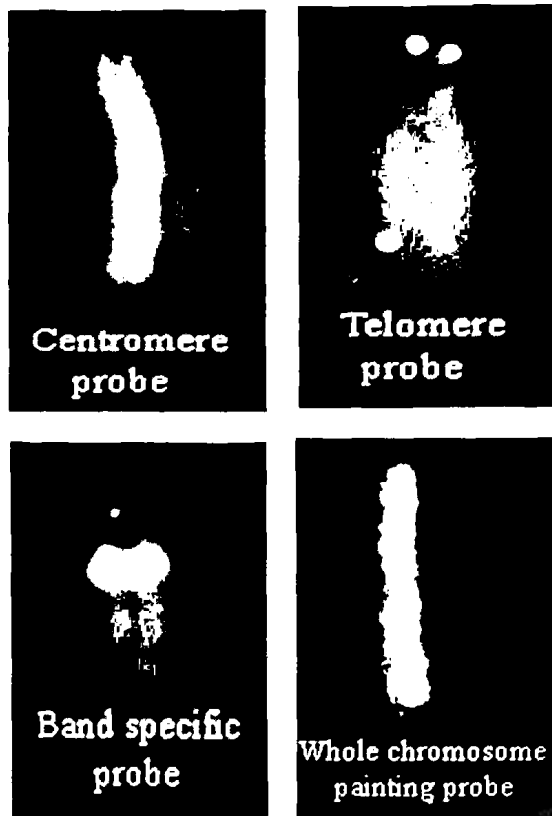
-Εικόνα 10: Μέθοδος FISH.

Έχουν αναπτυχθεί *probes* για διάφορα τμήματα του χρωματοσώματος όπως: Κεντρομερίδιο, Τελομερές, Συγκεκριμένη Μπάντα ακόμα και για ολόκληρα χρωματοσώματα, (Εικόνα 11).

Χρησιμοποιώντας  $N$  φθοριοχρώματα μπορούμε να δημιουργήσουμε  $C = 2N - 1$  διαφορετικά χρώματα (ένα για κάθε *probe*). Με βάση αυτή την τεχνική μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε  $N = 5$  ( $C = 31$ ) φθοριοχρώματα για να χρωματίσουμε και τα 24 χρωματοσώματα με διαφορετικό χρώμα.

Σήμερα έχουν αναπτυχθεί δύο τεχνικές οι οποίες χρησιμοποιούν συνδυασμό φθοριοχρωμάτων ( $N = 5$ ) για να παράγουν 31 χρωματικούς συνδυασμούς, ένα για κάθε χρωματόσωμα.

- **Multiplex FISH (MFISH):** Στην τεχνική αυτή χρησιμοποιούνται ένα σύνολο φίλτρων για την δημιουργία της τελικής εικόνας.<sup>(1)</sup>
- **Spectral Karyotyping (SKY):** Στην τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ένα



Εικόνα 11: Διάφορα probes για συγκεκριμένες περιοχές των χρωμοσωμάτων: Κεντρομερίδιο, Τελομερές, Συγκεκριμένη μπάντα και ολόκληρου χρωμοσώματος.





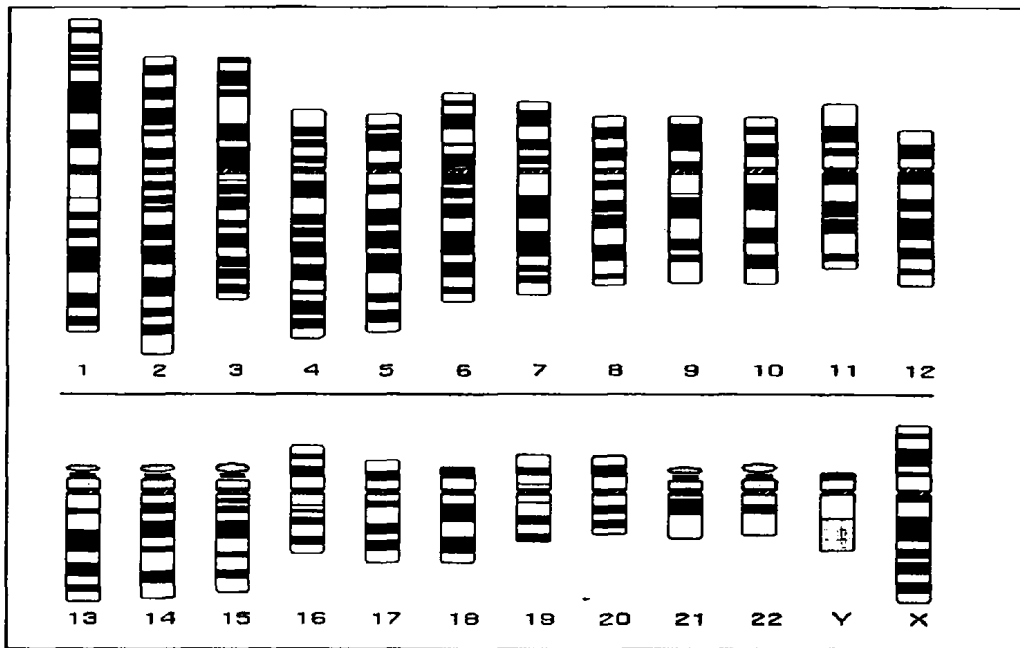
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

INTERFEROMETER με το οποίο καθορίζουμε το χρώμα κάθε pixel της εικόνας του μικροσκοπίου.

## 1.6 ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Οι μπάντες χρησιμοποιήθηκαν ως οδηγοί με την βοήθεια των οποίων οι ειδικοί μπόρεσαν εύκολα να κατατάξουν τα χρωματοσώματα σε 24 κατηγορίες. Το 1971 [8] καθορίστηκαν οι πρότυποι ραβδοκώδικες (*barcodes*) για κάθε χρωματόσωμα και ονομάστηκαν ιδεογράμματα (*Idealized Diagrams*) (Εικόνα 12).

Τα ιδεογράμματα χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα για την κατάταξη των χρωματοσωμάτων από ειδικούς αλλά και από λογισμικό το οποίο αυτοματοποιεί την διαδικασία αναγνώρισης των χρωματοσωμάτων.



Εικόνα 12: Ιδεογράμματα των 24 χρωμοσωμάτων.

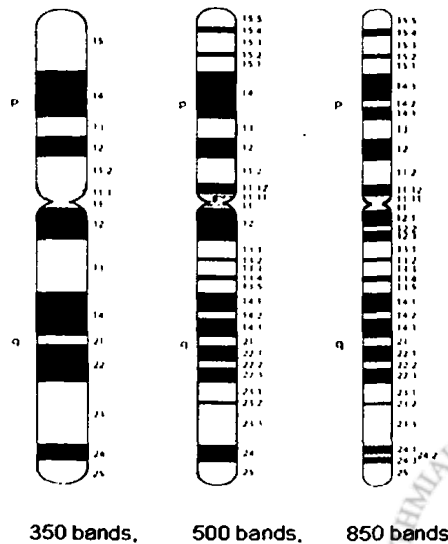
### Αρίθμηση Ζωνών:

Οι ζώνες – μπάντες αριθμούνται συνεχόμενα καθώς απομακρυνόμαστε από το κεντρομερίδιο (Αριθμός 10) και για τους δύο βραχίονες p και q.

### Ανάλυση Ζωνών:

Το συνολικό πλήθος των ζωνών ή η ανάλυση των χρωματοσωμάτων εξαρτάται κυρίως από δύο παράγοντες (Εικόνα 13):

- Πόσο συμπαγές είναι το χρωματόσωμα.
- Σε ποιο στάδιο της μίτωσης βρισκόμαστε.



Εικόνα 13: Διαφορετικές αναλύσεις ζωνών.

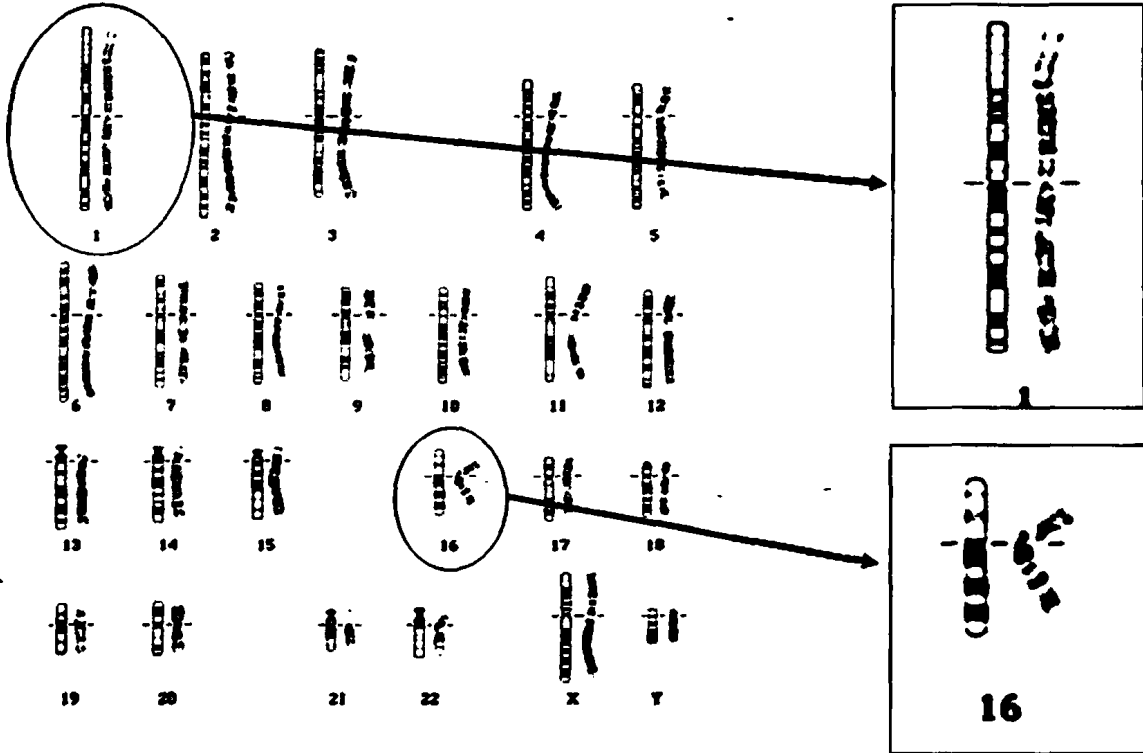


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

π.χ. Ανάλυση 350-bands προκύπτει για χρωματοσώματα που βρίσκονται στο τελικό στάδιο της μετάφασης, ενώ έχει επιτευχθεί και ανάλυση 1250-2000.

Μορφή Ζωνών:

Η μορφή των ζωνών λειτουργεί σαν πρότυπο για την ταυτοποίηση της κατηγορίας ενός χρωματοσώματος (Εικόνα 14).



Εικόνα 14: Η μορφή των ζωνών όπως αυτή καθορίζει την κατηγορία καθενός χρωμοσώματος π.χ. 1, 16.

Μήκος:

Βάση του μεγέθους μπορούμε να κατατάξουμε τα χρωματοσώματα σε μια από τις επτά κατηγορίες A, B, C, ..., G. Το σχετικό μήκος του  $k$ -οστού χρωμοσώματος  $(RL)_k$  για τα ανθρώπινα χρωματοσώματα κυμαίνεται ανάλογα με την κατηγορία ως εξής:

$$(RL)_k = \frac{(\text{Μήκος Χρωμοσώματος})_k}{\sum_{i=1}^{46} (\text{Μήκος Χρωμοσώματος})_i} \quad (1.1)$$

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1), φαίνεται το σχετικό μήκος κάθε μια από τις 7 κατηγορίες χρωμοσωμάτων [2].

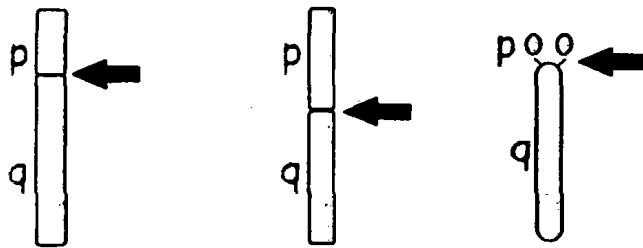
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

	Κατηγορία – Χρωμοσώματα	Σχετικό Μήκος
Μεγάλα Χρωμοσώματα	A (1, 2, 3)	6.8 – 8.4
	B (4, 5)	6.3 – 6.1
Μεσαία Χρωμοσώματα	C (6,7, 8, 9, 10, 11, 12)	4.7 – 5.9
	D (13, 14, 15)	3.5 – 3.7
Μικρά Χρωμοσώματα	E (16, 17, 18)	2.9 – 3.4
	F (19, 20)	1.9 – 2.0
	G (21, 22)	2.1 – 2.2
Φυλετικά Χρωμοσώματα	C (X)	~5.1
	G (Y)	~2.2

Πίνακας 1: Σχετικό μήκος χρωμοσωμάτων βάση του μεγέθους τους και αντίστοιχη κατηγορία.

### Θέση του Κεντρομεριδίου

Η θέση του κεντρομεριδίου, (Εικόνα 15), μας υποδεικνύει σε ποια από τις τρεις κατηγορίες ανήκει το χρωμόσωμα. Ακροκεντρικό, Υπομετακεντρικό, Μετακεντρικό μπορούμε έτσι να εξάγουμε και το λόγο μικρού προς μεγάλο βραχίονα, (1.2).



Υπομετακεντρικό Μετακεντρικό Ακροκεντρικό

Εικόνα 15: Οι τρεις κατηγορίες των χρωμοσωμάτων ανάλογα με τη θέση του κεντρομεριδίου.

$$\text{Λόγος Βραχίωνων} = \frac{\text{Μήκος } q \text{ βραχίονα}}{\text{Μήκος } p \text{ βραχίονα}} \quad (1.2)$$

Στον πίνακα 2, παρουσιάζουμε το λόγο μεγάλου προς μικρό βραχίονα για τις τρεις κατηγορίες χρωμοσωμάτων.

	Χρωμοσώματα	Λόγος Βραχίωνων
Υπομετακεντρικά	2,4,5,6,7,8,9,10,11,12,17,18	< 1
Μετακεντρικά	1,3,16,19,20	≅ 1
Ακροκεντρικά	13,14,15,21,22,Y	≅ 0

Πίνακας 2: Λόγος μικρού προς μεγάλο βραχίονα και η αντίστοιχη κατηγορία κάθε χρωμοσώματος.

### 1.7 ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Η αναγνώριση και κατηγοριοποίηση των χρωμοσωμάτων οδήγησε στην ανακάλυψη διάφορων ανωμαλιών των χρωμοσωμάτων. Σήμερα είναι γνωστό, ότι οι χρωμοσωματικές διαταραχές αποτελούν μια πολύ σημαντική κατηγορία γενετικών



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

νοσημάτων όπως αποτυχημένων κυήσεων, περιστατικών διανοητικής καθυστέρησης κ.α. Επίσης, παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του καρκίνου.

Οι ανωμαλίες των χρωματοσωμάτων είναι είτε αριθμητικού είτε δομικού χαρακτήρα (μορφολογίας) και μπορεί να εμπλέκουν ένα ή και περισσότερα αυτοσωματικά χρωματοσώματα, φυλετικά χρωματοσώματα ή και τα δύο.

Οι δομικού τύπου ανωμαλίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

- **Μεταθέσεις:** ανταλλαγή τμημάτων μεταξύ μη ομολόγων χρωμοσωμάτων.
- **Διαγραφές:** διαγραφή τμήματος του χρωμοσώματος.
- **Επαναλήψεις:** επανάληψη τμήματος του χρωμοσώματος.
- **Αναστροφές:** όταν ένα χρωμόσωμα υποστεί δύο θραύσεις και ανασυντεθεί με ανεστραμμένο το τμήμα μεταξύ των δύο σημείων θραύσεως.

Η συχνότητα διαφόρων τύπων χρωμοσωματικών ανωμαλιών υπολογίστηκε σε μια σειρά από μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες. Στον παρακάτω πίνακα 3 παρουσιάζουμε συνοπτικά τη συχνότητα εμφάνισης καθενός τύπου χρωμοσωματικής ανωμαλίας που έγινε σε ένα αρκετό μεγάλο δείγμα νεογνών (56480) [9]. Φαίνεται ξεκάθαρα ότι 1 στα 160 νεογνά γέννιούνται με κάποιο τύπο χρωμοσωματικής ανωμαλίας.

ΤΥΠΟΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑΣ	ΠΛΗΘΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
Αριθμητική Ανωμαλία	82	1/695
Δομική Ανωμαλία	144	1/395
Φυλετική Ανωμαλία	127	1/448
<b>ΣΥΝΟΛΟ (Δείγμα 56480)</b>	<b>353</b>	<b>1/160</b>

Πίνακας 3: Συχνότητα χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε μελέτες νεογνών.

### 1.8 ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΙΚΟΝΩΝ

Επιλέξαμε να εφαρμόσουμε την μέθοδό μας σε εικόνες C-banding, μια τεχνική η οποία χρωματίζει εκλεκτικά την περιοχή του κεντρομεριδίου, αλλά επιπλέον επιλέξαμε να πάρουμε εικόνες και από την τεχνική DAPI με rancentromeric probe, μια αρκετά νέα τεχνική η οποία χρωματίζει επιλεκτικά και αυτή το κεντρομερίδιο. Και οι δύο τεχνικές χρωματίζουν ομοιόμορφα το χρωμόσωμα.

Σκοπός της λήψης και των δύο τύπων ήταν μετά την κατηγοριοποίηση των χρωμοσωμάτων να μελετήσουμε το κεντρομερίδιο. Αυτό έγινε γιατί ήδη έχουν παρουσιαστεί έρευνες [52] όπου παρουσιάζονται τεχνικές για τον διαχωρισμό ομολόγων χρωμοσωμάτων, π.χ. του χρωμοσώματος 22, βάση της φωτεινότητας του κεντρομεριδίου. Γενικά ο διαχωρισμός των ομολόγων χρωμοσωμάτων αποτελεί ένα καινούργιο πεδίο έρευνας που θα βοηθήσει την έρευνα θεραπείας του καρκίνου.



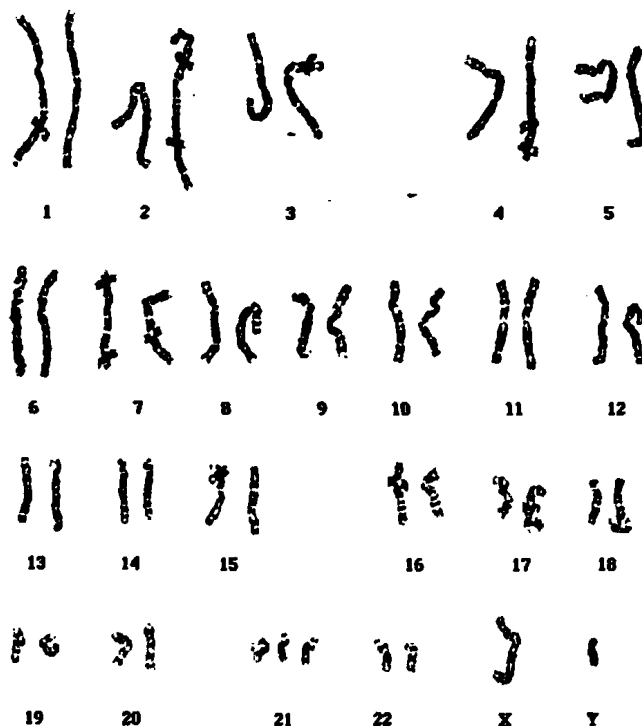
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

#### 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σκοπός του κεφαλαίου αυτού είναι να παρουσιάσει την έρευνα που έχει γίνει μέχρι σήμερα για την κατάτμηση εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων. Η κατάτμηση αποτελεί το πρώτο και ίσως το σπουδαιότερο βήμα της κατηγοριοποίησης των χρωμοσωμάτων σε κάθε μια κατηγορία (1, 2, ..., 22, X, Y).

Η κατηγοριοποίηση χρωμοσωμάτων είναι αρκετά χρήσιμη για έναν κυτταρογενετιστή μιας και αποτελεί το βασικό εργαλείο για την εύρεση χρωμοσωματικών ανωμαλιών οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε αρκετά γενετικά νοσήματα (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Καρυότυπος με παραπάνω το 21 χρωμοσώματα (Down Syndrome).

## **2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ**

Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αλγόριθμοι κατάτμησης εικόνων χρωμοσωμάτων. Υπάρχουν εργασίες που αντιμετωπίζουν μόνο το πρόβλημα των χρωμοσωμάτων που εφάπτονται το ένα στο άλλο αλλά και άλλες που ασχολούνται τόσο με το προηγούμενο πρόβλημα όσο και με το πρόβλημα των χρωμοσωμάτων που επικαλύπτουν το ένα το άλλο.

Οι μέθοδοι που περιγράφονται στην βιβλιογραφία μέχρι σήμερα για την κατάτμηση εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων μπορούν να ταξινομηθούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- ❑ **Μέθοδοι κατωφλίωσης, [10, 11]:** Επιλέγεται ένα κατώφλι  $T$ , για τη μετατροπή της εικόνας σε δυαδική. Είναι απλές αλλά δεν επιλύουν τα προαναφερθέντα προβλήματα που παρουσιάζονται στις εικόνες χρωμοσωμάτων.
- ❑ **Μέθοδοι εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας, [12, 13, 14]:** Οι μέθοδοι αυτοί προσπαθούν να αντιμετωπίσουν το πρόβλημα των χρωμοσωμάτων που ακουμπούν το ένα το άλλο εντοπίζοντας ένα μονοπάτι το οποίο γενικά περνά ανάμεσα από τα χρωμοσώματα χωρίς να τα τέμνει. Είναι αρκετά πολύπλοκοι μέθοδοι και δεν έχουν καλά αποτελέσματα στην περίπτωση όπου πολλά χρωμοσώματα ακουμπούν το ένα το άλλο.
- ❑ **Μέθοδοι σύγκρισης περιοχών με χρήση προτύπων ή χαρακτηριστικών [15, 16, 17, 18]:** Οι μέθοδοι αυτοί αφού εντοπίσουν όλα τα χρωμοσώματα που εφάπτονται το ένα στο άλλο, στη συνέχεια ορίζουν ευθείες από σημεία υψηλής κύρτωσης. Κάθε ευθεία θεωρείται ότι χωρίζει το αντικείμενο. Κάθε πιθανή ευθεία εξετάζεται για το αν χωρίζει σωστά το αντικείμενο ως εξής:
  - Εξάγονται χαρακτηριστικά από κάθε αντικείμενο και εξετάζονται με χρήση νευρωνικού δικτύου αν είναι λύση.
  - Εξετάζονται κατά πόσο τα αντικείμενα που προκύπτουν από το χωρισμό ταιριάζουν από ένα σύνολο αποθηκευμένων προτύπων χρωμοσωμάτων.Γενικά είναι αποτελεσματικοί μέθοδοι αλλά απαιτούν την δημιουργία βάσης δεδομένων από ξεχωριστά χρωμοσώματα.

### **2.2.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΩΦΛΙΩΣΗΣ**

Μια από τις πρώτες μεθόδους η οποία εφαρμόστηκε για την κατάτμηση εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων το 1987, ήταν η επιλογή ενός κατωφλίου για τη μετατροπή της εικόνας σε δυαδική [10, 11]. Το κατώφλι αυτό βρισκόταν με την βοήθεια του ιστογράμματος και ήταν κάποιο σημείο μετά την πρώτη κορυφή του ιστογράμματος η οποία αντιστοιχίζόταν στην μέση τιμή φωτεινότητας του υποβάθρου.

Η μέθοδος αυτή προφανώς δεν ξεχώριζε ένα αριθμό χρωμοσωμάτων τα οποία είτε εφάπτονταν το ένα στο άλλο είτε κάλυπταν το ένα το άλλο. Την διαδικασία της κατάτμησης την συμπλήρωνε ένας τεχνικός ο οποίος με την βοήθεια ειδικού λογισμικού ξεχώριζε τα παραπάνω χρωμοσώματα.



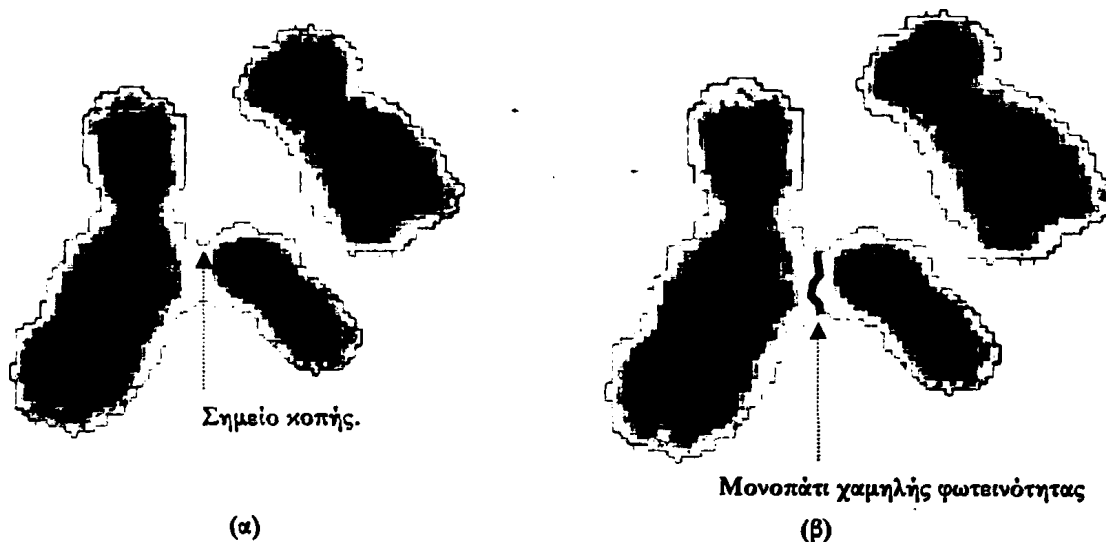
2.2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΥΡΕΣΗΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ

Στο τέλος της δεκαετίας του '80 και ενώ οι μέθοδοι κατωφλίωσης που παρουσιάστηκαν μέχρι τότε δεν έλυαν βασικά προβλήματα όπως των εραπτομένων και επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων, παρουσιάστηκαν νέοι μέθοδοι για την αντιμετώπιση των προηγούμενων προβλημάτων.

Από τις πρώτες εργασίες [12] και μια από τις σημαντικότερες που παρουσιάστηκαν το 1989 και σημείωσαν μεγάλο ποσοστό επιτυχίας στην κατάτμηση εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων (~95%) ήταν η μέθοδος εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας. Η μέθοδος βασίζεται σε μια ανάλυση των μη κυρτών σημείων του εξωτερικού συνόρου του χρωμοσώματος, όπως προέκυπε αυτό μετά από την μετατροπή της εικόνας σε δυαδική μετά την επιλογή κατωφλίου. Στη συνέχεια υπολογίζεται ένα μονοπάτι χαμηλής φωτεινότητας.

Οι βασικές υποθέσεις που κάνει αυτή η μέθοδος και οι οποίες τις περισσότερες φορές είναι σωστές είναι οι εξής:

1. Σε σημεία (*cut points*) που τα χρωμοσώματα ακουμπούν το ένα το άλλο στο σύνορο των χρωμοσωμάτων δημιουργείται μεγάλη γωνία (Εικόνα 2(α)). Στα σημεία αυτά, σημεία κοπής, θεωρούμε ότι πρέπει να ξεκινήσουμε να κόψουμε τα χρωμοσώματα μέχρι να φθάσουμε στο απέναντι σύνορο.
2. Σε σημεία που τα χρωμοσώματα ακουμπούν το ένα το άλλο η φωτεινότητα είναι αρκετά μικρή (Εικόνα 2(β)). Τέτοια σημεία δημιουργούν ένα μονοπάτι χαμηλής φωτεινότητας (μικρότερης από αυτής των χρωμοσωμάτων).



Εικόνα 2: (α) Σημεία κοπής (*cut points*) στο σύνορο των χρωμοσωμάτων. (β) Μονοπάτια χαμηλής φωτεινότητας (*pale paths*).

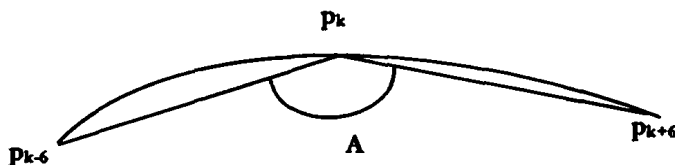
Ο αλγόριθμος περιγράφεται από τα ακόλουθα βήματα:

Εύρεση Σημείου Κοπής

Αρχικά η εικόνα μετατρέπεται σε δυαδική επιλέγοντας ένα κατώφλι  $T$ . Στην συνέχεια βρίσκονται όλα τα κρίσιμα σημεία. Αυτό γίνεται ως εξής:

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Έστω  $\{p_j, j=1..n\}$  το σύνολο των εικονοστοιχείων που βρίσκονται στο σύνορο των χρωμοσωμάτων που από εδώ και πέρα θα ονομάζουμε αντικείμενο λόγω του γεγονότος ότι μπορεί να περιέχονται ένα ή και περισσότερα χρωμοσώματα. Τότε η γωνιά στο εικονοστοιχείο  $p_j$  ορίζεται ως η γωνία που σχηματίζεται από το διάνυσμα  $(p_j, p_{j+k})$  με το διάνυσμα  $(p_{j-k}, p_j)$ , όπου  $k$  ένας μικρός ακέραιος. Όταν για οποιοδήποτε εικονοστοιχείο είναι μικρότερη από  $180^\circ$  είναι μια κυρτή γωνία ενώ αν είναι πάνω από  $180^\circ$  τότε είναι μια μη κυρτή γωνία. Για να γίνουμε πιο ακριβείς για κάθε εικονοστοιχείο υπολογίζεται η γωνία  $A = \angle p_{j-k} p_j p_{j+k}$  (Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Γωνία που σχηματίζουν τα δύο διανύσματα.

Όταν η γωνία  $A$  υπερβεί ένα όριο ( $120^\circ$ ) τότε θεωρούμε ότι ένα σημείο κοπής έχει βρεθεί. Βέβαια κατά μήκος του συνόρου του αντικειμένου δεν βρίσκεται ένα αλλά πολλά περισσότερα σημεία κοπής. Για το λόγο αυτό δημιουργείται μια λίστα με τα σημεία που σχηματίζουν μεγάλη γωνία. Αν υπάρχει ένα γκρουπ από γειτονικά σημεία κοπής ( $>1$ ) τότε επιλέγουμε το μεσαίο και διαγράφουμε τα υπόλοιπα. Αποτέλεσμα του βήματος αυτού του αλγορίθμου είναι η δημιουργία μια λίστας από υποψήφια σημεία κοπής για κάθε αντικείμενο της εικόνας χρωμοσωμάτων.

### Εύρεση Μονοπατιού Χαμηλής Φωτεινότητας

Η εύρεση ενός μονοπατιού χαμηλής φωτεινότητας γενικά μπορούμε να φανταστούμε ότι κινείται σαν ένα φαλίδι που κόβει δύο χρωμοσώματα τα οποία ενώνονται. Έτσι η εύρεση ενός μονοπατιού χαμηλής φωτεινότητας θεωρούμε ότι ξεκινά από ένα σημείο κοπής και τελειώνει σε ένα "απέναντι" σημείο του συνόρου περνώντας από εικονοστοιχεία χαμηλότερης φωτεινότητας απ' ό,τι εικονοστοιχεία τα οποία βρίσκονται στο εσωτερικό του χρωμοσώματος.

Η εύρεση του μονοπατιού βασίζεται στους ακόλουθους κανόνες

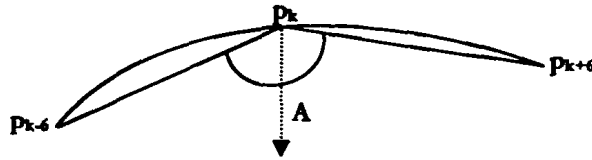
#### Κατεύθυνση:

Αρχικά η κατεύθυνση του μονοπατιού είναι της διχοτόμου της γωνίας στο αρχικό σημείο κοπής (Εικόνα 4). Ύστερα από μερικά σημεία (d-points) επαναπροσδιορίζεται η κατεύθυνση. Αν το τρέχον σημείο είναι το  $p_n$  τότε η κατεύθυνση από το  $p_{n-d}$  στο  $p_n$  είναι η καινούργια κατεύθυνση, (Εικόνα 5).

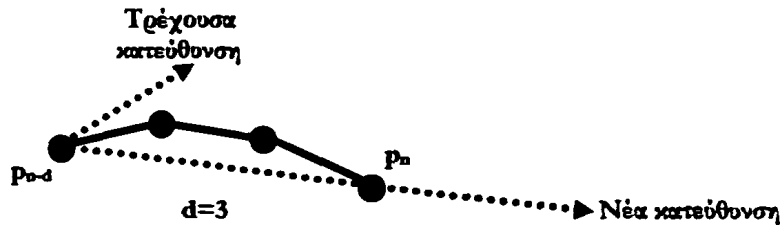




ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ



Εικόνα 4 : Αρχική κατεύθυνση του μονοπατιού, η διχοτόμος της γωνίας του αρχικού σημείου κοπής.



Εικόνα 5 : Επαναπροσδιορισμός της κατεύθυνσης του μονοπατιού.

Περιοχή ενδιαφέροντος:

Σε κάθε σημείο διάλεξε από τα 8 εικονοστοιχεία της γειτονιάς του αυτά που είναι “πάνω” από την κάθετη της τρέχουσας κατεύθυνσης (Εικόνα 6).

Κριτήριο Φωτεινότητας:

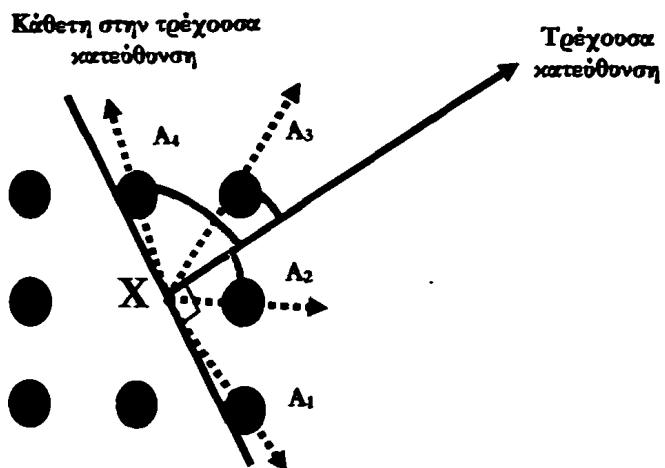
Για τα εικονοστοιχεία αυτά ( $A_i$ ) αντικατέστησε τη φωτεινότητά καθενός από αυτά με την μέση φωτεινότητα των 24 γειτόνων του (Εικόνα 6). Επέλεξε αυτό με τη μικρότερη τιμή:

$$V_i = I_{neighborhood(i)} * W_i \quad (2.1)$$

όπου

$I_{neighborhood(i)}$ : η μέση φωτεινότητα των 24 γειτόνων του  $i$  εικονοστοιχείου.

$W_i$ : βάρος. Μικρότερο βάρος για εικονοστοιχεία  $i$  που βρίσκονται κοντά στην αρχική κατεύθυνση.



Εικόνα 6 : Το εικονοστοιχείο  $A_3$  σχηματίζει την μικρότερη γωνία με την τρέχουσα κατεύθυνση και θα έχει το μικρότερο βάρος.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Η μέθοδος αυτή αν και χρησιμοποιεί δύο βασικές υποθέσεις τις οποίες είδαμε προηγουμένως επιτυγχάνει να ξεχωρίσει σωστά χρωμοσώματα που εφάπτονται το ένα στο άλλο με μεγάλο ποσοστό επιτυχίας ~95%. Ένα επιπρόσθετο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι είναι αρκετά γρήγορη.

Μια ακόμη μέθοδος [13] που βασίζεται στην εύρεση μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας για την κατάτμηση εικόνων χρωμοσωμάτων παρουσιάστηκε το 1994. Η μέθοδος αυτή θα λέγαμε ότι αποτελεί εξέλιξη της προηγούμενης μεθόδου [12] και η οποία επιπλέον αντιμετωπίζει για πρώτη φορά το πρόβλημα των επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων (*overlapping chromosomes*).

Σε αυτή τη μέθοδο αρχικά επιλέγεται ένα κατώφλι, όπως και στις προηγούμενες, για την μετατροπή της εικόνας χρωμοσωμάτων σε δυαδική. Το σημείο αυτό είναι το σημείο που γίνεται μηδέν η πρώτη παράγωγος του ιστογράμματος της εικόνας μετά την πρώτη κορυφή όμως, η οποία αντιπροσωπεύει τη μέση φωτεινότητα του υποβάθρου. Το αρχικό αυτό κατώφλι καταφέρνει να ξεχωρίσει σωστά κατά μέσο όρο το 65% των χρωμοσωμάτων για ένα κύτταρο.

Στην συνέχεια ακολουθείται μια μέθοδος για την εκτίμηση του αριθμού των χρωμοσωμάτων για κάθε μια εικόνα. Ο αριθμός αυτός αποτελεί το κριτήριο πάνω στο οποίο βασίζεται ο αναδρομικός αλγόριθμος που προτείνεται ώστε να τερματιστεί ή να συνεχιστεί ή ακόμη και να τροποποιηθούν ορισμένοι παράμετροι ώστε ο αριθμός των αναγνωρισμένων χρωμοσωμάτων να πλησιάζει αρκετά τον εκτιμώμενο αριθμό χρωμοσωμάτων.

Η μέθοδος εκτίμησης του αριθμού των χρωμοσωμάτων βασίζεται στην ακόλουθη παρατήρηση: Το εμβαδόν κάθε χρωμοσώματος για μια σωστά κατατμημένη εικόνα χρωμοσωμάτων δημιουργεί μια γραμμική εξάρτηση μετά από ταξινόμηση (μικρότερο προς μεγαλύτερο), με μόνο μερικά μεγάλα χρωμοσώματα να αποτελούν την εξαίρεση.

Ο αλγόριθμος που προτείνεται βασίζεται σε κανόνες και είναι αναδρομικός. Κάθε φορά που επιλέγεται ένα αντικείμενο να χωριστεί (*touching* ή *overlapping chromosomes*) υπολογίζονται ένα πλήθος χαρακτηριστικών όπως:

- Ο αριθμός των αντικειμένων στην εικόνα.
- Εμβαδόν, μήκος συνόρου (περίμετρος) αντικειμένου, μέση φωτεινότητα αντικειμένου.
- Μέση φωτεινότητα περιμέτρου.
- Η μέση τιμή φωτεινότητας για ένα κάθε μονοπάτι που χωρίζει το αντικείμενο κ.α.

Όλοι αυτοί οι παραπάνω παράμετροι χρησιμοποιούνται ώστε να διαπιστωθεί αν ένα μονοπάτι χαμηλής φωτεινότητας έχει "κόψει" σωστά ένα αντικείμενο το οποίο περιέχει δύο και περισσότερα χρωμοσώματα τα οποία ακουμπούν το ένα το άλλο.

Το νέο πρόβλημα που αντιμετωπίζει η μέθοδος αυτή και το οποίο αναφέραμε και προηγουμένως είναι τα αντικείμενα τα οποία περιέχουν χρωμοσώματα που επικαλύπτουν το ένα το άλλο. Το βασικό στοιχείο που χρησιμοποιεί ο αλγόριθμος αυτός είναι ο σκελετός του αντικειμένου. Ο σκελετός ενός αντικειμένου αποτελείται από σημεία που βρίσκονται εσωτερικά του αντικειμένου και ισαπέχουν από το σύνορο του αντικειμένου.

Παρατηρήθηκε έτσι ότι ο σκελετός ενός αντικειμένου που περιέχει δύο ή και περισσότερα χρωμοσώματα που επικαλύπτουν το ένα το άλλο θα πρέπει να έχει έναν κόμβο,



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

δηλαδή ο σκελετός του αντικειμένου αποτελείται από δύο ή και περισσότερες γραμμές οι οποίες τέμνονται σε ένα σημείο τον κόμβο. Επίσης παρατηρήθηκε ότι σε αντικείμενα που περιέχουν δύο χρωμοσώματα που επικαλύπτουν το ένα το άλλο δημιουργούνται τέσσερα υποψήφια σημεία κοπής. Η μέση φωτεινότητα της περιοχής που σχηματίζεται από αυτά τα τέσσερα σημεία είναι υψηλότερη απ' ό τι η μέση φωτεινότητα όλου του αντικειμένου.

Η μέθοδος αυτή, δυστυχώς χρησιμοποιεί έναν υπερβολικό αριθμό παραμέτρων οι οποίοι θα πρέπει να εκτιμηθούν από συνεχή εφαρμογή του αλγορίθμου. Επίσης είναι αρκετά περίπλοκη αφού περιέχει ένα μεγάλο αριθμό από εμπειρικούς κανόνες. Παρόλα αυτά καταφέρνει να πετύχει αρκετά μεγάλο ποσοστό επιτυχίας για την σωστή κατάτμηση χρωμοσωμάτων που κυμαίνεται μεταξύ 91-95%.

Στις προαναφερθείσες μεθόδους που βασίζονται στην εύρεση των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας θα λέγαμε ότι ανήκει και η μέθοδος [14] η οποία παρουσιάστηκε το 1999 και ασχολείται και αυτή με το πρόβλημα της αναγνώρισης χρωμοσωμάτων που επικαλύπτουν το ένα το άλλο χρησιμοποιώντας τον *cross section sequence graph (CSSG)*.

Ο γράφος αυτός περιγράφει περιοχές της εικόνας οι οποίες θεωρούνται ότι είναι δύο κατηγοριών: ομαλές και ασυνήθιστες. Κάθε κόμβος του γράφου αναπαριστά μια περιοχή και δύο κόμβοι συνδέονται όταν οι δύο αντίστοιχες περιοχές τους συνδέονται.

Με την χρησιμοποίηση του γράφου και με την βοήθεια των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας αναγνωρίζονται τα περισσότερα επικαλυπτόμενα χρωμοσώματα. Το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου κυμαίνεται κοντά στο 82%.

### 2.2.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ Ή ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Στην δεκαετία του '90 παράλληλα με τις μεθόδους εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας εμφανίστηκαν μέθοδοι που βασίζονται στο διαχωρισμό αντικειμένων της εικόνας. Κύριο χαρακτηριστικό των μεθόδων αυτών είναι η σύγκριση των διαχωριζόμενων αντικειμένων με μια σειρά από αποθηκευμένα πρότυπα ή χαρακτηριστικά.

Μια τέτοια μέθοδος [15] η οποία παρουσιάστηκε το 1997 έκανε χρήση των σημείων κοπής που για πρώτη φορά ονομάζονταν σημεία ενδιαφέροντος. Τα σημεία αυτά διέφεραν από τα σημεία κοπής από το γεγονός ότι προκύπτουν ως τα τοπικά ελάχιστα και μέγιστα της συνάρτησης κυρτότητας. Για συνάρτηση κυρτότητας χρησιμοποιείται η κλίση η οποία μετρά τη γωνία που σχηματίζει το εικονοστοιχείο που εξετάζουμε με τα δύο κειτονικά του που βρίσκονται στο σύνορο του αντικειμένου.

Αφού βρεθούν όλα τα ενδιαφέροντα σημεία, τα οποία ουσιαστικά αποτελούν τα σημεία κοπής, ορίζονται ευθείες γραμμές για κάθε δύο από αυτά. Αυτές οι γραμμές θεωρούμε ότι χωρίζουν χρωμοσώματα που είτε εφάπτονται, είτε επικαλύπτουν το ένα το άλλο. Έτσι δημιουργούνται όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί αντικειμένων που προκύπτουν αν κάνουμε την παραπάνω θεώρηση. Κάθε συνδυασμός αντικειμένων εξετάζεται ως μια πιθανή λύση κατάτμησης (χρωμόσωμα) και αποτιμάται με την χρήση κάποιων προτύπων σχημάτων.

Δυστυχώς όλη η διαδικασία που περιγράφεται βασίζεται σε αρκετά πολύπλοκα βήματα. Επιπλέον, μια άλλη βασική υπόθεση που κάνει η μέθοδος και η οποία δεν ισχύει



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

τις περισσότερες φορές είναι ότι υπάρχει πάντα ευθεία που χωρίζει εφαπτόμενα ή επικαλυπτόμενα χρωμοσώματα.

Μια μέθοδος σύγκρισης χαρακτηριστικών είναι και η [16] η οποία παρουσιάστηκε ένα χρόνο αργότερα, 1998 και η οποία αρχικά μετατρέπει την εικόνα σε δυαδική με την βοήθεια του αλγόριθμου K-means. Στην συνέχεια αναγνωρίζονται αντικείμενα που περιέχουν χρωμοσώματα που ακουμπούν το ένα το άλλο και υπολογίζονται τα σημεία κοπής για καθένα αντικείμενο. Στο τελικό στάδιο σχηματίζονται όλες οι ευθείες γραμμές που ορίζονται ανά δύο σημεία κοπής και υπολογίζονται 67 χαρακτηριστικά για κάθε για κάθε ένα αντικείμενο που χωρίζει κάθε μια ευθεία γραμμή.

Οι ευθείες που χωρίζουν το αντικείμενο είναι μεγάλες σε αριθμό. Για να εξεταστεί αν αντικείμενα που προκύπτουν από κάθε ευθεία είναι πράγματι χρωμοσώματα χρησιμοποιείται ένα νευρωνικό δίκτυο και συγκεκριμένα, πολυεπίπεδο perceptron (MLP). Το νευρωνικό δίκτυο έχει τρεις εξόδους, οι δύο πρώτες είναι 1 όταν η γραμμή που χωρίζει τα χρωμοσώματα είναι σωστή ενώ σε κάθε άλλη περίπτωση η τρίτη έξοδος γίνεται 1.

Κατά την εκπαίδευση του νευρωνικού δικτύου θεωρούμε ότι μια γραμμή δεν είναι σωστή αν τα αντικείμενα που προκύπτουν δημιουργούν αντικείμενα μικρότερα σε μήκος από το ελάχιστο αντικείμενο ή μεγαλύτερα σε μήκος από το μέγιστο αντικείμενο.

Το ποσοστό της μεθόδου που προτείνεται αγγίζει το 90% περίπου επιτρέποντας όμως την απόρριψη 8.7% των εικόνων. Το βασικό μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ο σχεδιασμός της μόνο για αντικείμενα που περιέχουν έως δύο χρωμοσώματα.

Μια από τις πιο πρόσφατες μεθόδους [17] της κατηγορίας σύγκρισης των διαχωριζόμενων αντικειμένων από ένα σύνολο προτύπων παρουσιάστηκε το 1999. Η συγκεκριμένη μέθοδος ασχολείται μόνο με το πρόβλημα των επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων. Αρχικά αναγνωρίζονται όλα τα αντικείμενα με τα επικαλυπτόμενα χρωμοσώματα και στην συνέχεια χωρίζονται με όλους τους δυνατούς τρόπους. Κάθε αντικείμενο που προκύπτει συγκρίνεται με πρότυπα χρωμοσωμάτων (*Partial Chromosomes Models - PCMs*) τα οποία είναι αποθηκευμένα και με την αντίστοιχη κατηγορία που ανήκουν σε μια βάση δεδομένων.

Πιο συγκεκριμένα ας δούμε την περίπτωση όπου δύο χρωμοσώματα επικαλύπτονται. Από τα δύο χρωμοσώματα μπορούν να προκύψουν 4 ξεχωριστά τμήματα και μέχρι το πολύ 3 αντικείμενα. Για κάθε ένα αντικείμενο στην συνέχεια βρίσκεται ο σκελετός του και υπολογίζεται η μέση φωτεινότητα κάθε σημείου που βρίσκεται κάθετα στον σκελετό του αντικειμένου.

Στην συνέχεια συγκρίνονται το πρότυπο αυτό με κάθε πρότυπο στη βάση δεδομένων και βρίσκεται ο κοντινότερος γείτονάς του. Αν η συνάρτηση αποτίμησης αποδίδει υψηλό σκορ σε κάθε αντικείμενο μετά από το χωρισμό του αντικειμένου τότε αποδεχόμαστε τη συγκεκριμένη κατάτμηση.

Γενικά ο αλγόριθμος αποδίδει αρκετά καλά με ποσοστό επιτυχίας ~92% όμως η απόδοση του συγκεκριμένου αλγορίθμου εξετάστηκε με τη βοήθεια τεχνητών κατασκευασμένων επικαλύψεων από χρωμοσώματα και όχι πραγματικών.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ

Τέλος το 2002 παρουσιάστηκε μια βελτιωμένη μέθοδο [18] της προηγούμενης μεθόδου με μόνη διαφορά ότι σε αυτή τη μέθοδο λαμβάνεται υπόψη και το σχήμα του αντικειμένου. Έτσι αφού εντοπιστεί ένα αντικείμενο με δύο χρωμοσώματα που επικαλύπτουν το ένα το άλλο, δημιουργείται όλος ο χώρος πιθανών λύσεων.

Κάθε αντικείμενο που έχει χωριστεί εξετάζεται αν ταιριάζει από ένα σύνολο τα οποία βρίσκονται σε μια βάση δεδομένων αλλά αυτή τη φορά λαμβάνεται υπόψη το σχήμα του αντικειμένου το οποίο εκτιμάται με τη βοήθεια μοντέλων κατανομής σημείων (*point distribution model*).

Το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου κυμαίνεται σε υψηλά ποσοστά επιτυχίας ~87%.

### 2.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι εφαρμόστηκαν διάφοροι μέθοδοι κατάτμησης εικόνων χρωμοσωμάτων που επικεντρώθηκαν στην επίλυση δύο κυρίως προβλημάτων:

- Χρωμοσώματα που εφάπτονται το ένα στο άλλο.
- Χρωμοσώματα που επικαλύπτουν το ένα το άλλο.

Αρκετοί μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν κατάφεραν να επιλύσουν το ένα ή το άλλο ή ακόμη και τα δύο προβλήματα, με ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας. Ωστόσο αυτό που παρατηρείται [15] σε όλες αυτές τις μεθόδους είναι η χρησιμοποίηση αρκετών παραμέτρων.

Έχοντας υπόψη τα παραπάνω προβλήματα, στόχος της εργασίας είναι που περιέχουν εφαπτόμενα χρωμοσώματα κάνοντας χρήση μιας αυτόματης μεθόδου με τη χρησιμοποίηση όσο το δυνατόν λιγότερο παραμέτρων.

Η επιλογή για την αντιμετώπιση του προβλήματος των εφαπτόμενων χρωμοσωμάτων και όχι του συνολικού προβλήματος (εφαπτόμενων και επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων), έγινε λόγω του γεγονότος ότι στις εικόνες ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων οι περιπτώσεις επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων συναντώνται σε μικρό ποσοστό στο σύνολο των χρωμοσωμάτων. Επιπλέον για τους κυτταρογενετιστές οι περιπτώσεις των επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων δεν αποτελούν ουσιαστική πληροφορία για το λόγο απώλειας χαρακτηριστικών όπως μπάντες και φωτεινότητα κεντρομεριδίου.



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

#### 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τεχνικές κατάτμησης εικόνων που χρησιμοποιούνται στην προτεινόμενη μέθοδο (Κεφάλαιο 4):

- ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΤΩΦΛΙΩΣΗΣ OTSU.
- ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ WATERSHED.
- ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ.

Έμφαση δίνεται στην περιγραφή της μεθοδολογίας *watershed* που αποτελεί και σημαντικό μέρος της εργασίας αυτής.

#### 3.2 ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΒΑΣΙΣΜΕΝΗ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΚΑΤΩΦΛΙΟΥ

Είναι μια από τις πιο απλές τεχνικές στην οποία η βασική ιδέα είναι ότι πολλά αντικείμενα ή περιοχές της εικόνας χαρακτηρίζονται από διαφορετική φωτεινότητα απ' ότι το υπόβαθρο (*background*). Είναι μια μη δαπανηρή μέθοδος τόσο σε αποθηκευτικό χώρο όσο και σε υπολογιστικό χρόνο και μια από τις πιο παλιές και ευρέως διαδεδομένες μεθόδους. Έτσι η κατάτμηση μιας εικόνας είναι ένας μετασχηματισμός μιας εικόνας εισόδου  $f$  σε μια δυαδική εικόνα εξόδου  $g$  ως εξής:

$$g(i, j) = \begin{cases} 1, & f(i, j) \geq T \\ 0, & f(i, j) < T \end{cases} \quad (3.1)$$

όπου  $T$  ένα κατώφλι,  $g(i, j) = 1$  για εκείνα τα εικονοστοιχεία της εικόνας τα οποία ανήκουν στο αντικείμενο.

Στις περισσότερες εικόνες όμως δεν γνωρίζουμε το κατώφλι με το οποίο θα επιλέξουμε και έχουν αναπτυχθεί αρκετοί μέθοδοι οι οποίοι βασίζονται στην ανάλυση του ιστογράμματος της εικόνας [19].

Μια απλή σχετικά μεθοδολογία [20] για αυτόματη εύρεση του κατωφλίου είναι και η παρακάτω:

1. Επιλογή μιας αρχικής εκτίμησης για το κατώφλι  $T$ .
2. Κατάτμηση της εικόνας χρησιμοποιώντας το κατώφλι  $T$ , παράγοντας δύο γκρουπ από εικονοστοιχεία  $G_1, G_2$ .



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

3. Υπολογισμός της μέσης τιμής της φωτεινότητας για κάθε γκρουπ,  $\mu_1$  και  $\mu_2$  αντίστοιχα.
4. Υπολογισμός νέας τιμής του κατωφλίου  $T_{new}$  με βάση την εξίσωση (2):

$$T_{new} = \frac{1}{2}(\mu_1 + \mu_2) \quad (3.2)$$

Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται εφόσον η διαφορά μεταξύ δύο υπολογισμένων κατωφλίων να είναι μικρότερη από μια τιμή. Στην Εικόνα 1(α)-(ε) παρουσιάζουμε ένα παράδειγμα εφαρμογής της παραπάνω μεθόδου.



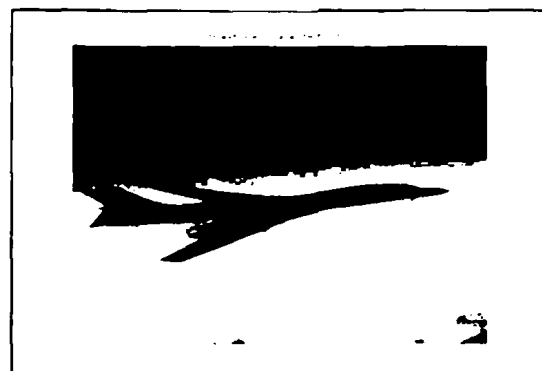
(α)



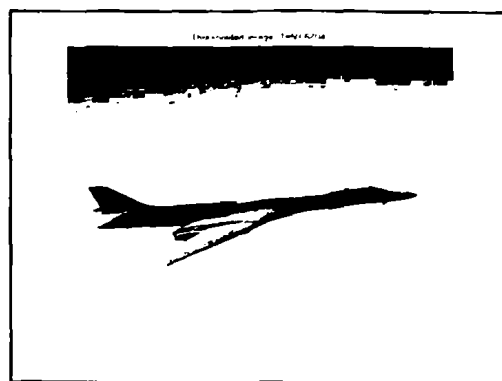
(β)



(γ)



(δ)



(ε)

(ε)

Εικόνα 1: Αποτελέσματα της εφαρμογής της μεθοδολογίας. (α) Αρχική εικόνα, (β)-(ε) Αποτελέσματα της εφαρμογής της μεθοδολογίας για την αρχική εικόνα.

3.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ OTSU

Ο Nobuyuki Otsu ανέπτυξε μια μη παραμετρική και χωρίς επίβλεψη μέθοδο για την αυτόματη επιλογή ενός κατώφλι για την κατάτμηση εικόνων [21]. Αυτή η μέθοδος επιλέγει αυτόματα το καλύτερο κατώφλι βάση ενός κριτηρίου. Βασίζεται στην ακόλουθη ιδέα: καλά διαχωρισμένες ομάδες θα διαφέρουν στα επίπεδα γκρι. Σε στατιστικούς όρους αυτό μεταφράζεται σε ελαχιστοποίηση της διακύμανσης μεταξύ των επιπέδων γκρι της ίδιας ομάδας (ενδο-διακύμανση - within class variance) ένα μέτρο κατά πόσο μια ομάδα είναι "συμπαγής" και την μεγιστοποίηση της διακύμανσης των επιπέδων γκρι διαφορετικών ομάδων. Αυτό είναι και ένα μέτρο κατά πόσο δύο ή και περισσότερες ομάδες είναι καλά διαχωρισμένες.

Έστω  $L$  τα επίπεδα γκρι μια εικόνας  $[1, 2, \dots, L]$  και ο αριθμός των εικονοστοιχείων του επιπέδου  $i$ ,  $n_i$ . Ο συνολικός αριθμός εικονοστοιχείων της εικόνας είναι  $N = n_1 + n_2 + \dots + n_L$ . Το ιστόγραμμα της εικόνας κανονικοποιείται και θεωρείται ως συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας με τις ακόλουθες ιδιότητες:

$$p_i = \frac{n_i}{N}, \quad p_i \geq 0, \quad \sum_{i=1}^L p_i = 1. \quad (3.3)$$

Ο αναμενόμενη τιμή των επιπέδων γκρι της εικόνας θα είναι:

$$\mu_T = \mu(L) = \sum_{i=1}^L i p_i. \quad (3.4)$$

Αν χωρίσουμε την εικόνα σε δύο κλάσεις  $C_0, C_1$ , χρησιμοποιώντας ένα κατώφλι  $k$  τότε τα επίπεδα γκρι των εικονοστοιχείων που ανήκουν στην κλάση  $C_0$  θα είναι  $[1, 2, \dots, k]$  και τα επίπεδα γκρι των εικονοστοιχείων που ανήκουν στην κλάση  $C_1$  θα είναι  $[k+1, k+2, \dots, L]$ . Τότε οι πιθανότητες  $\omega_0, \omega_1$  ένα εικονοστοιχείο να ανήκει σε μια από τις δύο κλάσεις  $C_0, C_1$  αντίστοιχα θα είναι:

$$\omega_0 = P(C_0) = \sum_{i=1}^k p_i = \omega(k), \quad (3.5)$$

$$\omega_1 = P(C_1) = \sum_{i=k+1}^L p_i = 1 - \omega(k), \quad (3.6)$$

και βέβαια ισχύει  $\omega_0 + \omega_1 = 1$ .

Για κάθε μια κλάση η αναμενόμενη τιμή δίνεται από τις ακόλουθες σχέσεις:

$$\mu_0 = \sum_{i=1}^k i P(i|C_0) = \sum_{i=1}^k i \frac{p_i}{\omega_0} = \frac{\mu(k)}{\omega(k)}, \quad (3.7)$$





$$\mu_1 = \sum_{i=k+1}^L iP(i|C_1) = \sum_{i=k+1}^L i \frac{p_i}{\omega_1} = \frac{\mu_T - \mu(k)}{1 - \omega(k)} \quad (3.8)$$

όπου

$$\omega(k) = \sum_{i=1}^k p_i, \quad \mu(k) = \sum_{i=1}^k ip_i, \quad P(i|C_0) = \frac{P(i \cap C_0)}{P(C_0)} = \frac{p_i}{\omega(k)} \quad (3.9, 3.10, 3.11)$$

Και φυσικά ισχύει:

$$\omega_0 \mu_0 + \omega_1 \mu_1 = \mu_T \quad (3.12)$$

Σύμφωνα με τον ορισμό της διακύμανσης για μια τυχαία διακριτή μεταβλητή [22] και χρησιμοποιώντας τον ορισμό της υπό συνθήκη πιθανότητας  $P(i|C_0)$ , οι διακυμάνσεις για κάθε μια κλάση δίνονται από τις σχέσεις (3.12) και (3.13) αντίστοιχα:

$$\sigma_0^2 = \sum_{i=1}^k (i - \mu_0)^2 P(i|C_0) = \sum_{i=1}^k (i - \mu_0)^2 \frac{p_i}{\omega_0} \quad (3.13)$$

$$\sigma_1^2 = \sum_{i=k+1}^L (i - \mu_1)^2 P(i|C_1) = \sum_{i=k+1}^L (i - \mu_1)^2 \frac{p_i}{\omega_1} \quad (3.14)$$

Για να αποτιμήσουμε το κατώφλι που επιλέγει η μέθοδος Otsu ορίζουμε την ενδό-διακύμανση  $\sigma_w^2$  και την διακύμανση των επιπέδων γκρι μεταξύ των δύο κλάσεων  $\sigma_B^2$ :

$$\sigma_w^2(k) = \omega_0 \sigma_0^2 + \omega_1 \sigma_1^2, \quad (3.15)$$

$$\sigma_B^2(k) = \omega_0 (\mu_0 - \mu_T)^2 + \omega_1 (\mu_1 - \mu_T)^2 \quad (3.16)$$

και η συνολική διακύμανση μεταξύ των επιπέδων γκρι:

$$\sigma_T^2 = \sum_{i=1}^L (i - \mu_T)^2 p_i, \quad (3.17)$$

$$\sigma_w^2 + \sigma_B^2 = \sigma_T^2 \quad (3.18)$$

Ο Otsu καθόρισε τα παρακάτω μέτρα διαχωρισιμότητας των δύο κλάσεων τα οποία πρέπει να μεγιστοποιηθούν από το βέλτιστο κατώφλι  $k$ :

$$\lambda = \frac{\sigma_B^2(k)}{\sigma_w^2(k)}, \quad (3.19)$$

$$\kappa = \frac{\sigma_T^2}{\sigma_w^2}, \quad (3.20)$$



$$\eta = \frac{\sigma_B^2}{\sigma_T^2}. \quad (3.21)$$

Αφού η συνολική διακύμανση  $\sigma_T^2$  δεν εξαρτάται από την επιλογή του κατωφλίου  $k$  (16), το κατώφλι  $k$  για το οποίο ελαχιστοποιείται η  $\sigma_w^2$  θα είναι το  $k$  για το οποίο μεγιστοποιείται η  $\sigma_B^2$  (3.17).

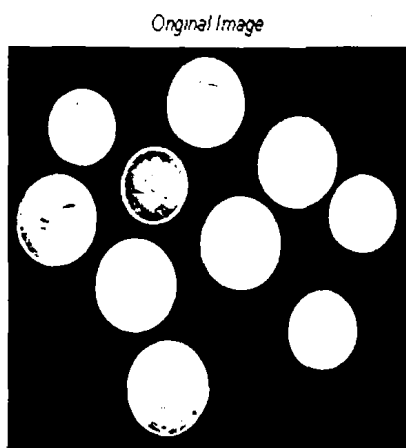
Έτσι μεγιστοποιώντας την διακύμανση μεταξύ των επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων και χρησιμοποιώντας τις παραπάνω σχέσεις προκύπτει [Παράρτημα Α]:

$$\sigma_B^2 = \frac{(\mu(k) + \mu_T \omega(k))^2}{\omega(k)(1 - \omega(k))}. \quad (3.22)$$

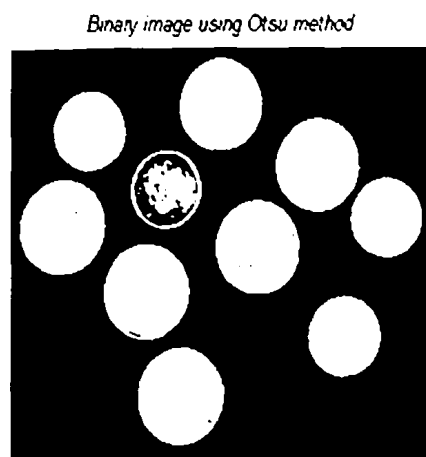
Τέλος το βέλτιστο  $k^*$  το οποίο μεγιστοποιεί την διακύμανση μεταξύ επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων και ελαχιστοποιεί την διακύμανση μεταξύ των επιπέδων της ίδιας κλάσης θα είναι:

$$k^* = \arg \max_k (\sigma_B^2), \quad 1 \leq k \leq L. \quad (3.23)$$

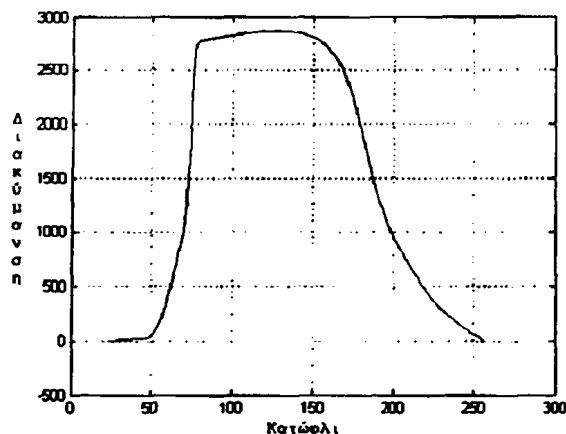
Έτσι ξεκινώντας από το αρχικό επίπεδο γκρι της εικόνας  $k=1$  και καταλήγοντας στο επίπεδο  $L$  υπολογίζουμε την  $\sigma_B^2$  συναρτήσει του κατωφλίου  $k$ . Τέλος επιλέγουμε το κατώφλι  $k^*$  για το οποίο η  $\sigma_B^2$  είναι μέγιστη, Εικόνες 2, 3, 4.



Εικόνα 2: Αρχική Εικόνα.



Εικόνα 3: Δυαδική εικόνα χρησιμοποιώντας την μέθοδο Otsu.

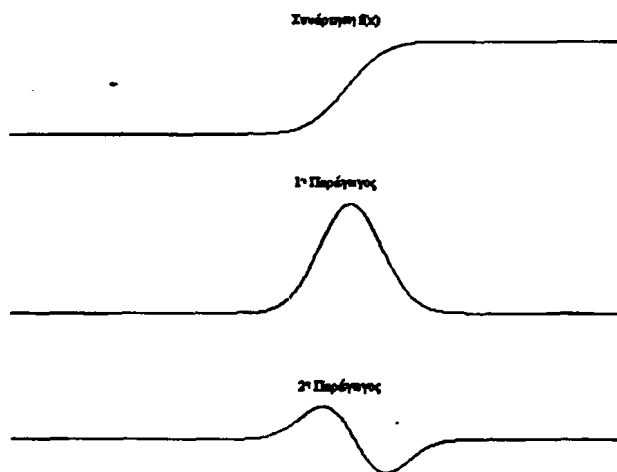


Εικόνα 4: Διακύμανση μεταξύ των επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων συναρτήσεσι του κατωφλίου.

### 3.3 ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΒΑΣΙΣΜΕΝΗ ΣΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΑΚΜΩΝ

Οι τεχνικές βασισμένες στην εύρεση ακμών σε μια εικόνα είναι αρκετά διαδεδομένες. Η μεθοδολογία βασίζεται στην εύρεση ακμών στην εικόνα εφαρμόζοντας τελεστές ακμών. Η εφαρμογή όμως μόνο των τελεστών σε μια εικόνα δεν είναι αρκετή. Έτσι ακολουθούν συμπληρωματικά βήματα για να μας δώσουν το τελικό αποτέλεσμα την αλυσίδα των εικονοστοιχείων που θα αποτελούν τις ακμές των αντικειμένων που αποτυπώνονται στην εικόνα.

Οι ανιχνευτές ακμών χρησιμοποιούνται για την εύρεση αλλαγών στην φωτεινότητα της εικόνας. Μια εικόνα μπορούμε να την δούμε με μαθηματικούς όρους σαν μια διδιάστατη συνάρτηση - συντεταγμένες στο επίπεδο εικόνα - όπου η τιμή της αντιστοιχεί στην φωτεινότητα της εικόνας σε συγκεκριμένο σημείο. Επομένως μια αλλαγή στην συνάρτηση εικόνας μπορεί να περιγραφεί από την παράγωγο της συνάρτησης. Αυτό φαίνεται στην μονοδιάστατη περίπτωση (Εικόνα 19).



Εικόνα 5: Συνάρτηση  $f(x)$ , Πρώτη και δεύτερη παράγωγος.

Η θέση της ακμής μπορεί να προσδιοριστεί από το μέγιστο σημείο της πρώτης παραγώγου είτε με το σημείο τομής της δεύτερας παραγώγου με τον άξονα  $y=0$  (zero crossing). Έτσι έχουν αναπτυχθεί τεχνικές οι οποίες υπολογίζουν την πρώτη παράγωγο για μια διδιάστατη εικόνα. Στην περίπτωση μιας μονοδιάστατης συνάρτησης  $f(x)$  μπορεί να προσεγγιστεί με την βοήθεια της σχέσης:



$$\frac{\partial f(x)}{\partial x} = f(x+1) - f(x). \quad (3.24)$$

Για τον υπολογισμό της παραπάνω σχέσης μπορούμε να υπολογίσουμε την συνέλιξη (3.25) της μονοδιάστατης συνάρτησης με την ακόλουθη μήτρα  $h(i) = [-1, 1]$ ,  $i = 1, 2..$

$$D(x) = f * h = \sum_{i=1}^2 f(x-i)h(i). \quad (3.25)$$

Η παράγωγος  $\nabla f$  μιας εικόνας  $f(x, y)$  στο σημείο  $(x, y)$  καθορίζεται από το ακόλουθο διάνυσμα [23]:

$$\nabla f = \begin{bmatrix} G_x \\ G_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{bmatrix}. \quad (3.26)$$

Μια πολύ σημαντική ποσότητα στην εύρεση ακμών είναι το μέγεθος αυτού του διανύσματος,  $mag(\nabla f)$ :

$$mag(\nabla f) = [G_x^2 + G_y^2]^{1/2}. \quad (3.27)$$

### 3.4 ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΒΑΣΙΣΜΕΝΗ ΣΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΟΜΟΙΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ

Στόχος των προηγούμενων μεθόδων ήταν η εύρεση των συνόρων μεταξύ περιοχών της εικόνας. Σε αυτή την ενότητα θα αναφερθούμε σε μεθόδους που κατασκευάζουν τις περιοχές αυτές. Είναι εύκολο να κατασκευαστούν περιοχές από τα σύνορά τους και είναι εύκολο να κατασκευαστούν σύνορα από τις περιοχές. Όμως τα αποτελέσματα των δύο αυτών μεθοδολογιών (εντοπισμού ακμών – εντοπισμού όμοιων περιοχών) μπορεί να διαφέρουν και ο συνδυασμός των δύο μεθοδολογιών είναι μερικές φορές αποτελεσματικός για την κατάτμηση εικόνας.

Η ομοιογένεια μιας περιοχής είναι μια σημαντική ιδιότητα και χρησιμοποιείται ως το κύριο κριτήριο κατάτμησης στις τεχνικές που βασίζονται στον εντοπισμό όμοιων περιοχών. Βασική ιδέα της μεθοδολογία είναι ο διαχωρισμός της εικόνας σε ζώνες μέγιστης ομοιογένειας. Υπάρχουν αρκετά κριτήρια ομοιογένειας όπως το επίπεδο γκρι, το χρώμα, η υφή κ.α.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι που έχουν προταθεί μέχρι σήμερα για την κατάτμηση εικόνων που βασίζονται στον εντοπισμό όμοιων περιοχών. Μια από αυτές είναι και η μέθοδος Watershed που αναλύεται στη συνέχεια.

#### 3.4.1 ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED

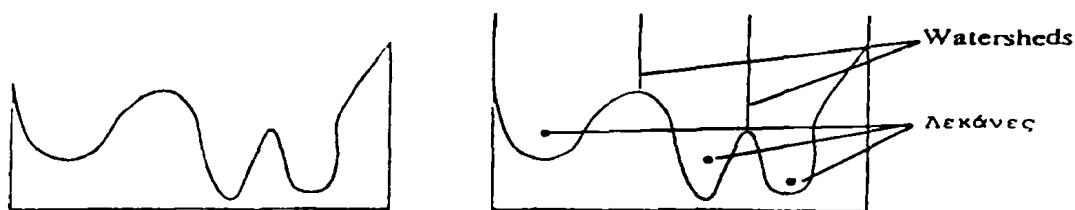
Ο μετασχηματισμός *Watershed* είναι μια τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για την αυτόματη κατάτμηση εικόνων. Αρχικά προτάθηκε από τους Digabel και Lantuéjoul [24] και



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

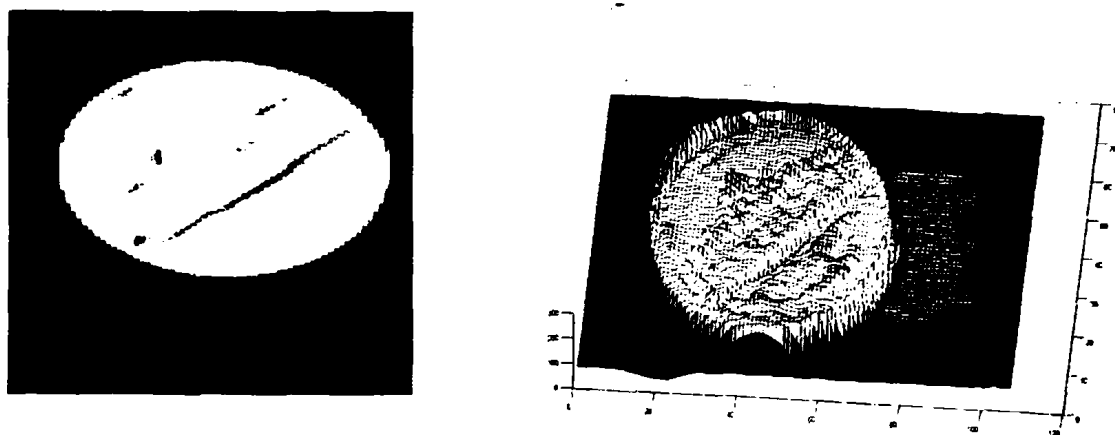
αργότερα βελτιώθηκε από τους Beucher και Lantuéjoul [25]. Η βασική ιδέα του μετασχηματισμού προέρχεται από την γεωγραφία: όταν μια περιοχή γεμίζει με νερό, οι γραμμές *watershed* αποτελούν τις διαχωριστικές γραμμές των διαφόρων λιμνών που σχηματίζονται κατά την διάρκεια του γεμίσματος με νερό.

Οι λεκάνες γεμίζουν με νερό ξεκινώντας από τα τοπικά ελάχιστα. Σε σημεία που το νερό που προέρχεται από διαφορετικές λεκάνες ενώνεται τότε χτίζονται διαχωριστικές γραμμές – *watershed lines* – φράγματα. Όταν το επίπεδο του νερού φτάνει στο ψηλότερο σημείο, όλη η διαδικασία σταματά. Το αποτέλεσμα είναι ότι το τοπίο αποτελείται από περιοχές ή λεκάνες που διαχωρίζονται από φράγματα, *watershed* γραμμές, (Εικόνα 6).



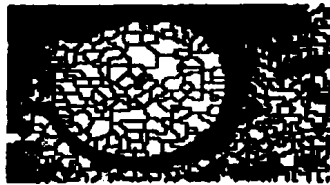
Εικόνα 6: Λεκάνες και διαχωριστικές γραμμές μετά την εφαρμογή του μετασχηματισμού Watershed για την μονοδιάστατη περίπτωση.

Στην περίπτωση της εικόνας ο μετασχηματισμός εφαρμόζεται αν φανταστούμε την εικόνα σαν μια επιφάνεια όπου τα επίπεδα γκρι αναπαριστούν το ύψος, (Εικόνα 7). Το αποτέλεσμα της εφαρμογής του μετασχηματισμού *Watershed* σε μια εικόνα είναι μια εικόνα όπου κάθε εικονοστοιχείο που ανήκει σε μια λεκάνη θα έχει ξεχωριστή ετικέτα.



Εικόνα 7: Εικόνα ενός νομίσματος και τοπογραφική επιφάνεια της εικόνας.

Ένα παράδειγμα εφαρμογής του *Watershed* μετασχηματισμού παρουσιάζεται στην Εικόνα 8. Κάθε μια λεκάνη στην εικόνα παρουσιάζεται με διαφορετικό χρώμα.



Εικόνα 8: Μετασχηματισμός Watershed.

Παρακάτω παρουσιάζουμε τον μετασχηματισμό Watershed αφού πρώτα αναλυθούν ορισμένες έννοιες όπως είναι τα ψηφιακά πλέγματα και η γεωδαιτική απόσταση [26, 27].

### Ψηφιακά Πλέγματα

Ένα ψηφιακό πλέγμα είναι μια ειδική μορφή γράφων. Συνήθως χρησιμοποιείται το τετραγωνικό πλέγμα  $D \in \mathbb{Z}^2$ , όπου οι κορυφές ονομάζονται εικονοστοιχεία. Όταν το  $D$  είναι πεπερασμένο το σύνολο των εικονοστοιχείων μπορεί να περιγραφεί από ένα γράφημα  $G = (V, E)$ , όπου  $V$ ,  $E$  το σύνολο των κορυφών και των ακμών του γράφου  $G$  αντίστοιχα, με  $V = D$  και  $E$  ένα συγκεκριμένο υποσύνολο του  $\mathbb{Z}^2 \times \mathbb{Z}^2$  το οποίο περιγράφει την συνδεσιμότητα. Συνήθεις επιλογές είναι η 4-γειτονιά όπου κάθε σημείο έχει ακμές για τους τέσσερις οριζόντιους και κάθετους γείτονές του και η 8-γειτονιά όπου κάθε σημείο έχει ακμές για τους οκτώ οριζόντιους, κάθετους και διαγώνιους γείτονές του.

Αποστάσεις μεταξύ γειτονικών κορυφών σε ένα ψηφιακό πλέγμα εισάγονται συσχετίζοντας κάθε ακμή με μια μη αρνητική συνάρτηση βάρους  $d(p, q)$  για κάθε ακμή  $(p, q)$  όπου  $p, q$  δύο κορυφές. Η απόσταση  $d(p, q)$  μεταξύ δύο μη γειτονικών κορυφών  $p$  και  $q$  ορίζεται ως το μονοπάτι μικρότερου μήκους που συνδέει την κορυφή  $p$  με την  $q$ .

### Ψηφιακές Εικόνες

Μια ψηφιακή γκρι επιπέδου εικόνα είναι μια τριάδα  $G = (D, E, I)$ , όπου  $(D, E)$  ένας γράφος (συνήθως ένα ψηφιακό πλέγμα) και  $I: D \rightarrow N$  μια συνάρτηση η οποία αναθέτει έναν ακέραιο σε κάθε κορυφή  $p \in D$ . Για μια δυαδική εικόνα η συνάρτηση  $I$  μπορεί να πάρει μόνο δύο τιμές, 0 για το υπόβαθρο και 1 διαφορετικά. Για κάθε κορυφή  $p \in D$ ,  $I(p)$  ονομάζεται η τιμή του γκρι επιπέδου για την κορυφή  $p$  ή ύψος αν δούμε την εικόνα σαν τοπογραφική επιφάνεια. Τέλος το σύνολο κορυφών κατωφλίου  $h$   $T_h$ , είναι το σύνολο κορυφών – εικονοστοιχείων για το οποίο η τιμή της συνάρτησης  $f$  είναι μικρότερη από  $h$ .

$$T_h = \{p \in D \mid I(p) \leq h\}. \quad (3.28)$$

Παρακάτω δίνουμε τρεις σημαντικούς ορισμούς για τις ψηφιακές εικόνες [28].



**Ορισμός 2.1 (Μονοπάτι)**

Ένα μονοπάτι  $P$  μήκους  $l$  μεταξύ δύο εικονοστοιχείων  $p$  και  $q$  για μια ψηφιακή εικόνα  $I$  είναι ένα σύνολο εικονοστοιχείων  $(p_0, p_1, \dots, p_{l-1}, p_l)$  τέτοιο ώστε  $p_0 = p$ ,  $p_l = q$  και  $\forall i \in [1, l], (p_{i-1}, p_i) \in G$ .

**Ορισμός 2.2 (Ελάχιστο)**

Ένα ελάχιστο  $M$  μιας εικόνας  $I$  σε ύψος  $h$  είναι μια συνδεδεμένη περιοχή εικονοστοιχείων που έχουν τιμή  $h$ , από τα οποία είναι αδύνατο να φθάσουμε σε ένα σημείο με τιμή μικρότερη από  $h$  χωρίς να σκαρφαλώσουμε, (Εικόνα 9):

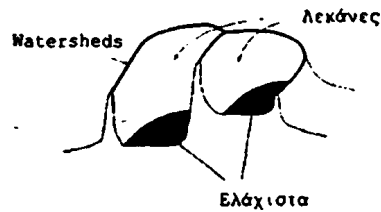
$\forall p \in \forall q \notin M$ , τέτοιο ώστε  $I(q) < I(p)$ ,

$\forall P = (p_0, p_1, \dots, p_l)$ , τέτοιο ώστε  $p_0 = p$  και  $p_l = q$ , (3.29)

$\exists i \in [1, l]$ , τέτοιο ώστε  $I(p_i) < I(p_0)$ .

**Ορισμός 2.3 (Λεκάνη)**

Έστω  $I$  μια εικόνα γκρι επιπέδων. Η λεκάνη  $C(M)$  που σχετίζεται με το ελάχιστο  $M$  είναι το σύνολο των εικονοστοιχείων  $p$  του συνόλου  $D_I$  ώστε το νερό που πέφτει από το  $p$  συνεχίζει την πορεία του φτάνοντας τελικά στο ελάχιστο  $M$ , (Εικόνα 9). Επίσης ονομάζουμε  $C_h(M)$  το υποσύνολο της λεκάνης  $M$  το οποίο αποτελείται από σημεία που έχουν τιμή μικρότερη από  $h$ :

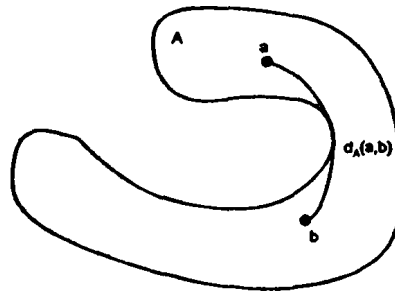


Εικόνα 9: Ελάχιστα, λεκάνες, watershed.

$$C_h(M) = \{p \in C(M), I(p) \leq h\} = C(M) \cap T_h(I). \tag{3.30}$$

**Γεωδαιτική Απόσταση**

Έστω ένα υποσύνολο  $A \subseteq E$ , με  $E = R^d$  ή  $E = Z^d$  και  $a, b$  δύο σημεία του συνδεδεμένου υποσυνόλου  $A$ . Η γεωδαιτική απόσταση  $d_A(a, b)$  (Εικόνα 10) μεταξύ των  $a$  και  $b$  είναι το μικρότερο μήκος μονοπάτι μεταξύ όλων των μονοπατιών από το  $a$  στο  $b$  που βρίσκονται εξολοκλήρου στο  $A$ .

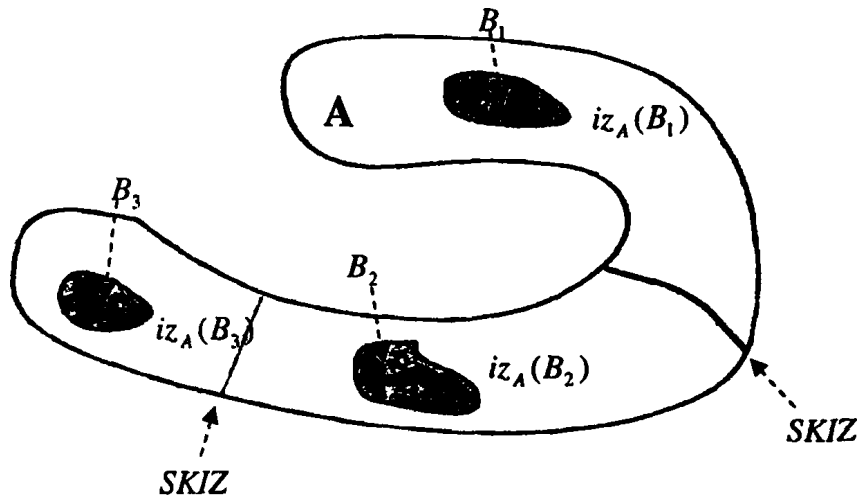


Εικόνα 10: Η γεωδαιτική απόσταση δύο σημείων  $a$  και  $b$  για το σύνολο  $A$ .

Αν  $B$  ένα συνδεδεμένο υποσύνολο του  $A$  ορίζουμε  $d_A(a, B) = \min_{b \in B} (d_A(a, b))$ . Αν υποθέσουμε ότι το σύνολο  $A$  αποτελείται από  $k$  συνδεδεμένα υποσύνολα  $B_i, i = 1, \dots, k$  τότε η γεωδαιτική ζώνη επίδρασης (*geodesic influence zone*) κάθε συνόλου  $B_i$  (Εικόνα 11) ορίζεται ως:

$$iz_A(B_i) = \{p \in A \mid \forall j \in [1, \dots, k] / \{i\}, d_A(p, B_i) < d_A(p, B_j)\}. \tag{3.31}$$





Εικόνα 11: Γεωδαιτική ζώνη επίδρασης για κάθε συνιστώσα  $B_i$ ,  $i=1, 2, 3$  του συνόλου  $A$ .

Το σύνολο  $IZ_A(B)$  είναι το σύνολο των γεωδαιτικών ζωνών επίδρασης των συνιστωσών του  $A$ :

$$IZ_A(B) = \bigcup_{i=1}^k iz_A(B_i). \quad (3.32)$$

Το συμπλήρωμα του συνόλου  $IZ_A(B)$  για το σύνολο  $A$  ονομάζεται σύνορο των ζωνών επίδρασης  $SKIZ$  (*skeleton by influence zones*). Έτσι το σύνορο  $SKIZ$  αποτελείται από σημεία τα οποία ισαπέχουν σε τουλάχιστον δύο ή και περισσότερες συνιστώσες..

$$SKIZ_A(B) = A / IZ_A(B). \quad (3.33)$$

Μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι οι λεκάνες μιας εικόνας  $I$  αντιστοιχίζονται στις ζώνες γεωδαιτικής επίδρασης των ελάχιστων της εικόνας. Η παρατήρηση αυτή κάνει σαφή τη στενή σχέση μεταξύ του συνόρου των ζωνών γεωδαιτικής επίδρασης και των γραμμών *watershed*.

Το 1991, οι Vincent και Soille [28] πρότειναν έναν αλγόριθμο για τον υπολογισμό του μετασχηματισμού *Watershed*. Ο αλγόριθμος που προτάθηκε ήταν αρκετά πρακτικός και απλός. Η βασική ιδέα ήταν ότι μπορούσαμε να προσομοιώσουμε το φαινόμενο της πλυμμήρας για μια εικόνα. Έτσι ξεκινώντας από κάθε ελάχιστο - λεκάνη μπορούμε να φανταστούμε ότι αρχίζουμε και γεμίζουμε σιγά σιγά με νερό την τοπογραφική επιφάνεια της εικόνας, τότε το νερό θα γεμίσει πρώτα τις λεκάνες και στη συνέχεια θα ανεβαίνει. Όταν δύο λεκάνες θα ενωθούν τότε "χτίζεται" ένα φράγμα που αναπαριστά τη διαχωριστική γραμμή *watershed*.

Στην συνέχεια δίνουμε τον αλγοριθμικό ορισμό του μετασχηματισμού ο οποίος προσομοιώνει το φαινόμενο της πλημμύρας και ο οποίος δόθηκε αρχικά από τους Vincent και Soille [28].

Έστω  $I : D_I \rightarrow N$  μια ψηφιακή γκρι επίπεδου εικόνα με  $D_I \in \mathbb{Z}^2$  το πεδίο ορισμού της εικόνας και  $N$  το μέγιστο γκρι επίπεδο της εικόνας. Τέλος  $h_{\min}$  και  $h_{\max}$  η ελάχιστη και μέγιστη τιμή της εικόνας αντίστοιχα. Έστω αναδρομή με το επίπεδο γκρι να αυξάνεται από  $h_{\min}$  στο  $h_{\max}$  κατά την οποία οι λεκάνες που αντιστοιχίζονται στα ελάχιστα





της εικόνας επεκτείνονται. Για να προσομοιώσουμε το φαινόμενο της πλυμμήρας που περιγράψαμε παραπάνω ξεκινάμε από το σύνολο  $T_{h_{\min}}(I)$ , τα εικονοστοιχεία τα οποία θα φτάσει πρώτα το νερό. Αυτά τα σημεία αποτελούν το αρχικό σύνολο της αναδρομής. Θέτουμε δηλαδή:

$$X_{h_{\min}} = T_{h_{\min}}(I). \quad (3.34)$$

Ουσιαστικά το σύνολο αυτό αποτελείται από τα εικονοστοιχεία της εικόνας  $I$  τα οποία ανήκουν στα ελάχιστα μικρότερου ύψους. Το σύνολο των εικονοστοιχείων με ύψος μικρότερο από  $h_{\min}+1$  θα δίνεται από  $T_{h_{\min}+1}(I)$  και προφανώς  $X_{h_{\min}} \subseteq T_{h_{\min}+1}(I)$ . Έστω,  $Y$  ένα συνδεδεμένο υποσύνολο του συνόλου  $T_{h_{\min}+1}(I)$ , τότε υπάρχουν τρεις πιθανές σχέσεις μεταξύ του  $Y$  και  $Y \cap X_{h_{\min}}$ :

- 1)  $Y \cap X_{h_{\min}} = \emptyset$ : σε αυτή την περίπτωση, το σύνολο  $Y$  είναι σίγουρα ένα νέο ελάχιστο της εικόνας. Αυτό αποδεικνύεται από τον ορισμό 2.2, αφού:

$$\forall p \in Y, \begin{cases} p \notin X_{h_{\min}} \Rightarrow I(p) \geq h_{\min} + 1 \\ p \in Y \Rightarrow I(p) \leq h_{\min} + 1. \end{cases}$$

- 2)  $Y \cap X_{h_{\min}} \neq \emptyset$  και συνδέονται τα δύο σύνολα: στην περίπτωση αυτή, το σύνολο  $Y$  αντιστοιχεί ακριβώς στα εικονοστοιχεία που ανήκουν στην λεκάνη του συνόλου  $Y \cap X_{h_{\min}}$  και τα οποία έχουν ύψος μικρότερο ή ίσο από  $h_{\min} + 1$ :

$$Y = C_{h_{\min}+1}(Y \cap X_{h_{\min}}). \quad (3.35)$$

- 3)  $Y \cap X_{h_{\min}} \neq \emptyset$  και δεν συνδέονται τα δύο σύνολα: παρατηρούμε δηλαδή ότι το σύνολο  $Y$  περιέχει αρκετά διαφορετικά ελάχιστα της εικόνας  $I$ . Έστω ότι αυτά τα ελάχιστα είναι ότι είναι  $k$ ,  $Z_1, Z_2, \dots, Z_k$  και έστω ένα από αυτά  $Z_i, 1 \leq i \leq k$ . Στην περίπτωση αυτή η καλύτερη επιλογή για τη λεκάνη  $C_{h_{\min}+1}(Z_i)$  δίνεται από τη ζώνη γεωδαιτικής επίδρασης του  $Z_i$  εσωτερικά του  $Y$ :

$$C_{h_{\min}+1}(Z_i) = iz_Y(Z_i). \quad (3.36)$$



Εικόνα 12: Οι τρεις πιθανές σχέσεις των δύο συνόλων  $Y$  και  $Y \cap X_{h_{\min}}$ .

Όλα τα παραπάνω απεικονίζονται στην εικόνα 12. Αφού έχουμε συμπεριλάβει όλες τις δυνατές περιπτώσεις λαμβάνουμε ως επόμενο σύνολο στην αναδρομή μας το σύνολο:



$$X_{h_{\min}+1} = \min_{h_{\min}+1} \cup IZ_{T_{h_{\min}+1}(I)}(X_{h_{\min}}). \quad (3.37)$$

Συνολικά ο μετασχηματισμός Watershed με προσομοίωση του φαινομένου της πλυμμήρας περιγράφεται από τον ορισμό 2.4.

**Ορισμός 2.4 (Watershed μετασχηματισμός με προσομοίωση πλημμύρας)**

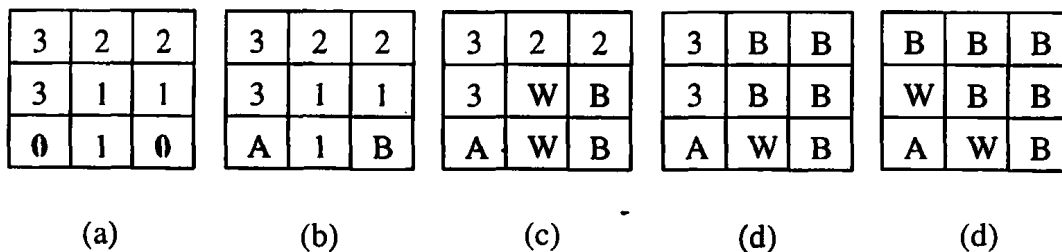
Το σύνολο των λεκανών μιας γκρι επιπέδου εικόνας  $I$  είναι ισοδύναμο με το σύνολο  $X_{h_{\max}}$  το οποίο λαμβάνεται μετά από την ακόλουθη αναδρομή:

a)  $X_{h_{\min}} = T_{h_{\min}}(I),$   
 b)  $\forall h \in [h_{\min}, h_{\max} - 1], X_{h+1} = \min_{h+1} \cup IZ_{T_{h+1}(I)}(X_h).$  (3.38)

Ο μετασχηματισμός  $Wshed(I)$  της εικόνας  $I$  είναι το συμπλήρωμα του  $X_{h_{\max}}$  για το  $D_I$ .

$$Wshed(I) = D_I / X_{h_{\max}} \quad (3.39)$$

Ένα παράδειγμα *Watershed* μετασχηματισμού σύμφωνα με την παραπάνω αναδρομή παρουσιάζεται στην Εικόνα 13 (a-d) για την οποία A και B είναι οι ετικέτες για τις λεκάνες και W είναι η ετικέτα για να σημειώσει τα εικονοστοιχεία που ανήκουν στον *Watershed* μετασχηματισμό.



Εικόνα 13: Τα βήματα του μετασχηματισμού Watershed. (a) Αρχική εικόνα, (b-d) Τα βήματα του αλγορίθμου σύμφωνα με τον ορισμό 2.2.

Όταν η αναδρομή (3.38) φθάσει στο επίπεδο  $h + 1$ , όλα τα εικονοστοιχεία που δεν ανήκουν σε κάποια λεκάνη (π.χ. όλα τα εικονοστοιχεία του συνόλου  $T_{h+1}$  εκτός από αυτά που ανήκουν στο σύνολο  $X_h$ ) είναι υποψήφια για να ανατεθούν σε κάποια λεκάνη. Έτσι, εικονοστοιχεία με φωτεινότητα  $h' \leq h$ , τα οποία δεν ανήκουν σε κάποια λεκάνη μετά το πέρας του βήματος  $h$ , συγχωνεύονται με κάποια λεκάνη του υψηλότερου επιπέδου  $h + 1$ .

Εικονοστοιχεία τα οποία σε κάποιο βήμα ισαπέχουν από το ελάχιστο δύο λεκανών μπορεί να χαρακτηριστούν προσωρινά ως τα εικονοστοιχεία που ανήκουν στον *watershed* μετασχηματισμό (*W-pixels*). Όμως μπορεί μετά από μερικές επαναλήψεις τα εικονοστοιχεία αυτά να ανατεθούν σε κάποια κοιλάδα. Μόνο όταν τελειώσουν όλα τα βήματα της αναδρομής θα ξέρουμε ποια εικονοστοιχεία θα ανήκουν στο μετασχηματισμό *Watershed*.



3.4.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ WATERSHED ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟ ΤΩΝ VINCENT & SOILLE

Για την εύρεση του μετασχηματισμού έχει προταθεί αλγόριθμος από τους Vincent & Soille [28]. Ο αλγόριθμος παρουσιάζεται σε μορφή ψευδοκώδικα στη συνέχεια.

Αλγόριθμος 3.1: Αλγόριθμος Vincent- Soille.

```

1: procedure Watershed-by-Immersion
2: INPUT: digital grey scale image G=(D, E, im)
3: OUTPUT: labelled watershed image lab on D
4: #define INIT -1
5: #define MASK -2
6: #define WSHED 0
7: #define FICTITIOUS (-1, -1)
8: curlab ← 0
9: fifo_init(queue);
10: for all p ∈ D do
11:   lab[p] ← INIT; dist[p] = 0;
12: end for
13: SORT pixels in increasing order of grey values (minimum hmin,
    maximum hmax)
14:
15: (* Start Flooding *)
16: for h=hmin to hmax do (*Geodesic SKIZ of level h-1 inside level h*)
17:   for all p ∈ D with im[p]=h do (*mask all pixels at level h, these
    are directly accessible because of sorting step*)
18:     lab[p] ← MASK;
19:     if p has a neighbour q with (lab[q]>0 or lab[q]= WSHED) then
20:       (*Initialize queue with neighbors at level h of current basins
    or watersheds *)
21:       dist[p] ← 1; fifo_add(p, queue);
22:     end if
23:   end for
24:   curdist ← 1; fifo_add(p, queue);
25:   loop (*extend basins*)
26:     p ← fifo_remove(queue);
27:     if p= FICTITIOUS then
28:       if fifo_empty(queue) then
29:         BREAK;
30:       else
31:         fifo_add(FICTITIOUS, queue); curdist ← curdist + 1;
32:         p ← fifo_remove(queue);
33:       end if
34:     end if
35:     for all q ∈ NG(p) do (* labeling p by inspecting neighbors *)
36:       if dist[q] < curdist and (lab[q] > 0 or lab[q] = WSHED) then
37:         (* q belongs to an existing basin or to watershed *)
38:         if lab[q] > 0 then
39:           if lab[p] = MASK or lab[p] = WSHED then
40:             lab[p] ← lab[q];
41:           else if lab[p] ≠ lab[q] then
42:             lab[p] ← WSHED;
43:           end if
44:         else if lab[q] = MASK then
45:           lab[p] ← WSHED;

```



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

```

46:         end if
47:     else if lab[q] = MASK and dist[q] = 0 then
48:         dist[q] ← curdist + 1;  fifo_add(q, queue);
49:     end if
50: end for
51: end loop
52: (* detect and process new minima at level h *)
53: for all p ∈ D with im[p] = h do
54:     dist[p] ← 0;          (* reset distance to zero *)
55:     if lab[p] = MASK then (* p is inside a new minimum *)
56:         curlab ← curlab + 1; (* create new label *)
57:         fifo_add(p, queue); lab[p] ← curlab;
58:         while not fifo_empty(queue) do
59:             q ← fifo_remove(queue);
60:             for all r ∈ N_G(q) do (* inspect neighbors of q *)
61:                 if lab[r] = MASK then
62:                     fifo_add(r, queue); lab[r] ← curlab;
63:                 end if
64:             end for
65:         end while
66:     end if
67: end for
68: end for
69: (* End Flooding *)

```

Ο αλγόριθμος αυτός αποτελείται από δύο κυρίως βήματα:

- i. Το πρώτο βήμα που είναι η ταξινόμηση των εικονοστοιχείων με βάση την φωτεινότητα γκρι κατά αύξουσα σειρά. Αυτό γίνεται για την απευθείας επεξεργασία των εικονοστοιχείων συγκεκριμένης φωτεινότητας.
- ii. Το δεύτερο βήμα που υλοποιεί το φαινόμενο της πλημμύρας, υπολογίζει τις ζώνες γεωδαιτικής επίδρασης χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Breadth-First [29].

Χρησιμοποιείται μια δομή δεδομένων και συγκεκριμένα ουρά FIFO (first in – first out) για τα εικονοστοιχεία η οποία υποστηρίζει τις ακόλουθες λειτουργίες:

- *fifo\_add(p, queue)* Προσθέτει το εικονοστοιχείο p στο τέλος της δομής.
- *fifo\_remove(queue)* Διαγράφει το πρώτο στοιχείο της δομής.
- *fifo\_init(queue)* Αρχικοποιεί μια κενή ουρά.
- *fifo\_empty(queue)* Επιστρέφει TRUE αν η δομή είναι κενή και FALSE διαφορετικά.

Ο αλγόριθμος αναθέτει μια ετικέτα *lab[]* σε κάθε ελάχιστο και στην λεκάνη με την οποία συσχετίζεται υλοποιώντας τον αλγόριθμο Breadth-First [29]. Για το βήμα της πλημμύρας, όλοι οι κόμβοι του γράφου με επίπεδο γκρι h αποκτούν ετικέτα MASK (γραμμή 18). Στην συνέχεια οι κόμβοι που έχουν γείτονες που τους έχουν ήδη ανατεθεί ετικέτες (γραμμή 20) εισάγονται στην δομή και για αυτά τα εικονοστοιχεία επεκτείνονται οι γεωδαιτικές ζώνες επίδρασης (*geodesic influence zones*). Αν ένα εικονοστοιχείο είναι γειτονικό σε δύο ή και περισσότερες λεκάνες τότε αυτό είναι ένα εικονοστοιχείο που ανήκει στον μετασχηματισμό *watershed* και του αναθέτεται η ετικέτα *WBED*.

Αν ένα εικονοστοιχείο είναι συνδεδεμένο με εικονοστοιχεία τα οποία έχουν την ίδια ετικέτα τότε ο κόμβος αυτός αναθέτεται στην αντίστοιχη λεκάνη και αποκτά την ίδια ετικέτα. Τέλος εικονοστοιχεία των οποίων η ετικέτα είναι MASK ακόμη και μετά το πέρας του



αλγόριθμοι (γραμμή 53 & 55) αναθέτονται σε ένα καινούργιο ελάχιστο επίπεδο  $h$ . Όπως αποδεικνύεται [28] η χρονική πολυπλοκότητα του αλγορίθμου 4.1 είναι γραμμική στο πλήθος των εικονοστοιχείων της αρχικής εικόνας.

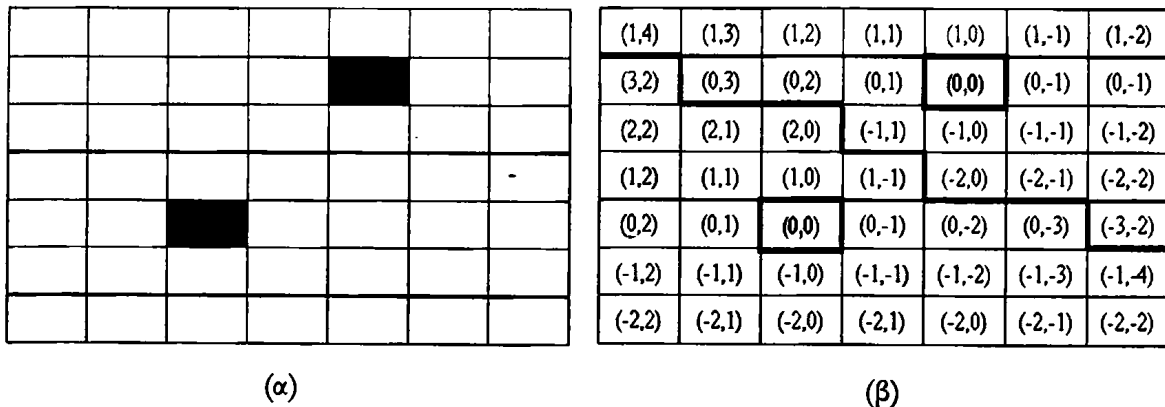
### 3.4.3 ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ (DISTANCE TRANSFORM)

Ο μετασχηματισμός απόστασης παίζει σπουδαίο ρόλο στην μορφολογική επεξεργασία εικόνων αλλά έχει μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί και στην υπολογιστική γεωμετρία, επεξεργασία εικόνας, υπολογιστικά γραφικά και αναγνώριση προτύπων [30, 31]. Ο διδιάστατος μετασχηματισμός απόστασης μπορεί να οριστεί ως εξής: Έστω  $B$  ένα σύνολο από σημεία ενός ορθογώνιου πλέγματος  $m \times n$ , ο μετασχηματισμός απόστασης αναθέτει σε κάθε ένα σημείο του πλέγματος  $(x, y)$  την ελάχιστη απόσταση από το κοντινότερο σημείο του  $B$ . Ένα παράδειγμα βλέπουμε για μια δυσδιάστατη δυαδική εικόνα στην Εικόνα 14.

Αν χρησιμοποιήσουμε την ευκλείδεια μετρική για τον υπολογισμό της απόστασης και αναπαραστήσουμε το σύνολο  $B$  με ένα δυαδικό πίνακα (Boolean)  $b[i, \cdot]$  τότε θα πρέπει να υπολογίσουμε το διδιάστατο πίνακα  $dt[x, y] = \sqrt{EDT(x, y)}$  :

$$EDT(x, y) = \text{MIN}(i, j : 0 \leq i \leq m \wedge 0 \leq j \leq n \wedge b[i, j] : (x-i)^2 + (y-j)^2) \quad (3.40)$$

όπου  $\text{MIN}(k : P(k) : f(k))$ : η ελάχιστη τιμή της  $f(k)$  όταν το  $k$  τρέχει για όλες τις τιμές που ικανοποιούν την συνθήκη  $P(k)$ .

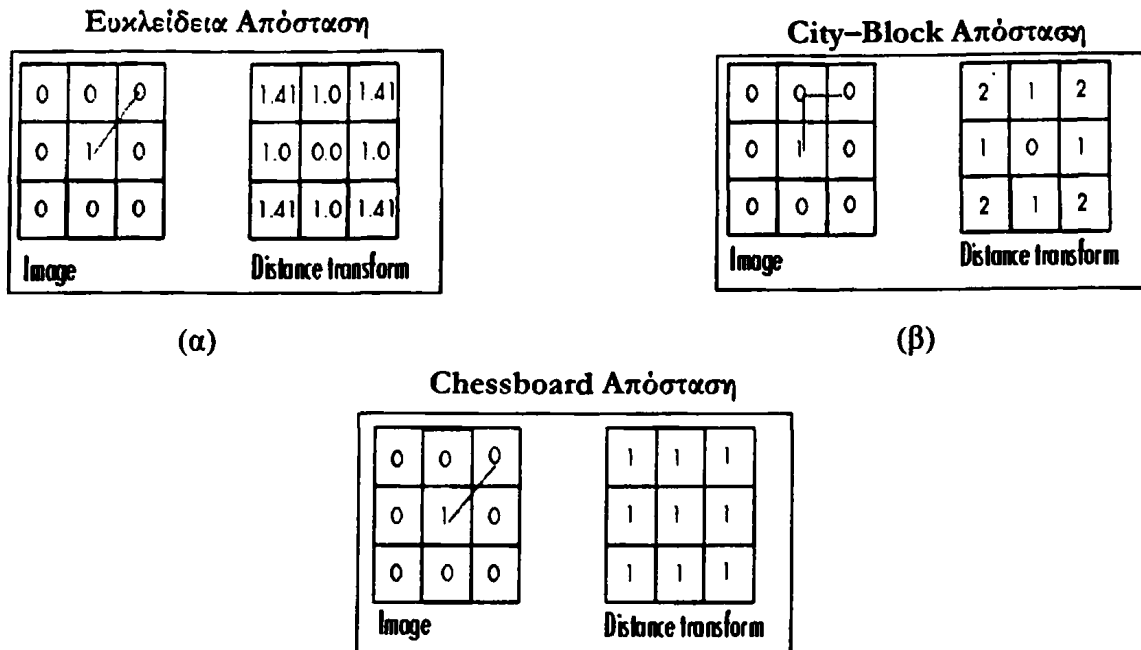


Εικόνα 14: (α) Δυαδική εικόνα, (β) Ο μετασχηματισμός απόστασης για την εικόνα χρησιμοποιώντας μετρική Chessboard

Οι μετρικές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

- Ευκλείδεια απόσταση: Ισούται με την ευκλείδεια απόσταση δύο σημείων στο επίπεδο  $(\sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2})$  (Εικόνα 15 (α)).
- City Block – Manhattan: Ισούται με τον αριθμό των βημάτων για να ενώσουμε δύο σημεία του πλέγματος,  $(|x_1 - x_2| + |y_1 - y_2|)$  (Εικόνα 15 (β)).
- Chessboard: Ισούται με τον αριθμό των βημάτων που θα έκανε το πιόνι Βασιλιάς στο σάκι δηλαδή η διαγώνια μοναδιαία απόσταση ισούται με την οριζόντια-κάθετη μοναδιαία απόσταση,  $\max(|x_1 - x_2|, |y_1 - y_2|)$  (Εικόνα 15 (γ)).





Εικόνα 15: Μετασχηματισμός Απόστασης (α) Ευκλείδεια Απόσταση, (β) City-Block Απόσταση, (γ) Chessboard απόσταση.

### 3.4.3.1. ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ

Παρακάτω θα δώσουμε τον αλγόριθμο για την εύρεση του μετασχηματισμού απόστασης. Μια δυαδικού τύπου εικόνα είναι μια συνάρτηση  $I$ , των στοιχείων ενός πίνακα  $m \times n$ , που αναφέρονται ως εικονοστοιχεία, στο σύνολο  $\{0,1\}$ . Εικονοστοιχεία με μονάδα (αντίστοιχα μηδέν) αναφέρονται ως χαρακτηριστικά εικονοστοιχεία (αντίστοιχα υποβάθρου, *background*). Για κάποια συγκεκριμένη μετρική- π.χ. Ευκλείδεια ο μετασχηματισμός απόστασης μιας εικόνας  $I$  είναι μια ανάθεση σε κάθε εικονοστοιχείο  $p$ , της απόστασης του  $p$  από το κοντινότερο χαρακτηριστικό εικονοστοιχείο.

Ο μετασχηματισμός κοντινότερου γείτονα μιας εικόνας είναι μια ανάθεση σε κάθε εικονοστοιχείο  $p$  της ταυτότητας του κοντινότερου χαρακτηριστικού εικονοστοιχείου. Υποθέτοντας ότι ο υπολογισμός της απόστασης μεταξύ δύο εικονοστοιχείων μπορεί να γίνει σε σταθερό χρόνο  $O(1)$  ο μετασχηματισμός απόστασης μπορεί να υπολογιστεί από τον μετασχηματισμό κοντινότερου γείτονα σε χρόνο γραμμικό στο πλήθος των εικονοστοιχείων της εικόνας.

Οι μετασχηματισμοί αυτοί ορίστηκαν αρχικά από τους Rosenfeld & Pfaltz [32, 33] και από τότε έχουν απασχολήσει αρκετούς ερευνητές. Η μετρική που θα περιμέναμε να χρησιμοποιείται περισσότερο λόγω και της φυσικής της ιδιότητας είναι η Ευκλείδεια. Δυστυχώς όμως μέχρι το 1995 δεν υπήρχαν αποτελεσματικοί αλγόριθμοι (μικρής χρονικής πολυπλοκότητας). Αυτό οδήγησε αρκετούς ερευνητές [30, 34, 35] στην ανάπτυξη αλγόριθμων που υπολογίζουν προσεγγιστικά τον ευκλείδειο μετασχηματισμό απόστασης [30, 36].

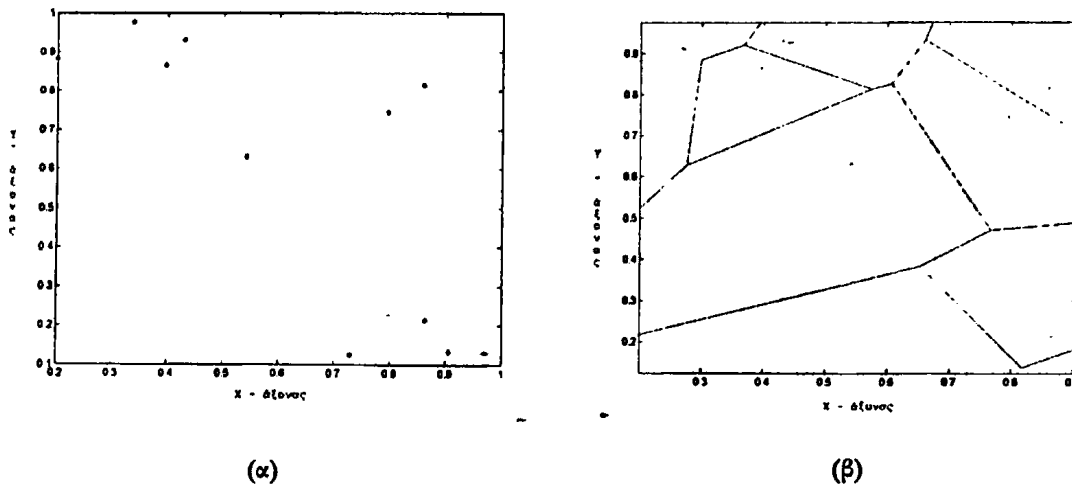


Το 1995 παρουσιάστηκε ένας γραμμικής χρονικής πολυπλοκότητας αλγόριθμος [37] που βασίζεται στην εύρεση του διαγράμματος Voronoi για το οποίο οι κόμβοι είναι τα χαρακτηριστικά εικονοστοιχεία. Θα δούμε ότι υπολογίζοντας το διάγραμμα Voronoi για την δυαδική εικόνα βρίσκουμε τον μετασχηματισμό κοντινότερου γείτονα για ένα σύνολο χαρακτηριστικών εικονοστοιχείων και επομένως μπορούμε πολύ εύκολα να υπολογίσουμε το μετασχηματισμό απόστασης όπως είδαμε και πιο πάνω.

Έστω  $P = \{p_1, p_2, \dots, p_n\}$  ένα σύνολο σημείων (κόμβοι) στο επίπεδο. Σε κάθε έναν κόμβο αναθέτουμε όλα τα σημεία του επιπέδου που είναι κοντινότερα σ' αυτόν παρά σε οποιονδήποτε άλλο κόμβο (με βάση την ευκλείδεια απόσταση). Ο μαθηματικός ορισμός της περιοχής Voronoi  $V(p_i)$  του κόμβου  $p_i$  είναι:

$$V(p_i) = \{x : |p_i - x| \leq |p_j - x| \quad \forall j \neq i\} \quad (3.41)$$

Κάθε περιοχή Voronoi είναι ένα κλειστό σύνολο. Το σύνορο της αποτελείται από σημεία τα οποία δεν έχουν έναν κοντινότερο κόμβο αλλά ισαπέχουν από δύο ή και περισσότερους κόμβους. Τα σημεία αυτά σχηματίζουν το διάγραμμα Voronoi του συνόλου των κόμβων [38, 39]. Ένα παράδειγμα διαγράμματος Voronoi φαίνεται στην Εικόνα 16.



Εικόνα 16: (α) Δέκα τυχαία σημεία στο επίπεδο. (β) Διάγραμμα Voronoi για τα δέκα σημεία.

Γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι ο μετασχηματισμός κοντινότερου γείτονα μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι η διακριτή έκδοση του διαγράμματος Voronoi με κόμβους τα εικονοστοιχεία χαρακτηριστικού και σημεία του επιπέδου όλα τα εικονοστοιχεία της εικόνας. Για τον υπολογισμό του διαγράμματος Voronoi έχουν προταθεί αρκετοί αλγόριθμοι [39] όπως ο Αυξητικός αλγόριθμος, Διαιρεί και Βασίλευε [40], ο αλγόριθμος του Fortune κ.α. και όλοι απαιτούν χρονική πολυπλοκότητα  $O(n \log n)$ , όπου  $n$  το πλήθος των σημείων.

Για να ορίσουμε το μετασχηματισμό του κοντινότερου γείτονα για μια δυαδική εικόνα  $q = m \times n$  η οποία περιέχει  $s$  χαρακτηριστικά εικονοστοιχεία θα πρέπει να κατασκευάσουμε αρχικά το διάγραμμα Voronoi με κόμβους τα παραπάνω εικονοστοιχεία, χρόνος  $O(s \log s)$ . Το διάγραμμα Voronoi αποτελεί το μετασχηματισμό κοντινότερου γείτονα για τα χαρακτηριστικά εικονοστοιχεία της εικόνας.



Δεδομένου ότι ο εντοπισμός σημείου σε μια διαμέριση του επιπέδου σε περιοχές μπορεί να γίνει σε χρόνο  $O(\log n)$  [39], όπου  $n$  το πλήθος των διαμερίσεων, συμπεραίνουμε ότι ο υπολογισμός του μετασχηματισμού μπορεί να γίνει σε  $O(q \log s)$  χρόνο. Η χρονική πολυπλοκότητα για τον υπολογισμό του μετασχηματισμού του κοντινότερου γείτονα μπορεί να μειωθεί σε γραμμικό στο πλήθος των εικονοστοιχείων της εικόνα  $O(q)$  εκμεταλλευόμενοι το γεγονός ότι τόσο οι κόμβοι όσο και τα σημεία-εικονοστοιχεία είναι σημεία ενός δυσδιάστατου πίνακα δηλαδή της εικόνας μας.

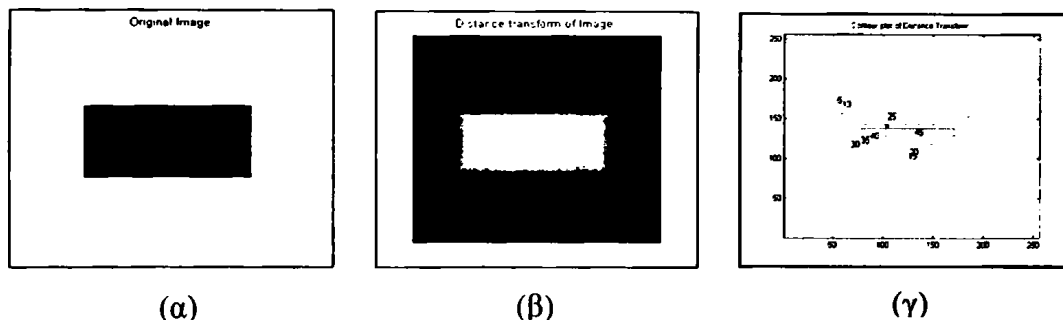
Το διάγραμμα Voronoi μπορεί να κατασκευαστεί με έναν σχετικά πολύπλοκο αλγόριθμο διαιρεί και βασιλευε που περιγράφηκε από τους Shamos & Hoey [40] και έχει  $O(n \log n)$  πολυπλοκότητα χρόνου, όπου  $n$  το πλήθος των κόμβων. Το σύνολο των κόμβων διαμερίζεται σε δύο υποσύνολα  $S_1$  και  $S_2$ , όπου το  $S_1$  περιέχει τους  $n/2$  αριστερότερους κόμβους και το  $S_2$  υπόλοιπους, και τα αντίστοιχα διαγράμματα Voronoi  $Vor(S_1)$  και  $Vor(S_2)$  κατασκευάζονται αναδρομικά.

Η δυσκολία εντοπίζεται στη συγχώνευση των επιμέρους λύσεων που απαιτεί συρραφή των δύο διαγραμμάτων Voronoi  $Vor(S_1)$  και  $Vor(S_2)$ . Η συρραφή γίνεται κατά μήκος μιας συνεχούς  $y$ -μονότονης<sup>1</sup> πολυγωνικής γραμμής η οποία αποτελείται από τμήματα μεσοκαθέτων ζευγών κόμβων με έναν κόμβο από το σύνολο  $S_1$  και έναν κόμβο από το  $S_2$ . Η εύρεση αυτής της διαχωριστικής γραμμής και η συνένωση των κομματιών των επιμέρους διαγραμμάτων Voronoi σε ένα διάγραμμα μπορεί να εκτελεστεί σε  $O(n)$  χρόνο, ώστε ο συνολικός αλγόριθμος να έχει την επιθυμητή  $O(n \log n)$  πολυπλοκότητα χρόνου.

Οι Brey et. al. [37] αποδεικνύουν ότι η κατασκευή του διαγράμματος Voronoi μπορεί να γίνει σε χρόνο γραμμικό στο πλήθος των εικονοστοιχείων της εικόνας. Αυτό βασίζεται σε δύο παρατηρήσεις τους:

- Οι κόμβοι του διαγράμματος αποτελούν υποσύνολο ενός  $m \times n$  πίνακα.
- Αρκεί να κατασκευάσουμε το διάγραμμα Voronoi μόνο για το ορθογώνιο  $[1, n] \times [1, m]$ .

Στις εικόνες 17 και 18 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της εφαρμογής του μετασχηματισμού απόστασης για μερικές εικόνες καθώς και τις ισοϋψείς καμπύλες του μετασχηματισμού απόστασης.



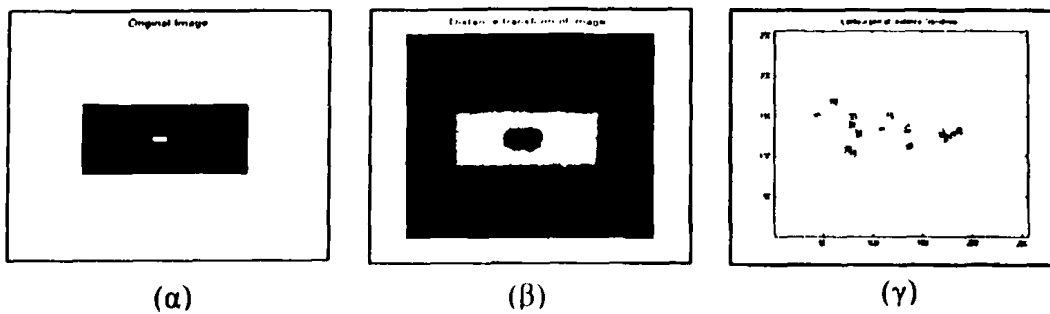
Εικόνα 17: Παράδειγμα εφαρμογής του Μετασχηματισμού Απόστασης.

- (α) Αρχική Εικόνα.
- (β) Μετασχηματισμός Απόστασης.
- (γ) Ισοϋψείς καμπύλες του μετασχηματισμού απόστασης.

<sup>1</sup> Μια γραμμή λέγεται  $y$ -μονότονη όταν για κάθε ευθεία κάθετη σε αυτή, η τομή αυτής και της γραμμής είναι ένα μόνο σημείο.







Εικόνα 18: Παράδειγμα εφαρμογής του Μετασχηματισμού Απόστασης.  
 (α) Αρχική Εικόνα.  
 (β) Μετασχηματισμός Απόστασης.  
 (γ) Ισοϋψείς καμπύλες του μετασχηματισμού απόστασης.

### 3.4.5. ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΓΙΑ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ

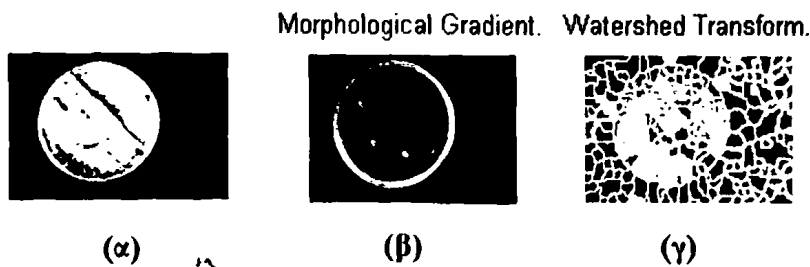
Ο μετασχηματισμός Watershed έχει εφαρμοστεί με αρκετά μεγάλη επιτυχία για την κατάτμηση εικόνων [25, 41]. Έχουν προταθεί αρκετές βελτιώσεις του αλγόριθμου [42, 43, 44]. Δυστυχώς η απ' ευθείας εφαρμογή του μετασχηματισμού *Watershed* σε μια εικόνα έχει σαν αποτέλεσμα του *over-segmentation* εξαιτίας του γεγονότος ότι σε πολλές εικόνες υπάρχουν πολλά τοπικά ελάχιστα όπως είδαμε και στην εικόνα 8.

Μια λύση στο παραπάνω πρόβλημα είναι η εφαρμογή του μετασχηματισμού watershed στην κλίση της αρχικής εικόνας (*gradient image*) όπου ουσιαστικά έχουν τονιστεί οι ακμές - περιοχές κάθε αντικειμένου της εικόνας. Μάλιστα συνήθως χρησιμοποιείται η μορφολογική κλίση (*morphological gradient*) η οποία ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ της διαστολής (*dilation*) και της συστολής (*erosion*) [20, 23, Παράρτημα Β] για την εφαρμογή του μετασχηματισμού *watershed* στην αρχική εικόνα X:

$$\text{grad}(X) = (X \oplus B) - (X \ominus B), \quad (3.42)$$

όπου B δομικό στοιχείο, [Παράρτημα Β].

Δυστυχώς η εφαρμογή του μετασχηματισμού watershed στην εικόνα μορφολογικής κλίσης αν και μειώνει το φαινόμενο του *over-segmentation* δεν το εξαλείφει, όπως φαίνεται και στην εικόνα 19.



Εικόνα 19: Εφαρμογή του μετασχηματισμού Watershed στην εικόνα μορφολογικής κλίσης. (α) Αρχική Εικόνα, (β) Morphological Gradient, (γ) Watershed transform.

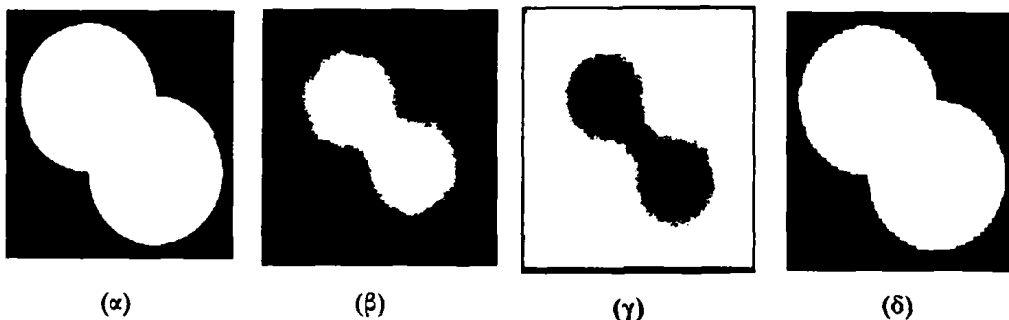


### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Το 1990 οι Meyer & Beucher [45, 46] πρότειναν μια τεχνική που ονομάζεται *marker-control segmentation* και εφαρμόζεται για την κατάτμηση εικόνων όταν υπάρχουν μερικώς επικαλυπτόμενα αντικείμενα. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε δύο κυρίως βήματα:

1. Ορίζουμε *markers* των αντικείμενων έτσι ώστε κάθε *marker* αντιστοιχεί σε κάθε αντικείμενο.
2. Μεγαλώνουμε τους *markers* (*watershed* μετασχηματισμός) υπό την προϋπόθεση ότι δεν θα ξεπεράσουμε τα όρια των αρχικών αντικειμένων.

Υπάρχουν αρκετοί τρόποι να ορίσουμε *markers* [47]. Ένας από αυτούς είναι τα τοπικά ελάχιστα του μετασχηματισμού απόστασης (*distance function*). Ένα παράδειγμα εφαρμογής των παραπάνω δίνεται στην εικόνα 20 όπου φαίνονται στην αρχική εικόνα δύο κυκλικοί δίσκοι οι οποίοι επικαλύπτουν μερικώς ο ένας τον άλλο, το αποτέλεσμα της παραπάνω τεχνικής είναι οι κατάτμηση των δύο δίσκων στην τελική εικόνα 20 (δ).



Εικόνα 20: Παράδειγμα εφαρμογής του μετασχηματισμού Watershed με χρήση του distance Transform. (α) Αρχική Εικόνα. (β) Distance Transform της συμπληρωματικής εικόνας. (γ) Αρνητικός Distance Transform. (δ) Αποτέλεσμα μετασχηματισμού Watershed.

#### 3.5. ΙΣΟΣΤΑΘΜΙΣΗ ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Μια χρήσιμη προσέγγιση στην ψηφιακή επεξεργασία είναι να θεωρήσουμε την φωτεινότητα  $f(i, j)$  της εικόνας  $f$  σε κάθε σημείο της εικόνας σαν τυχαία μεταβλητή με συνάρτηση πυκνότητα πιθανότητας (*probability density function, pdf*)  $p_f(f)$ . Η *pdf* της εικόνας περιέχει συνολική πληροφορία για το περιεχόμενο της εικόνας. Όμως, γενικά η *pdf* δεν είναι διαθέσιμη και πρέπει να εκτιμηθεί από την ίδια την εικόνα κάνοντας χρήση του ιστογράμματος.

Αν υποθέσουμε ότι η ψηφιακή εικόνα έχει  $L$  διακριτά επίπεδα του γκρι (συνήθως από 0 μέχρι 255) και ότι  $n_k, k = 0, 1, \dots, L-1$  είναι ο αριθμός των εικονοστοιχείων που έχουν φωτεινότητα  $k$ . Το ιστόγραμμα  $H^f(p)$  δίνεται από τη σχέση:

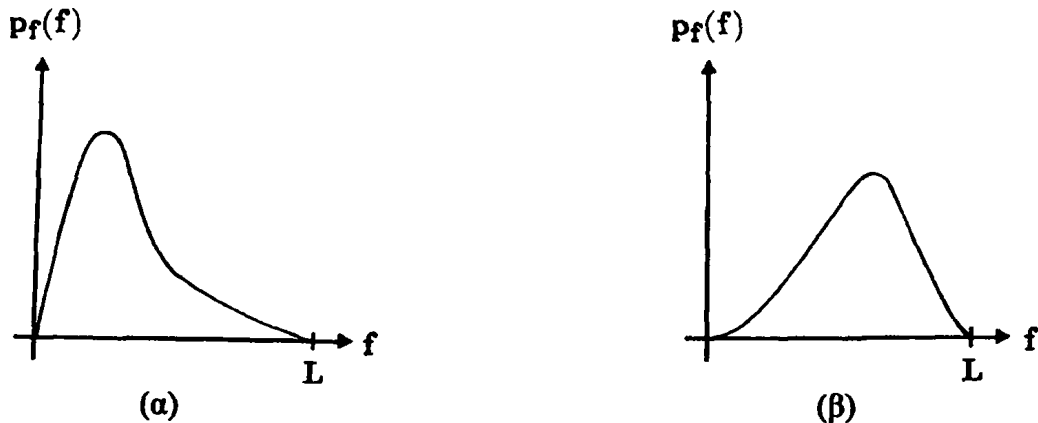
$$H^f(p_k) = \frac{n_k}{n}, k = 0, 1, \dots, L-1, \quad (3.43)$$

όπου  $n$  είναι ο συνολικός αριθμός των εικονοστοιχείων της εικόνας.



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

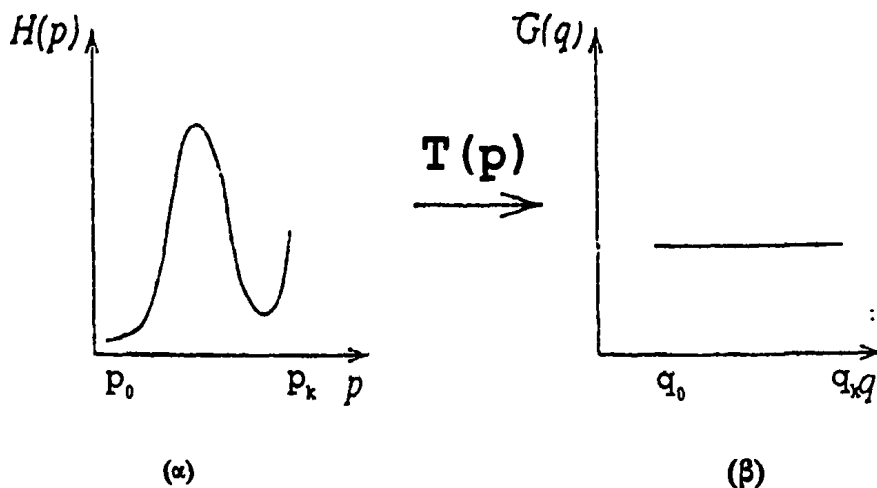
Αν οι φωτεινότητες των εικονοστοιχείων είναι συγκεντρωμένες στις χαμηλές τιμές φωτεινότητας, τότε η εικόνα είναι "σκοτεινή" (Εικόνα 21(α)) ενώ μια "φωτεινή" (Εικόνα 21(β)) εικόνα έχει ιστόγραμμα συγκεντρωμένο στις υψηλές τιμές φωτεινότητας.



Εικόνα 21: (α) Ιστόγραμμα σκοτεινής εικόνας. (β) Ιστόγραμμα φωτεινής εικόνας.

Αν το ιστόγραμμα μιας εικόνας είναι συγκεντρωμένο σε μια μικρή περιοχή φωτεινότητας, τότε η αντίθεση (*contrast*) της εικόνας είναι χαμηλή. Η αντίθεση μπορεί να βελτιωθεί τροποποιώντας το ιστόγραμμά της. Αυτό μπορεί να γίνει με χρήση ισοστάθμισης ιστογράμματος (*histogram equalization*) [48].

Έστω  $H(p)$ ,  $p \in [p_0, p_k]$  το ιστόγραμμα της αρχικής εικόνας, σκοπός μας είναι να βρούμε ένα μετασχηματισμό  $q = T(p)$  ώστε το νέο ιστόγραμμα  $G(q)$ ,  $q \in [q_0, q_k]$  να είναι ομοιόμορφο. Θα θέλαμε δηλαδή οι περισσότερες φωτεινότητες να αντιπροσωπεύονται στο ιστόγραμμά μας και με το ίδιο περίπου αριθμό εικονοστοιχείων, Εικόνα 22.



Εικόνα 22: Ισοστάθμιση ιστογράμματος. (α) Ιστόγραμμα αρχικής εικόνας. (β) Ιστόγραμμα τελικής εικόνας.

Ο μετασχηματισμός  $T$  θα πρέπει να είναι γνήσια μονότονος ώστε η διατηρείται η αυξανόμενη σειρά από το μαύρο στο άσπρο του αρχικού ιστογράμματος, έτσι θα πρέπει:



### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΤΑΤΜΗΣΗΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

$$\sum_{i=0}^k H(p_i) = \sum_{i=0}^k G(q_i). \quad (3.44)$$

Επειδή όπως είδαμε το ιστογράμμα μπορεί να θεωρηθεί ως συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας της φωτεινότητας των εικονοστοιχείων, τότε η *pdf* του ιστογράμματος της ισοσταθμισμένης (*equalized*) εικόνας θα θέλαμε να είναι η ομοιόμορφη. Θεωρώντας  $N$  γραμμές και στήλες της εικόνας τότε η σχέση (3.44) γίνεται στη συνεχή περίπτωση:

$$N^2 \int_{q_0}^{q_k} \frac{1}{q_k - q_0} dq = N^2 \frac{(q - q_0)}{q_k - q_0} = \int_{p_0}^p H(p) dp. \quad (3.45)$$

*pdf of uniform distribution*

λύνοντας την σχέση (44) ως προς  $q$  έχουμε τον μετασχηματισμό που ζητάμε:

$$q = T(p) = \frac{q_k - q_0}{N^2} \int_{p_0}^p H(p) dp + q_0, \quad (3.46)$$

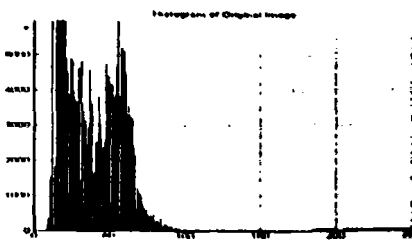
και στην διακριτή μορφή η σχέση (3.46):

$$q = T(p) = \frac{q_k - q_0}{N^2} \sum_{i=p_0}^p H(i) + q_0 \quad (3.46)$$

Στις εικόνες 23 και 24 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της εφαρμογής της ισοστάθμισης ιστογράμματος.



(α)

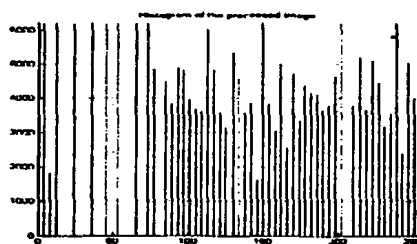


(β)

Εικόνα 23: (α) Αρχική εικόνα. (β) Ιστογράμμα αρχικής εικόνας.



(α)



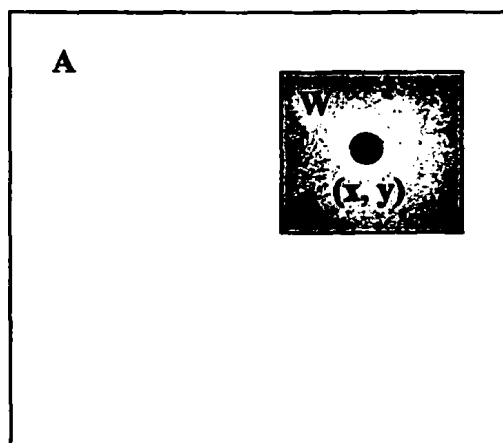
(β)

Εικόνα 24: (α) Ισοσταθμισμένη εικόνα. (β) Ιστόγραμμα ισοσταθμισμένης εικόνας.

### 3.6. ΤΟΠΙΚΗ ΙΣΟΣΤΑΘΜΙΣΗ ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΙΚΟΝΑΣ

Η προηγούμενη μέθοδος εφαρμόζεται για όλη την εικόνα αφού βασιζόμαστε στο ιστόγραμμα όλης της εικόνας. Όμως μερικές φορές απαιτείται η ενίσχυση της αντίθεσης σε μικρές περιοχές της εικόνας γιατί μικρές περιοχές μπορεί να παίζουν μικρό ρόλο στον υπολογισμό του μετασχηματισμού.

Η τεχνική της τοπικής ισοστάθμισης ιστογράμματος (*Local Histogram Equalization, LHE*) [49] δεν είναι τίποτα άλλο παρά η εφαρμογή της ισοστάθμισης ιστογράμματος, τοπικά για μια γειτονιά σε κάθε εικονοστοιχείο της εικόνας, Εικόνα 25.



Εικόνα 25: Παράθυρο  $W$  που χρησιμοποιείται για την τοπική ισοστάθμιση.

#### 3.7. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΑΣ

Μια από τις μεθόδους η οποία έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για το διαχωρισμό πυρήνων κυττάρων τα οποία εφάπτονται και επικαλύπτονται το ένα με το άλλο είναι η χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* [41]. Ωστόσο ο μετασχηματισμός *Watershed* δεν έχει εφαρμοστεί μόνο για το διαχωρισμό πυρήνων κυττάρων αλλά και για το διαχωρισμό μικροαντικειμένων από εικόνες ζελέ ηλεκτροφόρησης [50]. Γενικά η χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* ενδείκνυται για εικόνες που περιέχουν αντικείμενα που εφάπτονται είτε επικαλύπτουν το ένα το άλλο.

Για το λόγο αυτό στην προτεινόμενη μέθοδο (Κεφάλαιο 4) να κάνουμε χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* για την κατάτμηση εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων. Ο μετασχηματισμός αυτός δεν έχει χρησιμοποιηθεί για την περίπτωση εικόνων χρωμοσωμάτων.

Εν συντομία η μέθοδος μας περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

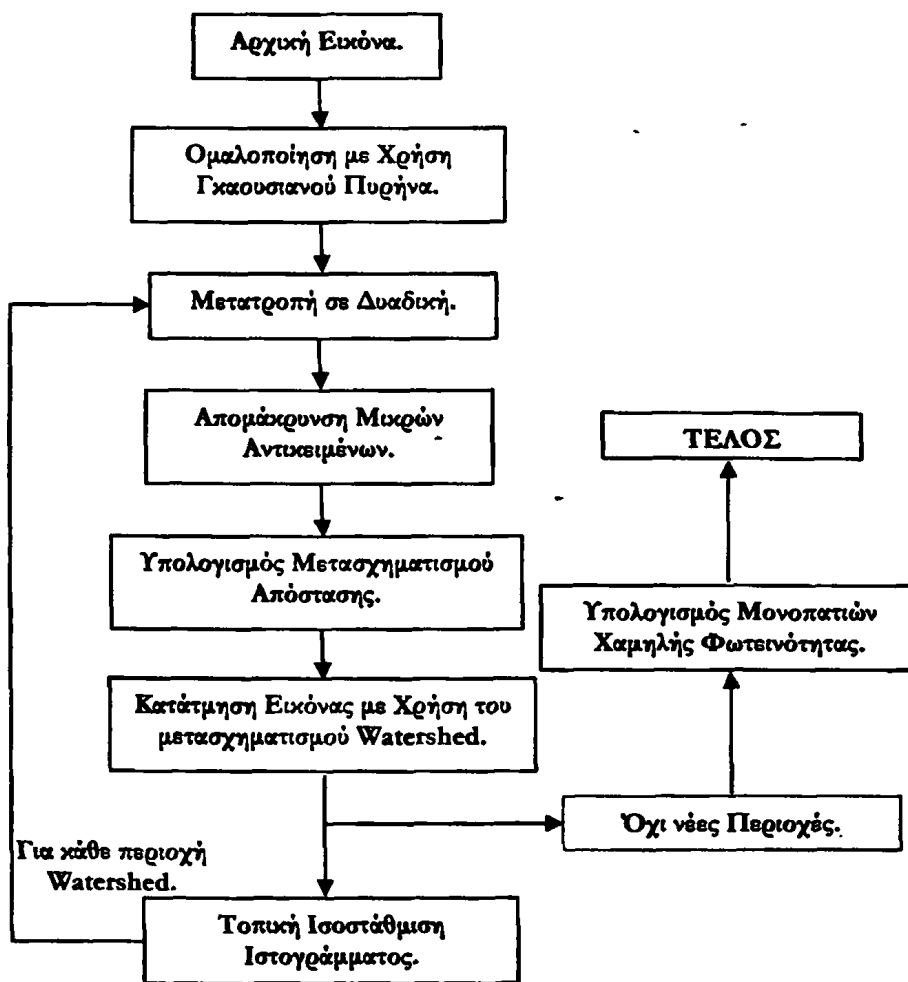
- Μετατροπή της εικόνας σε δυαδική, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Otsu.
- Απομάκρυνση μικρών αντικειμένων που οφείλονται σε θόρυβο.
- Υπολογισμός του μετασχηματισμού Ευκλείδειας απόστασης.
- Υπολογισμός του μετασχηματισμού *Watershed*.
- Τοπική ισοστάθμιση ιστογράμματος κάθε περιοχής watershed και επαναληπτική χρήση των παραπάνω βημάτων μέχρι να μην δημιουργούνται νέες περιοχές.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ.

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα βήματα της προτεινόμενης μεθόδου παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Τα βήματα της μεθόδου.

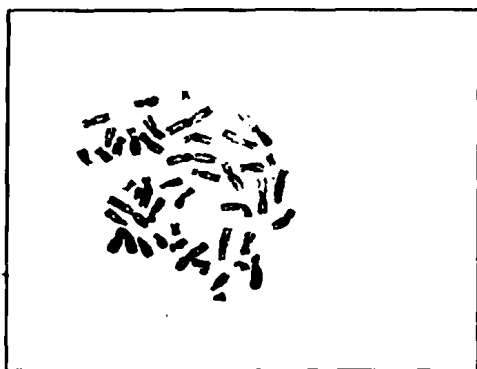
Τα βήματα της μεθόδου και οι λεπτομέρειες υλοποίησης παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια.



#### 4.2 ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΕΙΚΟΝΩΝ

Όλες οι εικόνες δημιουργήθηκαν στο Εργαστήριο Βιολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Οι εικόνες ληφθήκαν με τη βοήθεια του λογισμικού IKAROS [51]. Το πρόγραμμα IKAROS είναι ένα αυτόματο πρόγραμμα δημιουργίας καρτότυπου και περιλαμβάνει ένα μικροσκόπιο και μια υψηλής ανάλυσης κάμερα (*Charged Coupled Device – CCD*) με ανάλυση 1280x1024 και μέγεθος εικονοστοιχείου 6.7 x 6.7  $\mu\text{m}$ . Κάθε εικόνα είναι 256 επιπέδων του γκρι.

Δύο τύποι εικόνων χρωμοσωμάτων δημιουργήθηκαν η πρώτη ήταν τύπου C – Banding όπου το χρωμόσωμα έχει μια συνεχή και ομοιόμορφη χρώση κατά μήκος του σώματός του εκτός από κεντρομερίδιο που χρωματίζεται επιλεκτικά με σκούρα χρώση (Εικόνα 1(α)). Ο δεύτερος τύπος εικόνων ήταν DAPI με pancentromeric probe όπου τα χρωμοσώματα είναι ομοιόμορφα βαμμένα με επιλεκτικά χρωματισμένο το χρωμόσωμα στην περιοχή του κεντρομεριδίου, φωτεινή περιοχή (Εικόνα 1(β)).



Εικόνα 2: Χρωμοσώματα βαμμένα με τη τεχνική C – Banding.

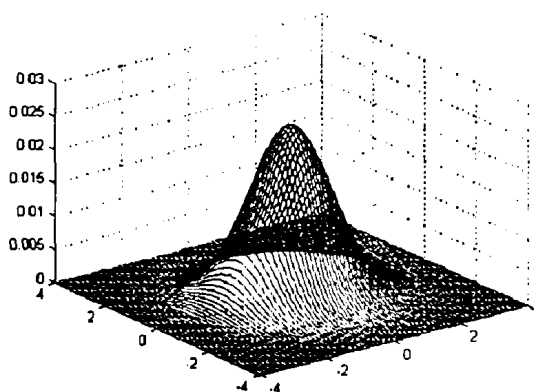


Εικόνα 3: Χρωμοσώματα βαμμένα με τη τεχνική DAPI with pancentromeric probe.

#### 4.3 ΟΜΑΛΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΓΚΑΟΥΣΙΑΝΟΥ ΠΥΡΗΝΑ

Χρησιμοποιείται Γκαουσιανός πυρήνας για την ομαλοποίηση (*smoothing*) της εικόνας μας με σκοπό την αφαίρεση θορύβου. Το γκαουσιανό φίλτρο λειτουργεί σχεδόν παρόμοια με το φίλτρο μέσου όπου αντικαθιστούμε την φωτεινότητα ενός εικονοστοιχείου με την μέση φωτεινότητα της γειτονιάς του.

Η μορφή του Γκαουσιανού πυρήνα φαίνεται στην Εικόνα 4..



Εικόνα 4: 2-D Gaussian πυρήνας με μέσο (0, 0) και διακύμανση  $\sigma=1$ .





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Ας θεωρήσουμε ότι υπολογίζουμε την συνέλιξη μιας εικόνας με έναν Γκαουσιανό πυρήνα διακύμανσης  $\sigma = 1$ . Αν και οι τιμές της συνάρτησης του πυρήνα δεν είναι μηδέν σε μια αρκετά μεγάλη περιοχή εκτός του μέσου, για αρκετές από αυτές οι τιμές είναι πολύ κοντά στο μηδέν λόγω της χρήσης του εκθετικού. Μάλιστα για  $\sigma = 1$  οι τιμές της συνάρτησης εκτός μιας περιοχής  $5 \times 5$  έχουν τιμές μικρότερες από  $e^{-4} = 0.0184$ . Αυτό σημαίνει ότι μπορούμε να αναπαραστήσουμε το διακριτό πυρήνα ως ένα πίνακα με μέγεθος  $5 \times 5$ .

Με λίγα λόγια φωτεινότητες εικονοστοιχείων που βρίσκονται στο κέντρο του πυρήνα επιδρούν περισσότερο στη μέση φωτεινότητα που θα αντικατασταθεί. Η μαθηματική περιγραφή της εφαρμογής του φίλτρου είναι η ακόλουθη:

$$F(x, y) = \sum_{i=-a}^a \sum_{j=-b}^b g(i, j) \cdot f(x+i, y+j), \quad (4.1)$$

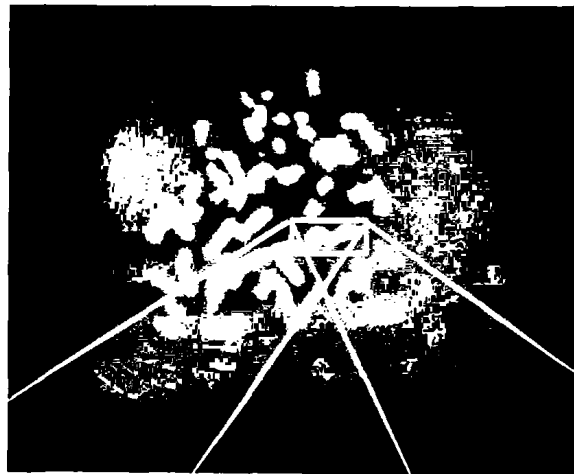
όπου

$g(i, j)$ : Η τιμή του Γκαουσιανού πυρήνα μεγέθους  $m \times n$  με

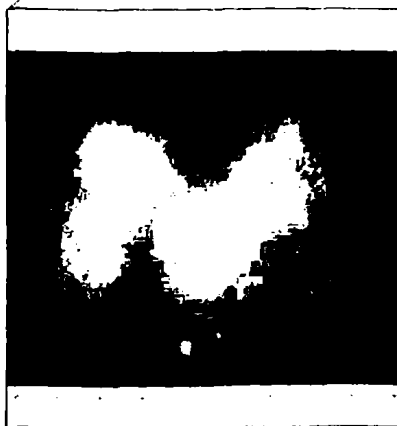
$$a = \frac{m-1}{2}, b = \frac{n-1}{2}, \text{ στη θέση } (i, j).$$

$f(x, y)$ : Η φωτεινότητα του εικονοστοιχείου  $(i, j)$ .

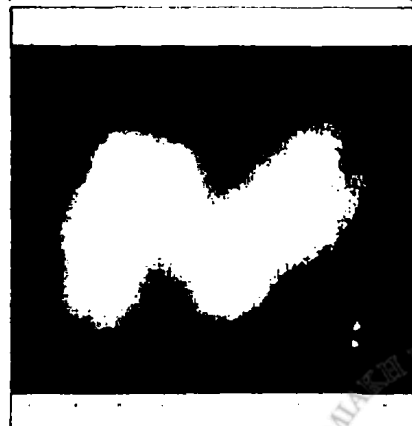
Αποτέλεσμα της ομαλοποίησης με χρήση του Γκαουσιανού πυρήνα παρουσιάζεται στις Εικόνες 5-7.



Εικόνα 5: Αρχική εικόνα χρωμοσωμάτων.



Εικόνα 6: Μεγέθυνση αρχικής εικόνας.



Εικόνα 7: Μεγέθυνση Gaussian ομαλοποιημένης εικόνας.



4.4 ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΔΥΑΔΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Σκοπός του βήματος αυτού ήταν η μετατροπή της αρχικής ομαλοποιημένης εικόνας σε δυαδική. Για την υλοποίηση του βήματος αυτού χρησιμοποιήσαμε την στατιστική μέθοδο OTSU [21]. Η μέθοδος αυτή θεωρεί ότι η εικόνα αποτελείται από δύο κυρίως κλάσεις τις περιοχές ενδιαφέροντος (χρωμοσώματα) και το υπόβαθρο. Επιλέγει ένα κατώφλι για τη μετατροπή μιας εικόνας σε δυαδική μεγιστοποιώντας τη διακύμανση μεταξύ των επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων. Η μέθοδος έχει ήδη περιγραφεί στην ενότητα 2.2.1.

Η μεγιστοποίηση της διακύμανσης μεταξύ των επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων οδηγούμαστε στη σχέση (21), Ενότητα 2.2.1, η οποία είναι μια συνάρτηση των επιπέδων γκρι:

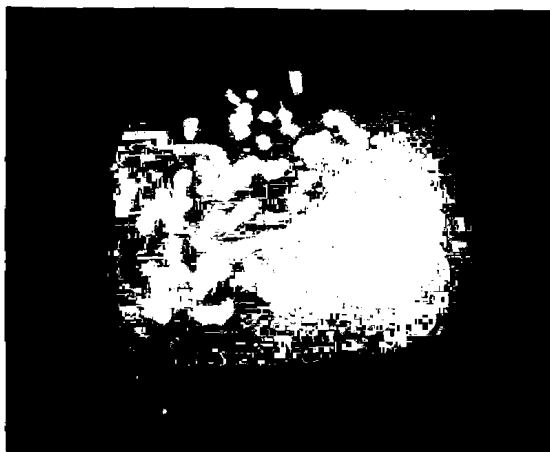
$$\sigma_B^2 = \frac{(\mu(k) + \mu_T \omega(k))^2}{\omega(k)(1 - \omega(k))} \tag{4.2}$$

Το βέλτιστο  $k^*$  το οποίο μεγιστοποιεί την διακύμανση μεταξύ επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων θα είναι:

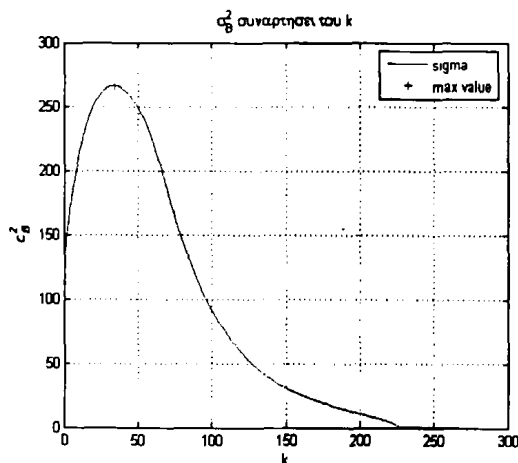
$$k^* = \arg \max_k (\sigma_B^2) \tag{4.3}$$

Έτσι όπως είδαμε στην ενότητα ξεκινώντας από το αρχικό επίπεδο γκρι της εικόνας  $k=1$  και καταλήγοντας στο επίπεδο  $L=256$  υπολογίζουμε την  $\sigma_B^2$  συναρτήσει του κατωφλίου  $k$ . Τέλος επιλέγουμε το κατώφλι  $k$  για το οποίο η  $\sigma_B^2$  είναι μέγιστη.

Ένα παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου OTSU δίνεται παρακάτω όπου στην Εικόνα 8 φαίνεται η αρχική εικόνα και στην Εικόνα 9 παρουσιάζεται η γραφική παράσταση της διακύμανσης των επιπέδων γκρι συναρτήσει του επιπέδου γκρι  $k$ . Προφανώς επιλέγουμε για κατώφλι  $T$  την τιμή  $k$  η οποία μεγιστοποιεί την διακύμανση (Εικόνα 9). Η μετατροπή της εικόνας σε δυαδική φαίνεται στην Εικόνα 10.



Εικόνα 8: Αρχική εικόνα χρωμοσωμάτων.



Εικόνα 9: Διακύμανση συναρτήσει των επιπέδων γκρι της εικόνας, κατώφλι  $T=33$ .





Εικόνα 10: Διαδική εικόνα.

Αποτέλεσμα της μετατροπής της εικόνας μας  $X$ , σε διαδική είναι η δημιουργία  $N$  περιοχών  $R_i$  και του υποβάθρου  $B$ :

$$\bar{X} = \begin{cases} \forall p \in B, & X(p) = 0 \\ \forall p \in R_i, 1 \leq i \leq N, & X(p) = 1 \end{cases} \quad (4.4)$$

όπου  $p$  εικονοστοιχείο της εικόνας  $X$ .

#### 4.5 ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΜΙΚΡΩΝ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΩΝ

Ονομάζουμε αντικείμενο κάθε περιοχή που έχουμε αναγνωρίσει από τη μετατροπή της εικόνας σε διαδική. Σε αρκετές εικόνες εξαιτίας της χρησιμοποίησης αρκετών ουσιών και γενικότερα των μη ιδανικών συνθηκών που επικρατούν σε κάθε πείραμα (λήψη εικόνων), έχουμε ως αποτέλεσμα την παρουσία ανεπιθύμητων και μικρών αντικειμένων τα οποία με κάποια μέθοδο θα πρέπει να απομακρυνθούν από τη ψηφιακή εικόνα.

Τα αντικείμενα αυτά δεν ξεπερνούν σε μέγεθος το μικρότερο χρωμόσωμα, μάλιστα είναι αρκετές φορές μικρότερα αυτών. Έτσι αφού υπολογίσουμε το σύνολο των εικονοστοιχείων (εμβαδόν) για κάθε περιοχή απομακρύνουμε αυτά με εμβαδόν μικρότερο των 150 εικονοστοιχείων. Το όριο αυτό ορίστηκε ως  $\frac{1}{2}$ (Εμβαδόν του Μικρότερου Χρωμοσώματος)

#### 4.6 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ

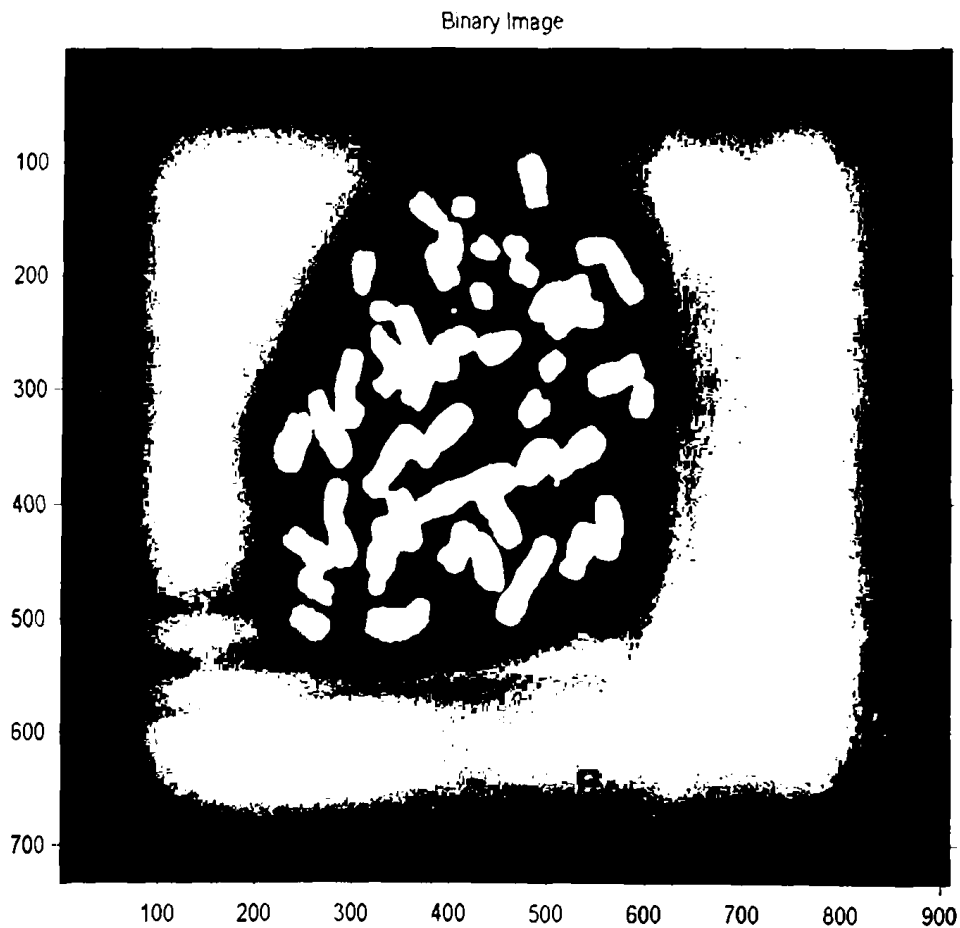
Ορίσαμε τον μετασχηματισμό απόστασης στην ενότητα 3.4.3. και είδαμε πώς για μια διαδική εικόνα αναθέτει σε κάθε εικονοστοιχείο έναν αριθμό, που αντιστοιχεί στην Ευκλείδεια απόσταση του συγκεκριμένου εικονοστοιχείου από το κοντινότερο μη μηδενικό εικονοστοιχείο.



Ο μετασχηματισμός απόστασης δεν υπολογίζεται για την δυαδική εικόνα που υπολογίσαμε στην ενότητα 4.4 αλλά για την συμπληρωματική αυτής. Έστω μια δυαδική εικόνα  $X$  η συμπληρωματική της  $X^c$  είναι μια ίδια μεγέθους εικόνα με:

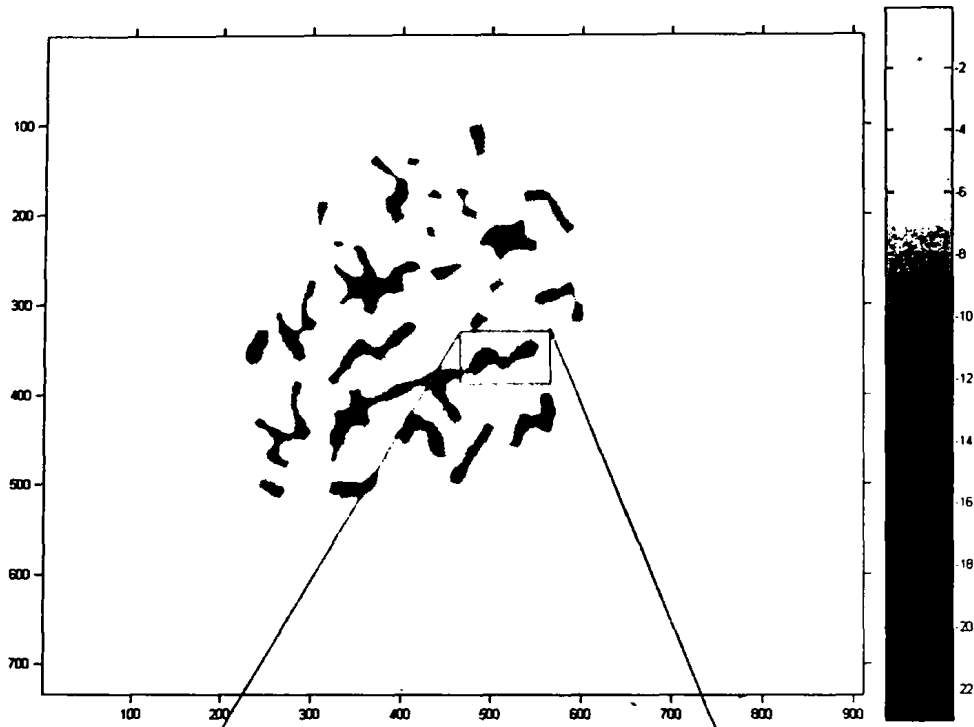
$$X^c(p) = \begin{cases} 0, & X(p) = 1 \\ 1, & X(p) = 0 \end{cases} \quad (4.5)$$

Με αυτόν τον τρόπο προσπαθούμε να δημιουργήσουμε ελάχιστα – λεκάνες για κάθε αντικείμενο που υπάρχει στην εικόνα μας ώστε να εφαρμόσουμε στην συνέχεια ύστερα τον μετασχηματισμό *watershed*. Ένα παράδειγμα υπολογισμού του αρνητικού μετασχηματισμού απόστασης φαίνεται στις Εικόνες 11– 13.

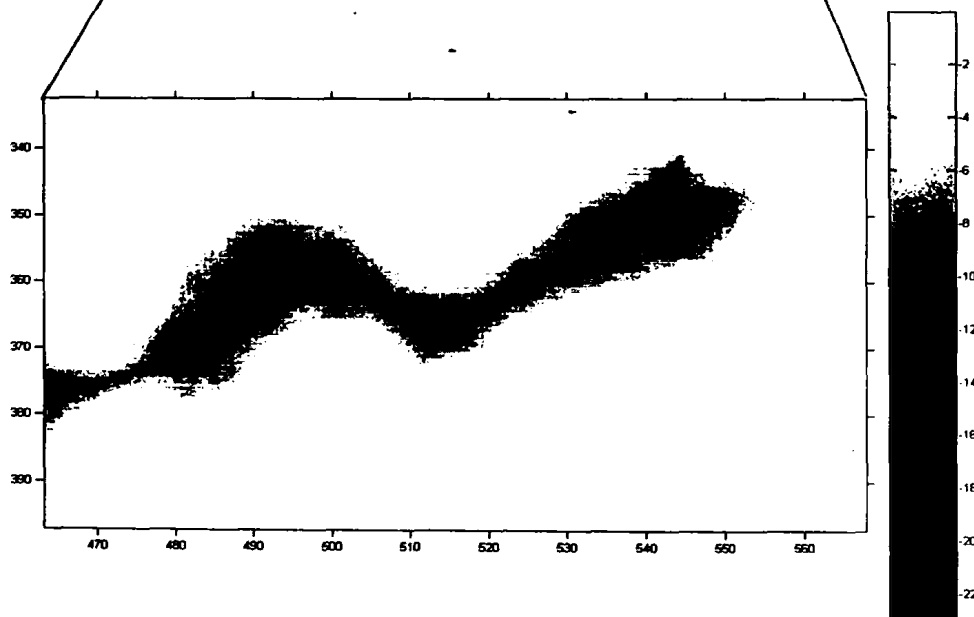


Εικόνα 11: Αρνητική Δυαδική Εικόνα.





Εικόνα 12: Μετασχηματισμός απόστασης της συμπληρωματικής δυαδικής εικόνας.

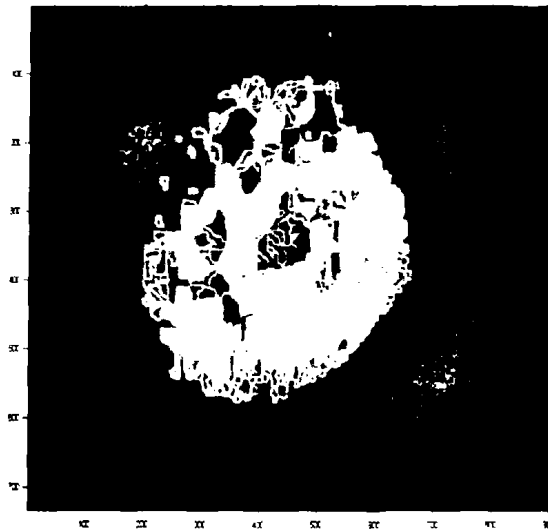


Εικόνα 13: Μεγέθυνση μετασχηματισμού απόστασης.

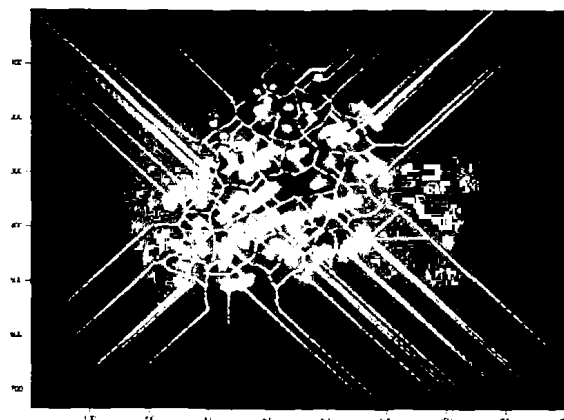


4.6 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED

Όπως έχουμε ήδη παρατηρήσει η εφαρμογή του μετασχηματισμού *Watershed* στην αρχική μας εικόνα έχει σαν αποτέλεσμα του προβλήματος της υπέρ-κατάτμησης (Εικόνα 14). Μια λύση είναι η εφαρμογή του μετασχηματισμού *watershed* απ' ευθείας στον μετασχηματισμό απόστασης, [41, 47]. Αν και μειώθηκε το φαινόμενο της υπέρ-κατάτμησης δεν εξαλείφθηκε (Εικόνα 15) και αυτό γιατί ακόμη και ο μετασχηματισμός απόστασης παρουσιάζει αρκετά ελάχιστα.



Εικόνα 14: Παράδειγμα μετασχηματισμού watershed στην εικόνα 2, κάθε περιοχή αναπαρίσταται από διαφορετικό χρώμα.



Εικόνα 15: Παράδειγμα μετασχηματισμού Watershed στο μετασχηματισμό απόστασης, της εικόνα 10.

Ένας τρόπος για να μειώσουμε το φαινόμενο της υπέρ-κατάτμησης είναι να καταφέρουμε να ελαττώσουμε τα πολλά ελάχιστα. Ένας γνωστός τρόπος για να το καταφέρουμε αυτό είναι με τη βοήθεια της μορφολογικής ανακατασκευής (*morphological reconstruction*), [50].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η μορφολογική ανακατασκευή αρχικά είχε οριστεί για δυαδικές εικόνες, όπου απλά εξάγει κάθε συνδεδεμένο υπογράφημα μιας εικόνας (*connected component*) οι οποίοι είναι σηματοδοτούμενοι (*marked*) από κάποια άλλη εικόνα. Έτσι αρχικά θα δώσουμε τον ορισμό της μορφολογικής ανακατασκευής για δυαδικές εικόνες και θα την επεκτείνουμε για γκρι επιπέδου εικόνες.

Πιο συγκεκριμένα [50], ας υποθέσουμε ότι μια ψηφιακή εικόνα είναι μια αντιστοίχιση από ένα πεπερασμένο ορθογώνιο  $D_I$  του επιπέδου  $Z^2$  στο σύνολο  $\{1, 2, \dots, L\}$  των επιπέδων γκρι της εικόνας. Έτσι μια δυαδική εικόνα είναι μια αντιστοίχιση στο σύνολο  $\{0, 1\}$ . Έστω δύο δυαδικές εικόνες  $I$  και  $J$  που έχουν οριστεί για το ίδιο διακριτό πεδίο  $D$  και τέτοιες ώστε  $J \subseteq I$ , δηλαδή:

$$\forall p \in D, J(p) = 1 \Rightarrow I(p) = 1. \quad (4.6)$$

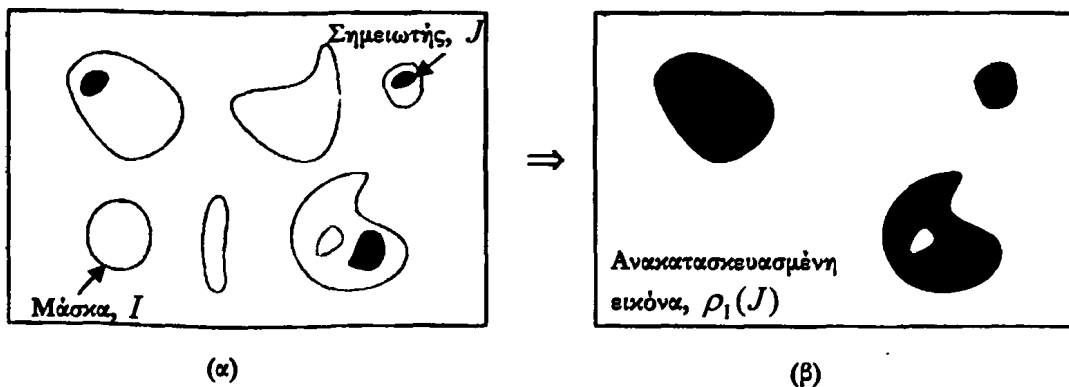
Η εικόνα  $J$  ονομάζεται σημειωτής (*marker*) της εικόνας και η εικόνα  $I$  ονομάζεται μάσκα (*mask*). Αν θεωρήσουμε ότι στην εικόνα υπάρχουν  $n$  συνδεδεμένες συνιστώσες,  $I_1, I_2, \dots, I_n$  τότε ορίζουμε την ανακατασκευή της μάσκας  $I$  από τον σημειωτή  $J$ .

### Ορισμός 4.1. (Μορφολογική ανακατασκευή, για δυαδικές εικόνες)

Η ανακατασκευή  $\rho_I(J)$  της εικόνας μάσκας  $I$  από τον σημειωτή  $J$  είναι η ένωση των συνδεδεμένων συνιστωσών της  $I$  που περιέχουν τουλάχιστον ένα εικονοστοιχείο της εικόνας σημειωτή  $J$ :

$$\rho_I(J) = \bigcup_{J|I_k \neq \emptyset} I_k. \quad (4.7)$$

Στην εικόνα 13, παρουσιάζουμε ένα παράδειγμα μορφολογικής ανακατασκευής για μια δυαδική εικόνα.



Εικόνα 16: (α) Οι σκούρες περιοχές αντιπροσωπεύουν τους σημειωτές και οι ανοικτές την μάσκα.  
(β) Ανακατασκευασμένη εικόνα.

### Ορισμός 4.1. (Μορφολογική ανακατασκευή, για γκρι επιπέδου εικόνες)

Έστω  $J$  και  $I$  δύο γκρι επιπέδου ψηφιακές εικόνες ορισμένες για το ίδιο πεδίο  $D$  και οι οποίες παίρνουν τιμές από το σύνολο  $\{1, 2, \dots, L\}$  και τέτοιες ώστε  $J \leq I$  (π.χ. για κάθε εικονοστοιχείο  $p \in D$ ,  $J(p) \leq I(p)$ ). Η μορφολογική ανακατασκευή  $\rho_I(J)$  της εικόνας  $I$  από την εικόνα  $J$  δίνεται από την ακόλουθη σχέση.

$$\forall p \in D, \rho_I(J) = \max \{k \in [0, N-1] \mid p \in \rho_{T_k(I)}(T_k(J))\} \quad (4.8)$$

$$T_k(I) = \{p \in D_i | I(p) \geq k\} \quad (4.9)$$

Η εικόνα 17, παρουσιάζει τη μορφολογική ανακατασκευή για ένα μονοδιάστατο παράδειγμα.



Εικόνα 17: (α) Η μάζα  $f$  και ο σημειωτής  $g$ .  
(β) Μορφολογική ανακατασκευή της μάζας  $f$  από τον σημειωτή  $g$ .

Για να μειώσουμε τα πολλά τοπικά ελάχιστα εφαρμόζουμε μορφολογική ανακατασκευή του μετασχηματισμού απόστασης. Ουσιαστικά κρατάμε όλα τα μέγιστα του αρνητικού μετασχηματισμού απόστασης που βρίσκονται σε ύψος μεγαλύτερο του. Αυτό μπορεί να γίνει ως εξής:

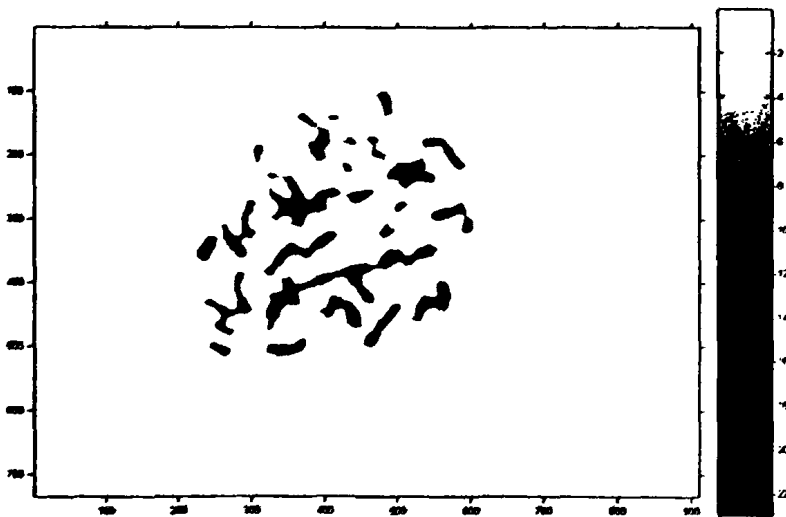
$$D_{new} = \rho_D(D - h). \quad (4.10)$$

όπου

$D$ : ο μετασχηματισμός απόστασης της δυαδικής εικόνας,

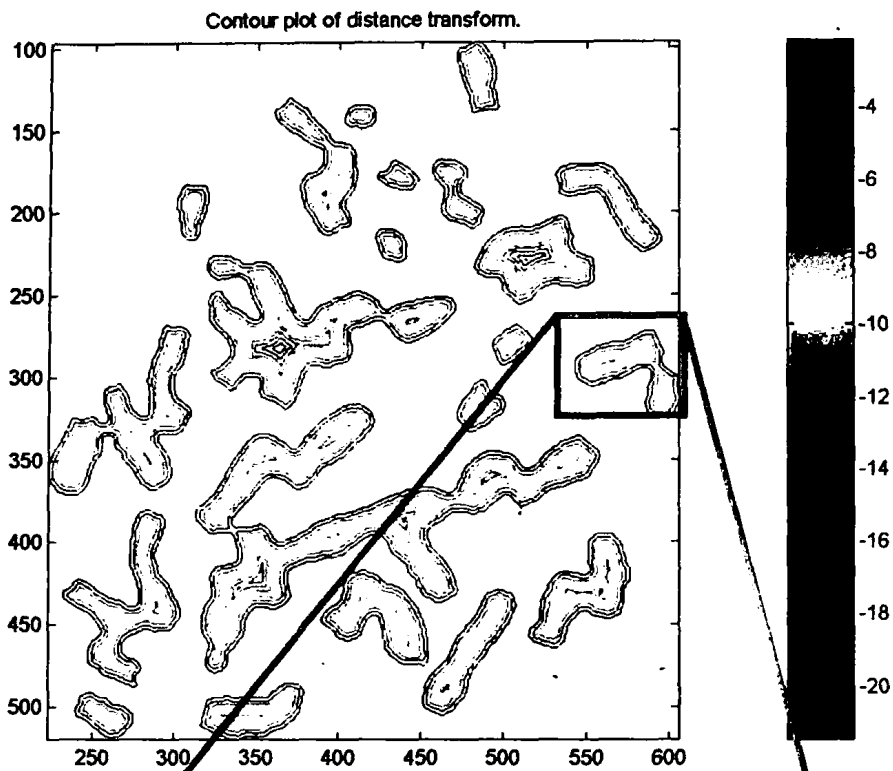
$D_{new}$ : ο μορφολογικά ανακατασκευασμένος μετασχηματισμός απόστασης.

Έτσι εφαρμόζουμε τον προηγούμενο μετασχηματισμό (10) σε κάθε εικόνα του μετασχηματισμού απόστασης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση των ελάχιστων πράγμα που φαίνεται και από τις ισοϋψής καμπύλες του νέου μετασχηματισμού απόστασης,  $D_{new}$ , όπως παρουσιάζεται στις εικόνες 18–22.

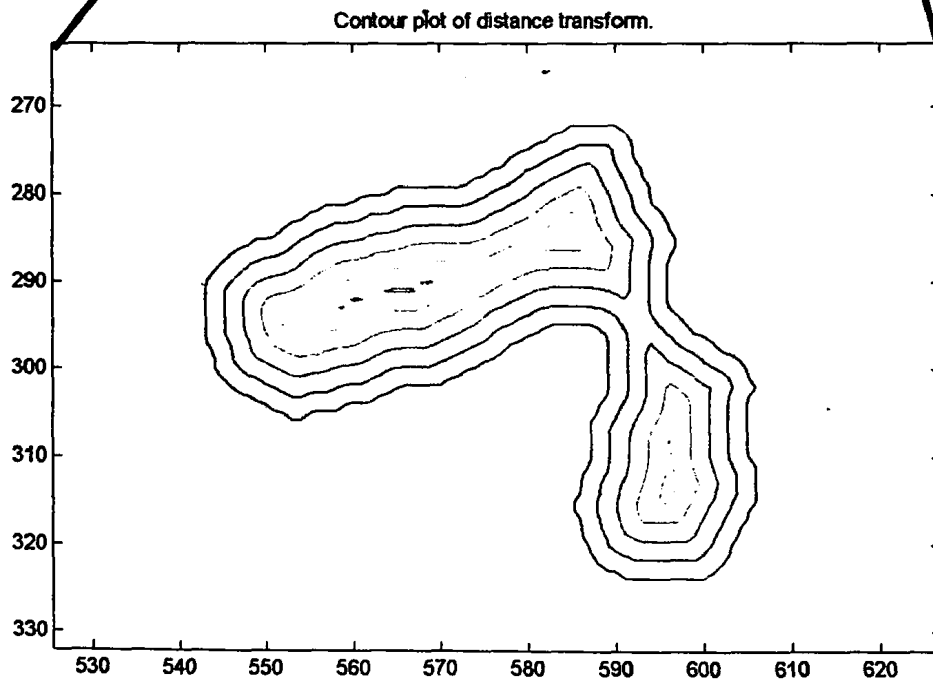


Εικόνα 18: Μετασχηματισμός απόστασης της συμπληρωματικής εικόνας 10.



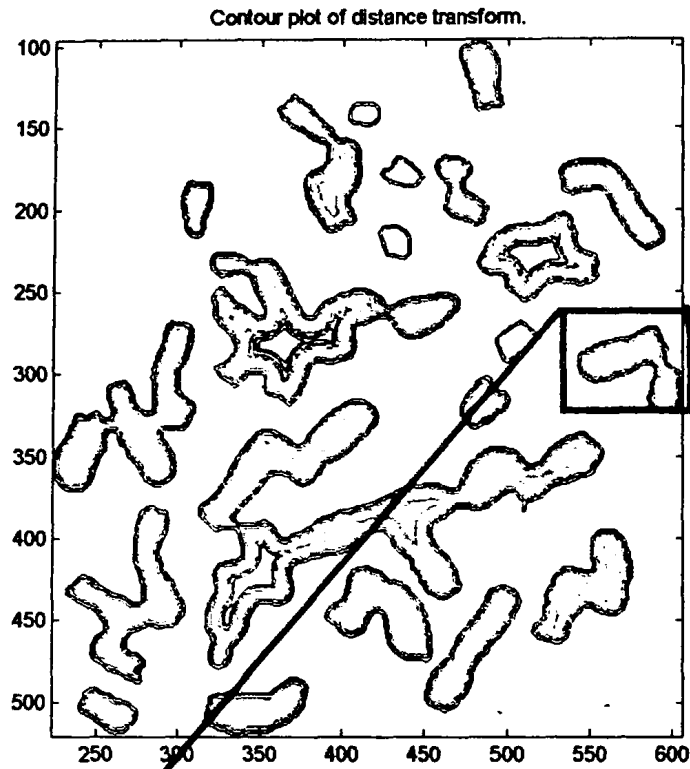


Εικόνα 19: Ισοψής καμπύλες του μετασχηματισμού απόστασης.

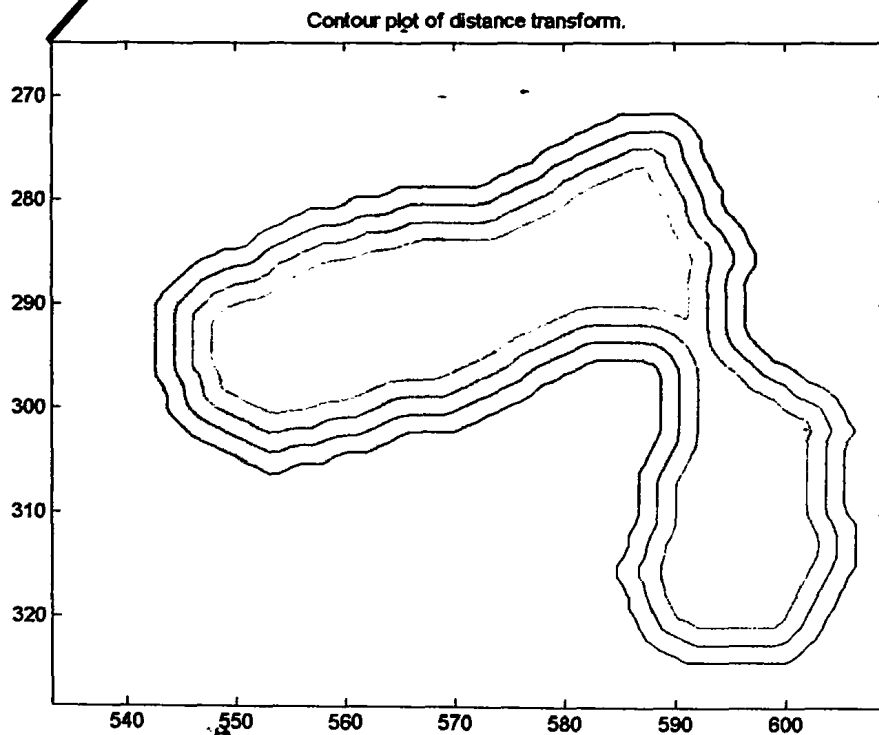


Εικόνα 20: Μεγέθυνση ισοψών καμπύλων του μετασχηματισμού απόστασης



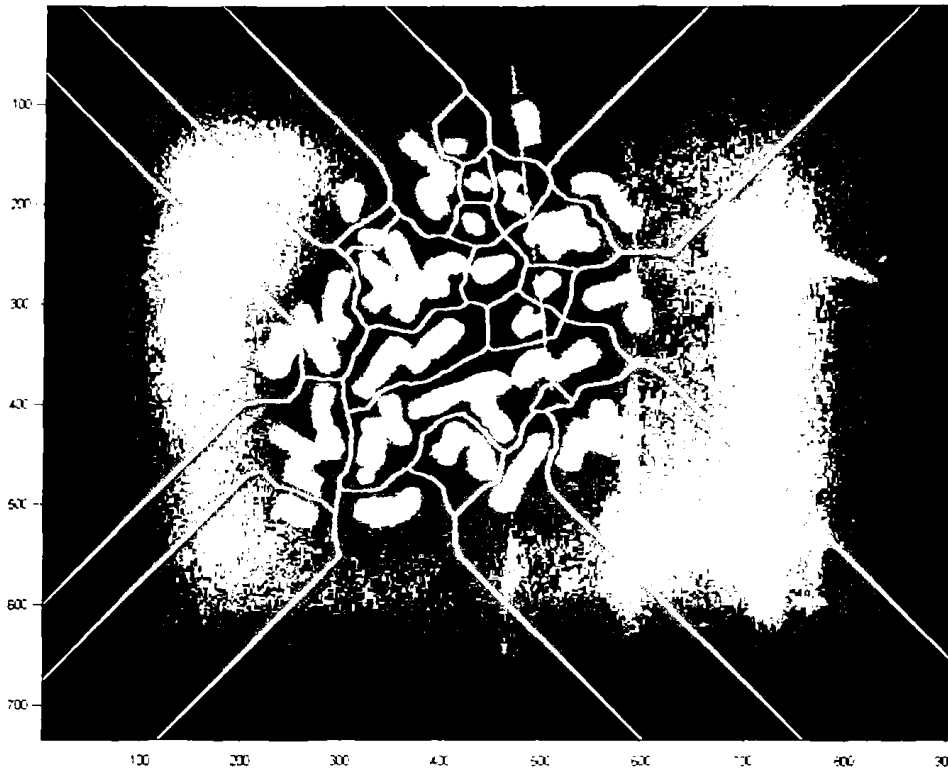


Εικόνα 21: Ισοψής καμπύλες του μορφολογικά ανακατασκευασμένου μετασχηματισμού απόστασης,  $h=4$ .



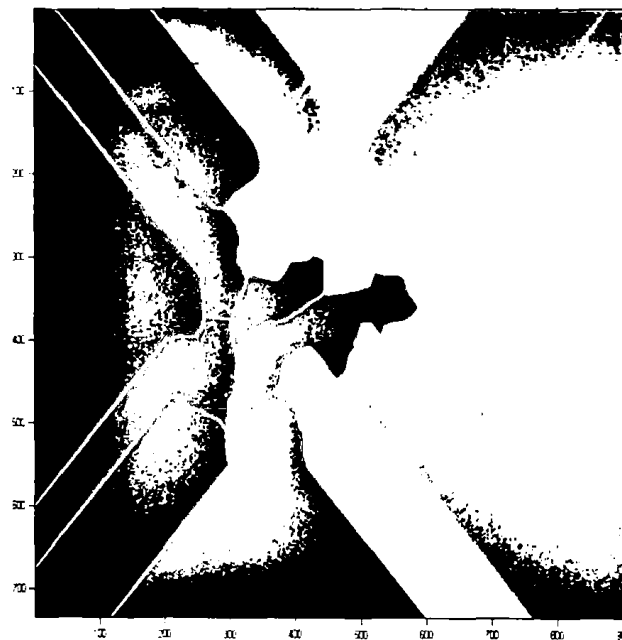
Εικόνα 22: Μεγέθυνση ισοψών καμπύλων του μορφολογικά ανακατασκευασμένου μετασχηματισμού απόστασης.

Ένα παράδειγμα εφαρμογής του μετασχηματισμού *watershed* για το μορφοανακατασκευασμένο μετασχηματισμό απόστασης παρουσιάζουμε στην εικόνα 23.



Εικόνα 23: Παράδειγμα εφαρμογής του μετασχηματισμού *watershed*.

Αποτέλεσμα της εφαρμογής του μετασχηματισμού *watershed* είναι ότι προκύπτει μια εικόνα όπου κάθε περιοχή *watershed* έχει μια μοναδική ετικέτα και μια ειδική ετικέτα προκύπτει για κάθε γραμμή που ανήκει στο μετασχηματισμό *watershed* (Εικόνα 24), όπου έχουμε χρωματίσει με διαφορετικό χρώμα κάθε περιοχή *watershed*.



Εικόνα 24: Χρωματική απεικόνιση των κατατμημένων περιοχών ενδιαφέροντος του μετασχηματισμού *Watershed*.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Όπως παρατηρούμε δεν έχουν καταταμηθεί ακόμη σωστά οι περιοχές ενδιαφέροντος που είναι οι περιοχές χρωμοσωμάτων. Για το λόγο αυτό εφαρμόσαμε τον ακόλουθο αλγόριθμο στην δυαδική εικόνα 10.

---

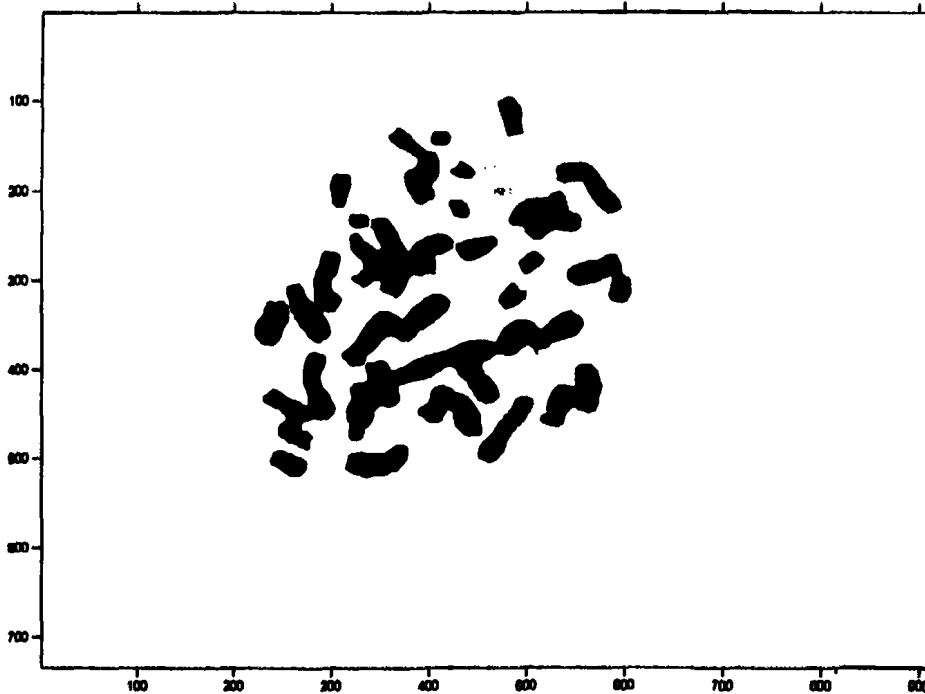
Αλγόριθμος 4.1: Υπολογισμός νέας δυαδική εικόνας χρησιμοποιώντας το μετασχηματισμό Watershed.

---

```
1. procedure New_Binary
2. INPUT: BA Binary Image, Label Labeled array of watershed transform
3. OUTPUT: BA new binary image
4. for each  $p \in BA$  do
5.     if Label[p] = WSHED_LINE then
6.         Binary_Image[p] ← 0; (* Points belonging to watershed line make
                                them background to binary image *)
```

---

Το αποτέλεσμα του αλγορίθμου 4.1 παρουσιάζεται στην εικόνα 25 όπου κάθε περιοχή R που έχει καταταμηθεί απεικονίζεται με διαφορετικό χρώμα.



Εικόνα 25: Αποτέλεσμα του αλγορίθμου 4.1.

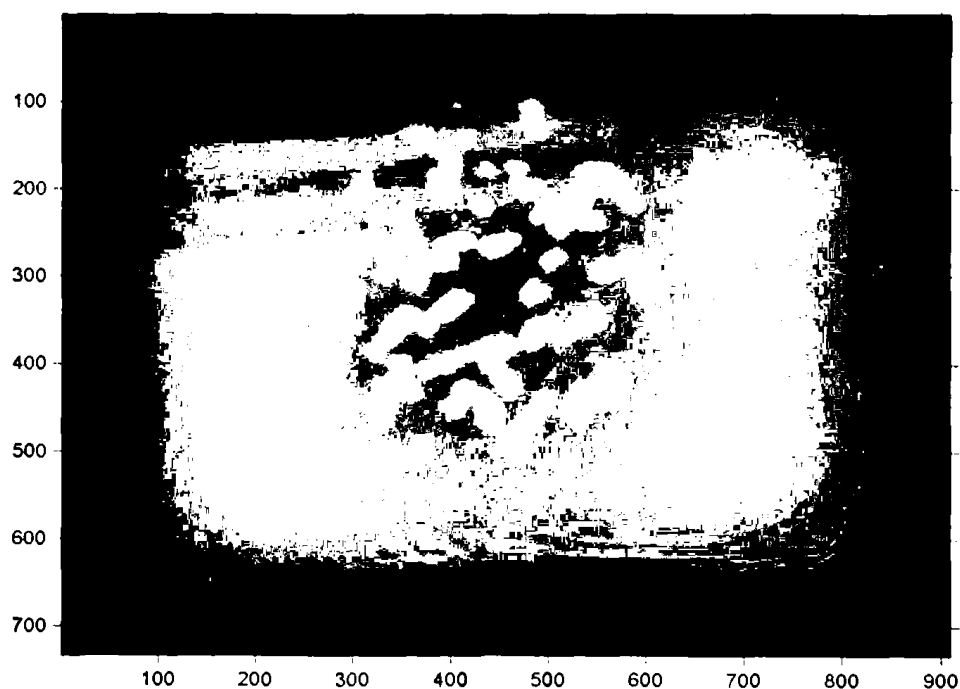
Η υλοποίηση αυτή έδωσε καλά αποτελέσματα σε εικόνες που τα χρωμοσώματα ακουμπούσαν λίγο το ένα το άλλο ενώ σε εικόνες όπου τα χρωμοσώματα ακουμπούσαν αρκετά έδωσε μη ικανοποιητικά αποτελέσματα.

## 4.7. ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED

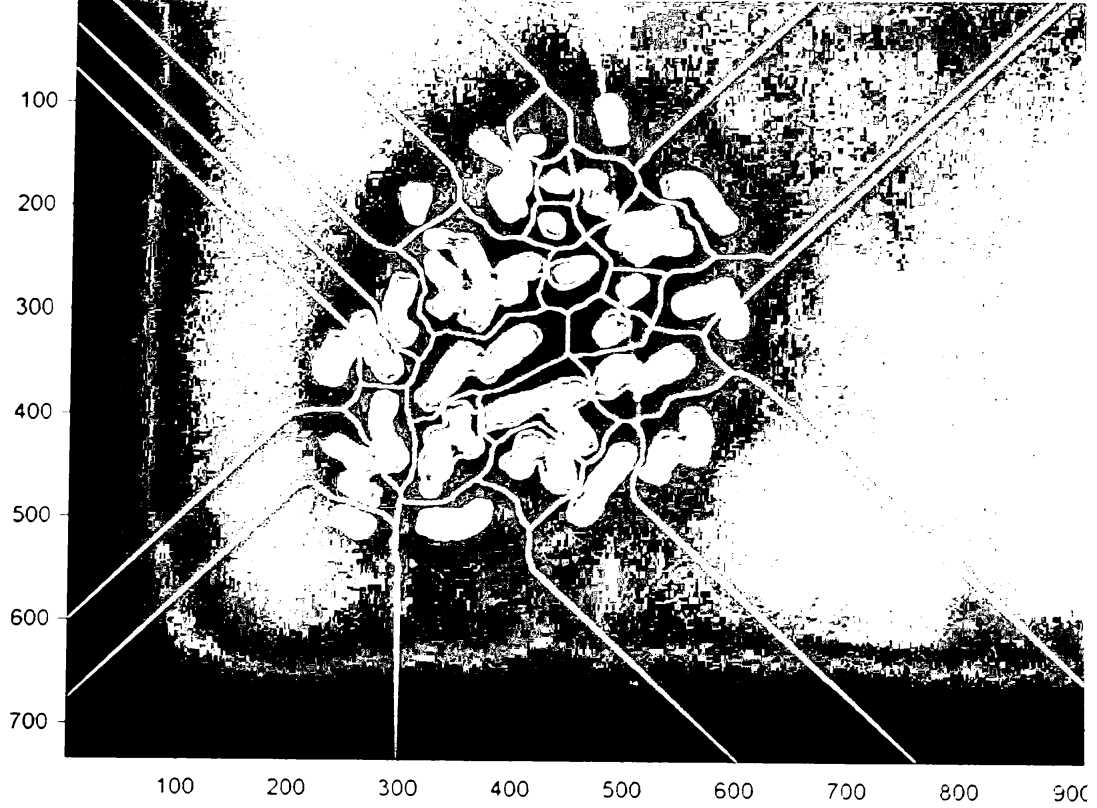
Ουσιαστικά η μεθοδολογία που προτείνουμε είναι η εξαντλητική χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* σε κάθε περιοχή. Με άλλα λόγια προτείνουμε μια νέα τεχνική διαίρεσης περιοχών (*Region-Splitting*) για το μετασχηματισμό *Watershed*, αντίθετα με τεχνικές συνένωσης περιοχών (*Region-Merging*) που έχουν ήδη προταθεί για το μετασχηματισμό αυτό, [43, 52]. Η προτεινόμενη μεθοδολογία δεν χρησιμοποιεί καμία επιπλέον τεχνική ή παράμετρο από αυτές που έχουν ήδη παρουσιαστεί παρά μόνο επαναληπτικά τα βήματα της μεθοδολογίας σε κάθε περιοχή (Εικόνα 1). Ο τερματισμός του αλγορίθμου συμβαίνει μόνο όταν η εφαρμογή της μεθόδου δεν έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων περιοχών.

Στις μεθόδους συνένωσης περιοχών του μετασχηματισμού *watershed* πρέπει να οριστεί μια συνάρτηση μη-ομοιότητας περιοχών [43] (*Dissimilarity Function*) η οποία εκφράζει την ανομοιογένεια μεταξύ των περιοχών *watershed* και η οποία πρέπει να ελαχιστοποιηθεί. Η μέθοδος μας δεν απαιτεί κανένα τέτοιο ορισμό.

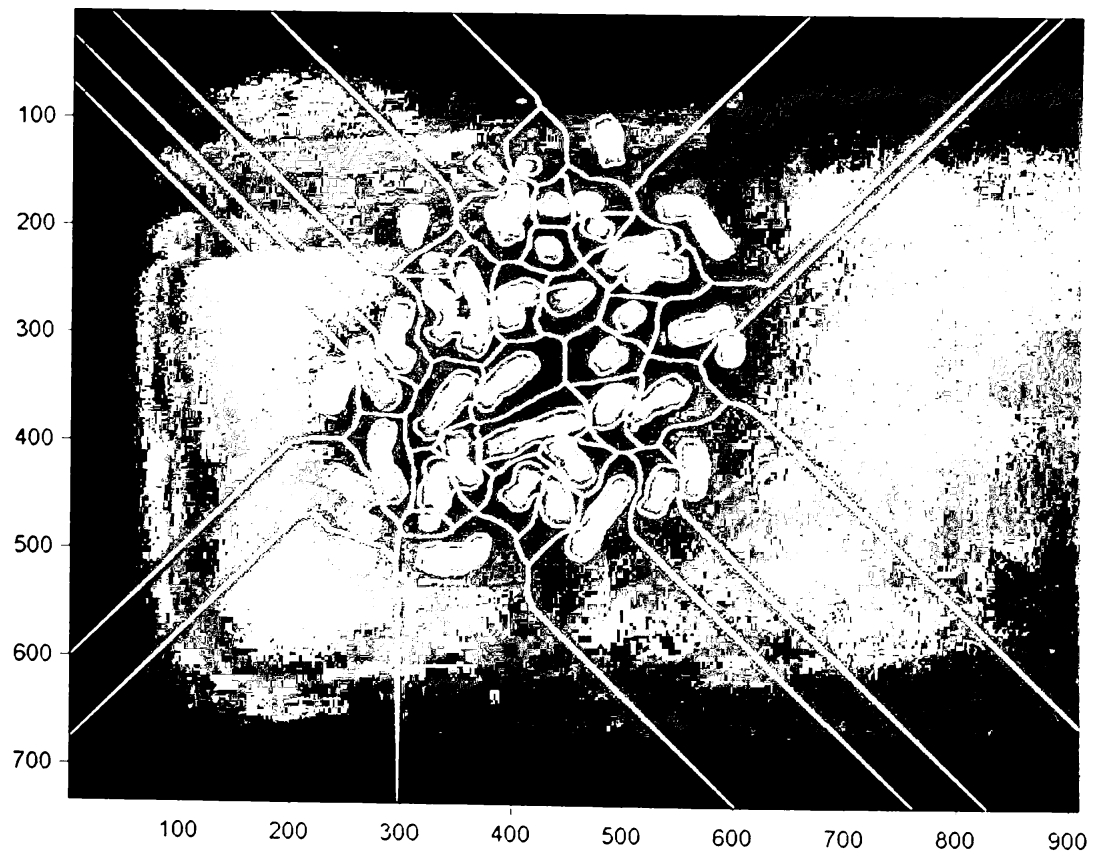
Έτσι εφαρμόζουμε αρχικά τον μετασχηματισμό *watershed* με αποτέλεσμα να πάρουμε μια αρχική εκτίμηση των περιοχών ενδιαφέροντος (χρωμοσώματα). Μια περιοχή ενδιαφέροντος μπορεί να περιέχει παραπάνω από ένα χρωμόσωμα. Για το λόγο αυτό εφαρμόζουμε τα βήματα της μεθόδου μας εξαντλητικά για κάθε μια περιοχή ενδιαφέροντος αφού πρώτα έχει εφαρμοστεί στην περιοχή αυτή τοπική ισοστάθμιση ιστογράμματος. Ο αλγόριθμος σταματά όταν δεν προκύπτουν καινούργιες περιοχές ενδιαφέροντος. Ένα παράδειγμα επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *watershed* παρουσιάζεται στις Εικόνες 26-28.



Εικόνα 26: Αρχική εικόνα.



Εικόνα 27: Αρχική εκτίμηση περιοχών ενδιαφέροντος με χρήση του μετασχηματισμού Watershed.



Εικόνα 28: Τελική εικόνα όπως αυτή παράγεται από τη χρήση του επαναληπτικού μετασχηματισμού Watershed.



4.8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ

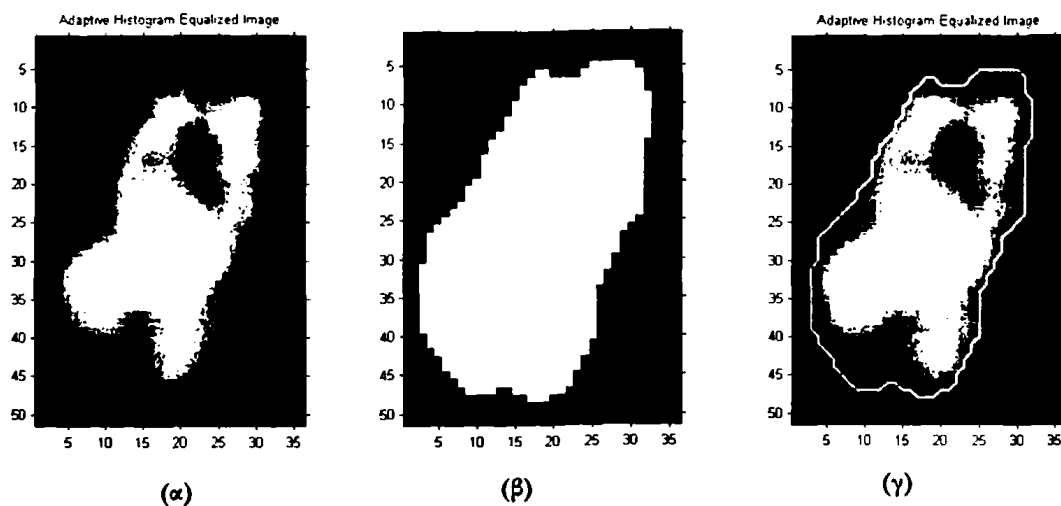
Η παραπάνω διαδικασία (Εικόνα 1) εφαρμόζεται επαναληπτικά μέχρι ο αριθμός των περιοχών να παραμένει σταθερός. Αν και καταφέραμε να επιτύχουμε κατάτμηση αρκετών χρωμοσωμάτων υπήρχαν ακόμη χρωμοσώματα τα οποία εφάπτονταν το ένα στο άλλο. Για το λόγο αυτό κρίναμε σκόπιμο να υλοποιήσουμε την μέθοδο υπολογισμού μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας [12] για την κατάτμηση όσο το δυνατόν περισσότερων χρωμοσωμάτων.

Η διαφορά με την εργασία αυτή είναι ότι δεν εφαρμόσαμε την διαδικασία που περιγράφεται στην αρχική εικόνα αλλά σε κάθε περιοχή που προκύπτει από την εφαρμογή των παραπάνω βημάτων του αλγορίθμου που προτείνουμε. Ο αλγόριθμος που περιγράφεται από την [12] αν και αναφέρετε ότι επιτυγχάνει μεγάλο ποσοστό επιτυχίας ~95% κατά την υλοποίηση και εφαρμογή του στις εικόνες μας δεν απέδωσε τα αποτελέσματα αυτά και αυτό γιατί παρατηρήσαμε ότι είναι μια μέθοδος με πάρα πολλές παραμέτρους οι οποίες είναι δύσκολο να βελτιστοποιηθούν ώστε να αποδώσουν το μέγιστο ποσοστό κατάτμησης.

Από εδώ και πέρα θα αναφέρουμε ως αντικείμενο κάθε περιοχή που έχει προκύψει από τη διαδικασία *watershed*. Παρακάτω θα περιγράψουμε αναλυτικά τα βήματα της μεθόδου που εφαρμόσαμε σε κάθε περιοχή κατάτμησης. Αρχικά μετατρέπουμε κάθε περιοχή σε δυαδική με τη μέθοδο OTSU. Αποτέλεσμα αυτού είναι η δημιουργία δύο περιοχών μιας του υποβάθρου  $R_0$  και μιας της περιοχής ενδιαφέροντος  $R_1$ . Στην συνέχεια εξάγουμε το περίγραμμα κάθε περιοχής ενδιαφέροντος με τη βοήθεια του ακόλουθου ορισμού:

$$b(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{αν } \left\{ \begin{array}{l} (g(x, y) \in R_1 \text{ και } g(x, y-1) \in R_0) \\ \text{ή } (g(x, y) \in R_1 \text{ και } g(x-1, y) \in R_0) \end{array} \right\} \\ 0, & \text{διαφορετικά} \end{cases} \quad (4.11)$$

Αποτέλεσμα της εξαγωγής περιγράμματος από τη δυαδική εικόνα φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 29: (α) Αρχική Εικόνα. (β) Δυαδική Εικόνα. (γ) Εντοπισμός περιγράμματος αντικειμένου.



Η εύρεση ενός σημείου κοπής βασίζεται στην επεξεργασία της περιοχής που αναγνωρίζουμε από τη μετατροπή της εικόνας σε δυαδική, όπως είδαμε είναι σημεία υψηλής κυρτότητας, έτσι ανα έξι σημεία  $P_k$  αντικείμενου εξετάζουμε την γωνία που σχηματίζουν τα σημεία:

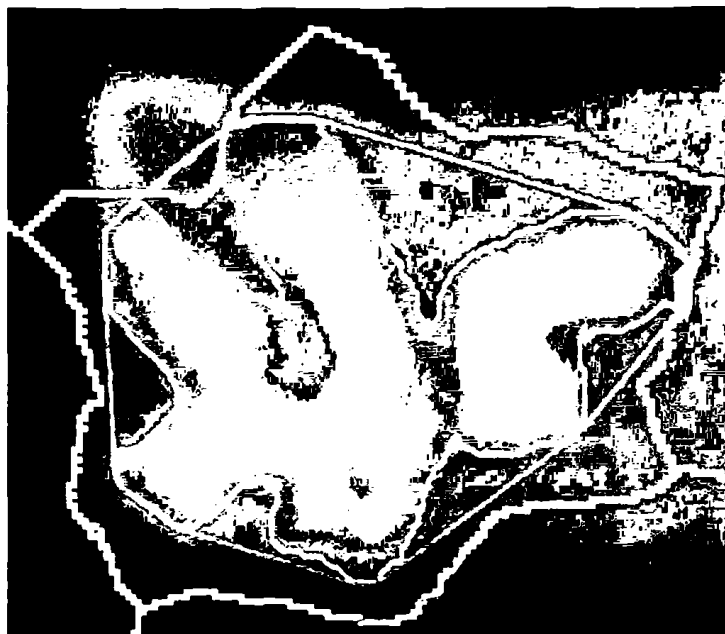
$$A = \angle P_{k-6} P_k P_{k+6},$$

όπου  $p$  σημείο του περιγράμματος.

Όταν αυτή η γωνία ξεπερνά ένα συγκεκριμένο όριο ( $120^\circ$ ) τότε έχουμε εντοπίσει ένα σημείο κοπής. Τέλος κατασκευάζουμε μια λίστα τα για κάθε αντικείμενο. Αν υπάρχει ένα γκρουπ από γειτονικά σημεία : επιλέγουμε το μεσαίο και διαγράφουμε τα υπόλοιπα από την λίστα. Τα παρ καλλύτερα στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 30: Εύρεση σημείων υψηλής κυρτότητας κατά μήκος του περιγράμματος.

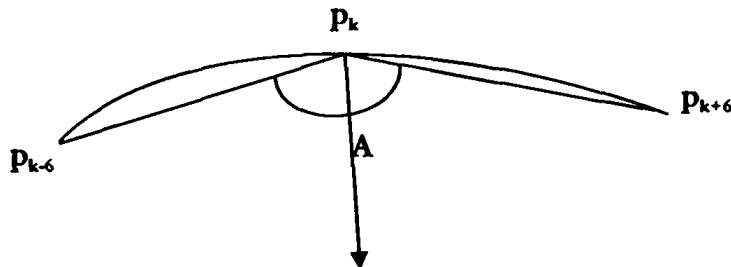


Εικόνα 31: Διαγραφή διαδοχικών σημείων υψηλής κυρτότητας.



Αφού υπολογίσαμε τα σημεία υψηλής κυρτότητας μένει να υπολογίσουμε τα μονοπάτια χαμηλής φωτεινότητας (*pale paths*) τα οποία ξεκινούν από τα σημεία που υπολογίσαμε προηγουμένως. Γενικά ο υπολογισμός των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας περιγράφεται από τα ακόλουθα βήματα:

*Κατεύθυνση:* Αρχικά η κατεύθυνση του μονοπατιού είναι της διχοτόμου της γωνίας στο αρχικό σημείο, (Εικόνα 32).



Εικόνα 32: Διχοτόμος της γωνίας A.

Στην εικόνα 33 παρουσιάζονται οι διχοτόμοι (Κόκκινη ευθεία) για κάθε ένα σημείο τομής και η κάθετη σε κάθε μια διχοτόμο (μπλε ευθεία).



Εικόνα 33: Εύρεση διχοτόμου για κάθε ένα σημείο τομής.

Αν υποθέσουμε ότι έχουμε εντοπίσει το μονοπάτι μέχρι κάποιο σημείο X τότε η εύρεση ενός νέου σημείου γίνεται ως εξής: Διαλέγουμε από τα οκτώ γειτονικά σημεία του σημείου X, τα σημεία που είναι πάνω από την κάθετη στην τρέχουσα κατεύθυνση. Από αυτά τα σημεία επιλέγουμε ως νέο σημείο με βάση το παρακάτω κριτήριο.

**Κριτήριο Φωτεινότητας:**

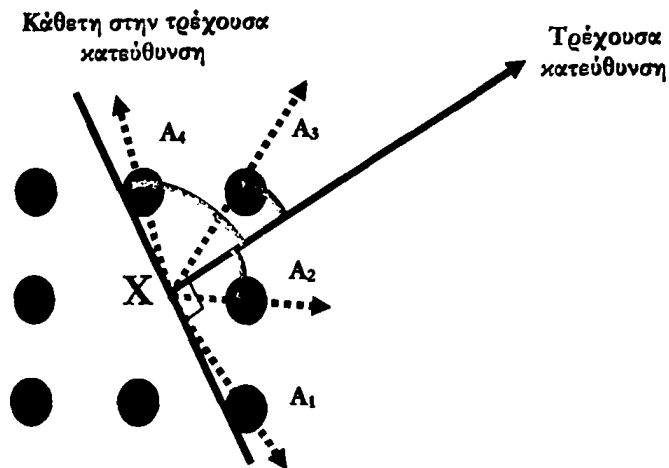
Για τα εικονοστοιχεία αυτά ( $A_i$ ) αντικατέστησε τη φωτεινότητά καθενός από αυτά με την μέση φωτεινότητα των 8 γειτόνων του, Εικόνα 34. Επέλεξε αυτό με τη μικρότερη τιμή:

$$V_i = I_{neighborhood(i)} * W_i$$

$I_{neighborhood(i)}$ : η μέση φωτεινότητα των 8 γειτόνων του i εικονοστοιχείου,

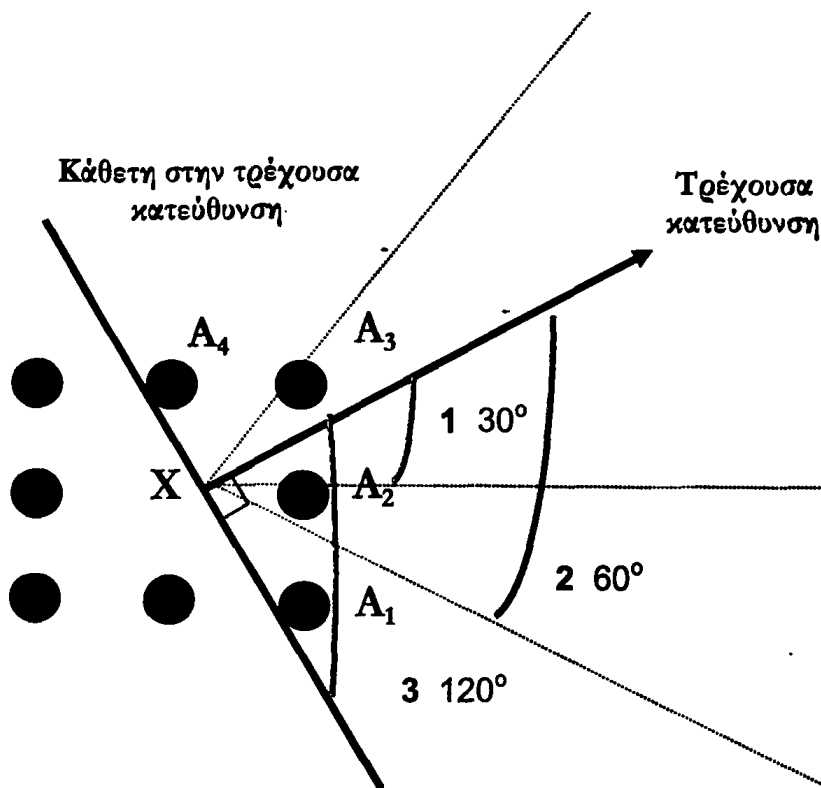


$W_i$ : βάρος, μικρότερο βάρος για εικονοστοιχεία που



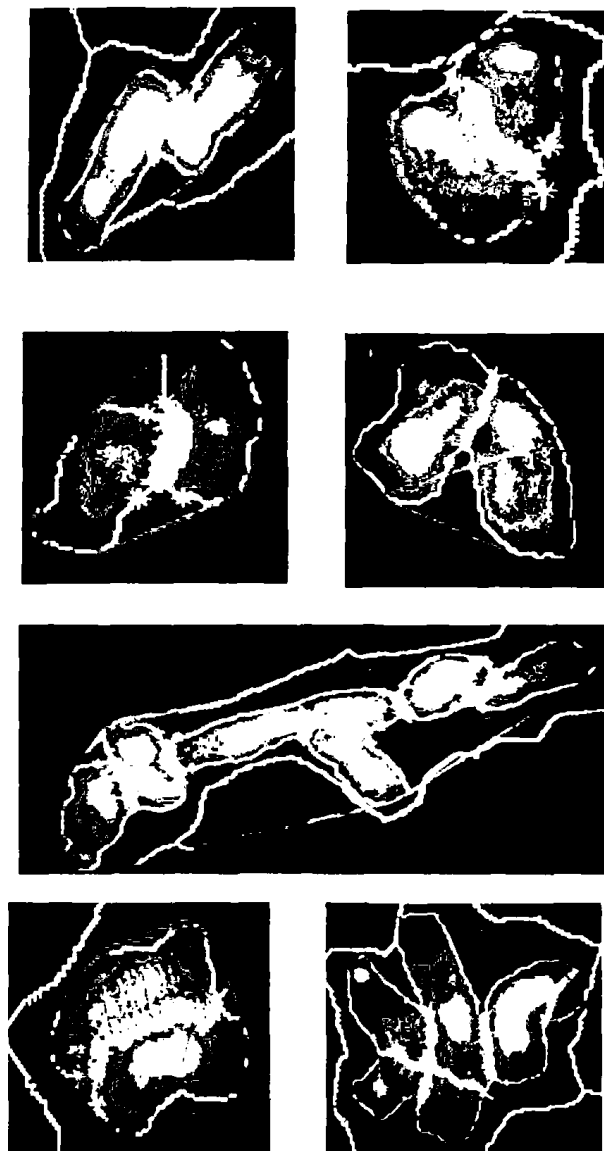
Εικόνα 34 : Το εικονοστοιχείο  $A_3$  σχηματίζει την μικρότερη γωνία με την τρέχουσα κατεύθυνση και θα έχει το μικρότερο βάρος.

Για τα βάρη κάθε εικονοστοιχείου ακολουθήσαμε την ακόλουθη μεθοδολογία: θεωρούμε ότι όσο πιο μακριά είναι ένα σημείο από την τρέχουσα κατεύθυνση τόσο μεγαλύτερο πρέπει να είναι το βάρος του. Για το λόγο αυτό χωρίσαμε το ημιεπίπεδο που βρίσκεται μπροστά από το τρέχον σημείο X σε έξι ίσα μέρη. Κάθε μέρος έχει το δικό του βάρος  $w_A = i * (3/9)$ , όπου  $i$  το μέρος που ανήκει το εικονοστοιχείο A, όπως φαίνεται στην εικόνα 35.



Εικόνα 35: Χωρισμός του ημιεπίπεδου σε έξι ίσα μέρη, τρία σε κάθε τεταρτημόριο.

Θεωρούμε ότι ένα μονοπάτι έχει βρεθεί όταν κάποιο σημείο του μονοπατιού φτάσει στο σύνορο του αντικειμένου. Παραδείγματα εύρεσης μονοπατιών παρουσιάζουμε παρακάτω, Εικόνα 36.



Εικόνα 36: Υπολογισμός μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.

Κατά τον υπολογισμό των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας παρατηρήσαμε ότι δύο ή και περισσότερα μονοπάτια μπορεί να ενώνονται για το λόγο αυτό θεωρήσαμε σωστό ότι θα πρέπει να τα ενώσουμε. Έτσι για κάθε μονοπάτι αποθηκεύαμε σε ένα πίνακα το σύνολο των σημείων των μονοπατιών. Στη συνέχεια εξετάζουμε ανά δύο όλα τα μονοπάτια αν υπάρχει κάποιο κοινό σημείο. Αν υπάρχει τότε θεωρούμε ότι τα δύο μονοπάτια τέμνονται και θα πρέπει να τα ενώσουμε. Ο ψευδοκώδικας που υλοποιήσαμε για την ένωση δύο μονοπατιών παρουσιάζεται παρακάτω.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

**procedure** Connect-Paths

INPUT: P array of n paths,

OUTPUT: Pnew new array of paths,

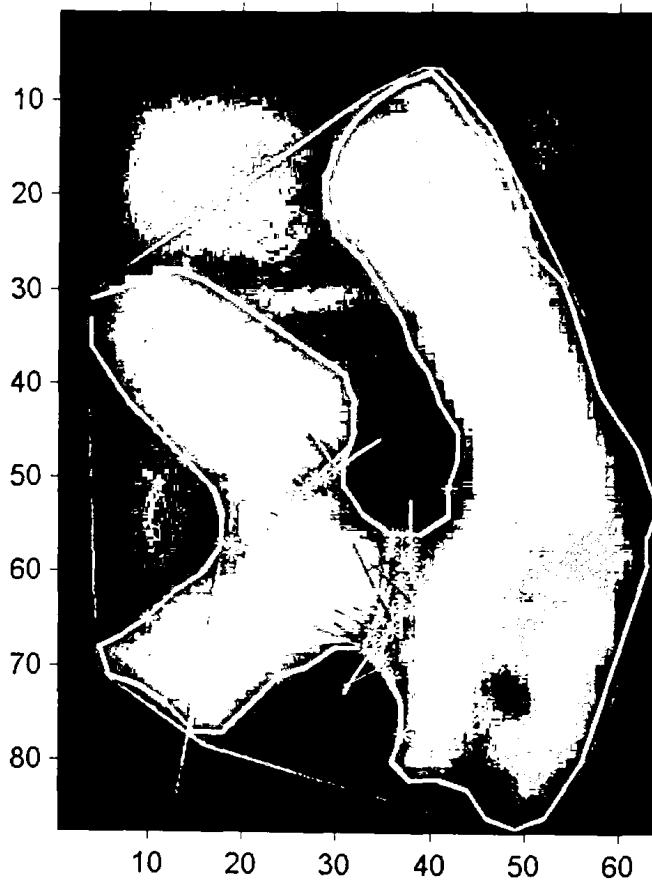
Inter: array of intersection between every two paths, set to zero

```

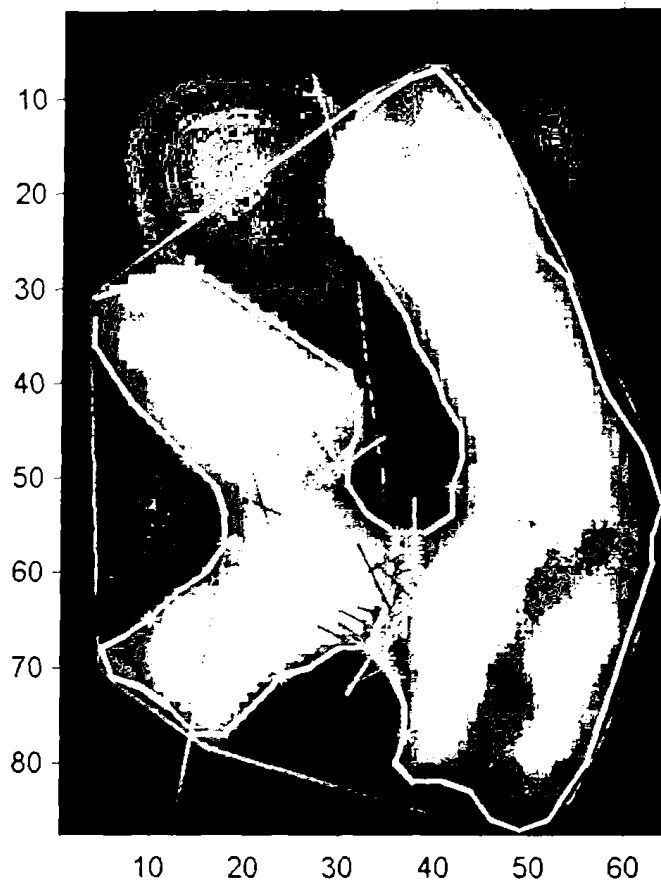
1.   for i=1:n do
2.       for j=1:n do
3.           if  $i \neq j$  and  $Inter[i,j] \neq 1$  then
4.                $n1 \leftarrow size(P[i]);$  (* size of path i *)
5.                $n2 \leftarrow size(P[j]);$  (* size of path j *)
6.               for k=1:n1 do
7.                   for l=1:n2 do
8.                       if  $p[i,k] = p[j,l]$  then
9.                           for m=1:k do
10.                              Pnew[np,m]=P[i,m];
11.                          end
12.                          for t=1:l do
13.                              Pnew[np,m+t]=P[j,m];
14.                          end
15.                          Inter[i,j]=1; np = np + 1;
16.                      end
17.                  end
18.              end
19.          end

```

Παράδειγμα ένωσης δύο μονοπατιών παρουσιάζεται στην εικόνα 37.



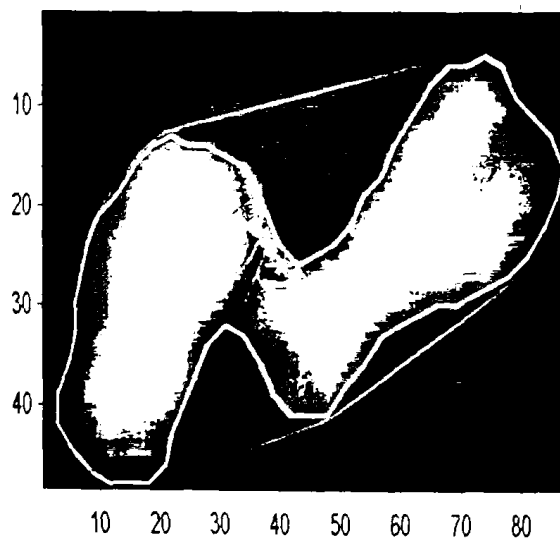
(α)



(β)

Εικόνα 37: (α) Δύο μονοπάτια που τέμνονται. (β) Ένωση δύο μονοπατιών.

Παρατηρήσαμε ότι σε αρκετά χρωμοσώματα το μονοπάτι δημιουργούσε ένα πολύ μικρό αντικείμενο (Εικόνα 38).



Εικόνα 38: Ελλίπες μονοπάτι.



#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για το λόγο αυτό ακολουθήσαμε την ακόλουθη μεθοδολογία: Αφού υπολογίζαμε το μονοπάτι χαμηλής φωτεινότητας υπολογίζαμε τα δύο αντικείμενα που προέκυπταν από τη δυαδική εικόνα. Για κάθε ένα από αυτά υπολογίζαμε την περιμέτρό του και εφαρμόσαμε τον ακόλουθο κανόνα. Αν ο λόγος της περιμέτρου του μεγαλύτερου προς το μικρότερο αντικείμενο δεν ξεπερνούσε ένα όριο τότε θεωρούσαμε ότι το μονοπάτι έπρεπε να το απορρίψουμε. Το όριο υπολογίστηκε ως το  $1/5$  του λόγου του μεγαλύτερου προς το μικρότερο χρωμόσωμα Ένα παράδειγμα απόρριψης μονοπατιού χαμηλής φωτεινότητας είδαμε στην Εικόνα 37.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

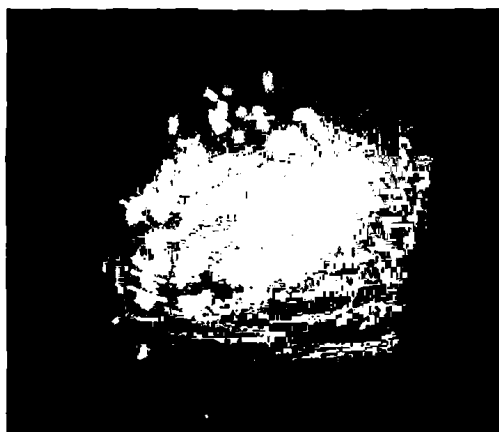
### 5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρχικά παρουσιάζεται η βάση δεδομένων με αναγνωρισμένες εικόνες που δημιουργήθηκε για τον σκοπό της παρούσας εργασίας. Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζουμε αναλυτικά τα αποτελέσματα κάθε μεθόδου που υλοποιήθηκε:

- Εκτίμηση πλήθους χρωμοσωμάτων που εφάπτονται με χρήση της μεθόδου Otsu.
- Μέθοδος Υπολογισμού Μονοπατιών Χαμηλής Φωτεινότητας.
- Απλή χρήση του μετασχηματισμού *watershed* και επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού.
- Χρήση επαναληπτικού μετασχηματισμού *watershed* και επιπρόσθετης εφαρμογής της μεθόδου υπολογισμού μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.
- Σύγκριση αποτελεσμάτων της προτεινομένης μεθόδου μας με μεθόδους που αναπτύχθηκαν στη βιβλιογραφία.

### 5.2 ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Για να αξιολογήσουμε τη μεθοδολογία μας χρησιμοποιήθηκαν 22 εικόνες που παρήχθησαν από το Βιολογικό Εργαστήριο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Για όλες τις εικόνες η υπεύθυνη βιολόγος, επίκουρη καθηγήτρια κα. Μαρίκα Σύρρου, εντόπισε όλα τα χρωμοσώματα που εφάπτονταν το ένα με το άλλο καθώς επίσης και το πλήθος των χρωμοσωμάτων ανά εικόνα.



Εικόνα 1: (α) Εικόνα πάνω στην οποία η κυτταρογενετιστής σημειώνει τα εφάπτομενα χρωμοσώματα. (β) Εικόνα πάνω στην οποία η κυτταρογενετιστής σημειώνει τον αριθμό του χρωμοσώματος.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

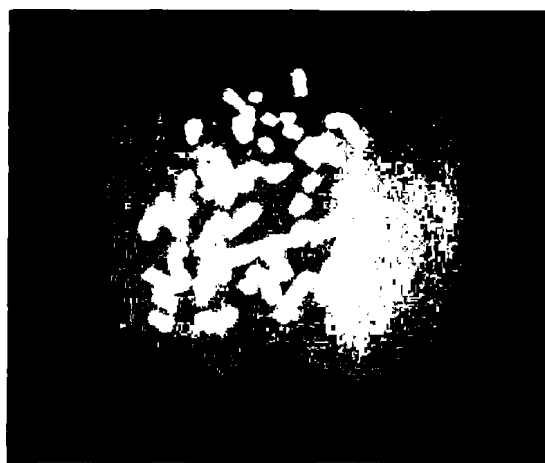
Ο εντοπισμός από βιολόγο κρίθηκε αναγκαίος γιατί υπάρχουν περιπτώσεις χρωμοσωματικών ανωμαλιών (έλλειψη χρωμοσώματος) ή χρωμοσωμάτων που εφάπτονται τόσο πολύ που παρουσιάζονται σαν ένα χρωμόσωμα. Χρησιμοποιήθηκαν τόσο εικόνες που παρήχθησαν με C-banding (Εικόνα 2(α)) τεχνική όσο και DAPI με pancentromeric probe (Εικόνα 2(β)). Το σύνολο των εικόνων για τις δύο τύπους εικόνων δίνεται στον Πίνακα 1.

Τύπος Εικόνας	Πλήθος Εικόνων
DAPI με pancentromeric probe	13
C-banding	9
Σύνολο Εικόνων	22

Πίνακας 1: Τύποι εικόνων και το πλήθος τους.



(α)



(β)

Εικόνα 2: (α) Εικόνα μορφής C-Banding. (β) Εικόνα μορφής DAPI με pancentromeric probe.

Στον Πίνακα 2 (Σχήμα 1) δίνεται το πλήθος των χρωμοσωμάτων που περιείχαν συνολικά οι εικόνες καθώς επίσης και το πλήθος των χρωμοσωμάτων που εφάπτονταν το ένα το άλλο αλλά και το πλήθος των χρωμοσωμάτων που επικαλύπτουν το ένα το άλλο. Η ίδια πληροφορία δίνεται και στο Σχήμα 1.



Σχήμα 1: Πλήθος χρωμοσωμάτων: Εχωριστών, Εφαπτόμενων, Επικαλυπτόμενων.



	Πλήθος	Ποσοστό (%)
Πλήθος Ξεχωριστών Χρωμοσωμάτων	515	55%
Πλήθος Εφαπτόμενων Χρωμοσωμάτων	396	42%
Πλήθος Επικαλυπτόμενων Χρωμοσωμάτων	29	3%
<b>Συνολικό Πλήθος Χρωμοσωμάτων</b>	<b>940</b>	<b>100%</b>

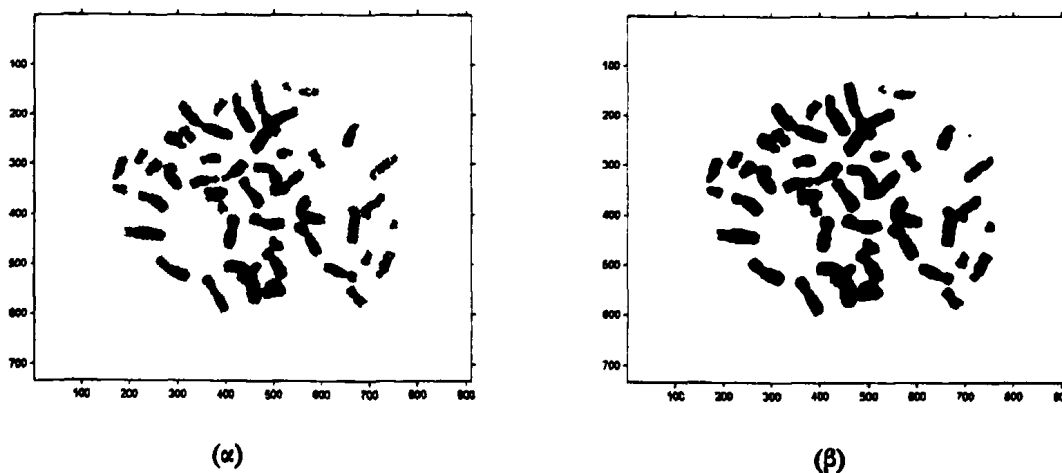
Πίνακας 2: Πλήθος χρωμοσωμάτων για το σύνολο των εικόνων.

Από τον Πίνακα 2 παρατηρούμε ότι το σύνολο των επικαλυπτόμενων χρωμοσωμάτων είναι αρκετά μικρό, πράγμα που έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μεθόδους [12]. Αντίθετα η περίπτωση των χρωμοσωμάτων που ακουμπούν το ένα το άλλο αποτελεί σχεδόν το μισό των περιπτώσεων για το σύνολο των εικόνων μας. Παρατηρούμε δηλαδή ότι η περίπτωση των χρωμοσωμάτων που εφάπτονταν το ένα στο άλλο αποτελεί την κυρίαρχη περίπτωση για το σύνολο των εικόνων.

### 5.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΛΗΘΟΥΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΕΦΑΠΤΟΝΤΑΙ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ OTSU

Όπως είδαμε στο προηγούμενο κεφάλαιο η μέθοδος Otsu είναι μια μέθοδος η οποία επιλέγει αυτόματα ένα κατώφλι για την μετατροπή της εικόνας σε δυαδική. Η μέθοδος αυτή σχεδόν για όλες τις εικόνες μας λειτούργησε αρκετά καλά αναγνωρίζοντας σε ικανοποιητικό ποσοστό τις περιπτώσεις των ξεχωριστών χρωμοσωμάτων (*individual chromosomes*).

Ωστόσο, η μέθοδος Otsu μας βοήθησε για να εκτιμήσουμε τον αριθμό των χρωμοσωμάτων που εφάπτονταν το ένα στο άλλο, Πίνακας 2. Στην παρακάτω εικόνα δίνουμε ένα παράδειγμα όπου η μέθοδος Otsu δεν αναγνωρίζει ένα χρωμόσωμα.



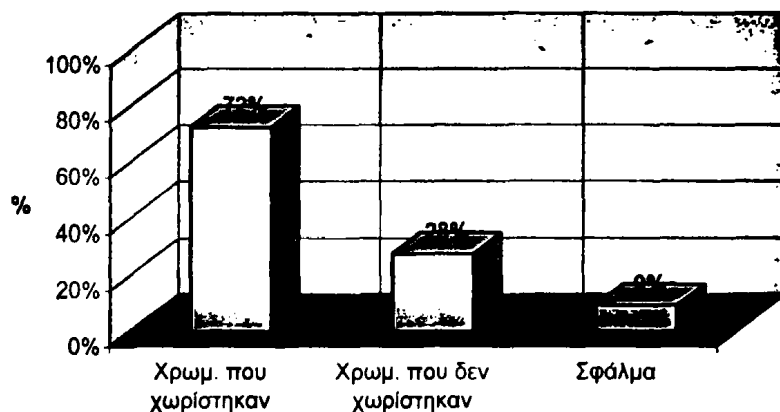
Εικόνα 1: (α) Αρχική εικόνα. (β) Δυαδική εικόνα, λάθος εντοπισμός χρωμοσώματος.

**5.4 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΥΡΕΣΗΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑ**

Αρχικά εφαρμόσαμε τη μεθοδολογία της εύρεσης των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας σε όλη την αρχική εικόνα [12]. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου παρατηρήσαμε ότι το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου κυμαινόταν σε αρκετά χαμηλό επίπεδο ~72% για τις περιπτώσεις χρωμοσωμάτων που εφάπτονταν το ένα το άλλο. Το ποσοστό αυτό είναι αρκετά χαμηλό σε σχέση με αυτό που παρατηρήθηκε από την προτεινόμενη μεθοδολογία [12], ~91% και μπορεί να εξηγηθεί ως ακολούθως:

- Η μέθοδος περιλαμβάνει ένα ευρύ σύνολο παραμέτρων των οποίων οι βέλτιστες τιμές πρέπει να βρεθούν. Το παραπάνω συμπέρασμα έχει παρατηρηθεί και από τους Bepel et al [16].
- Το σύνολο εικόνων μας περιέχει αρκετά δύσκολες περιπτώσεις χρωμοσωμάτων που εφάπτονται το ένα στο άλλο.

Τα αποτελέσματα της μεθόδου για το σύνολο των εικόνων φαίνονται στον πίνακα 3 και στο Σχήμα 2.



Σχήμα 2: Αποτελέσματα μεθοδολογίας εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.

Μεθοδολογία	Εφαπτόμενα Χρωμ. που Χωρίστηκαν	Εφαπτόμενα Χρωμ. που δεν Χωρίστηκαν	Σφάλμα
Εύρεση Μονοπατιών Χαμηλής Φωτεινότητας	287/396	109/396	87/940
Ποσοστό (%)	72%	28%	9%

Πίνακας 3: Πίνακας αποτελεσμάτων.

**5.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ**

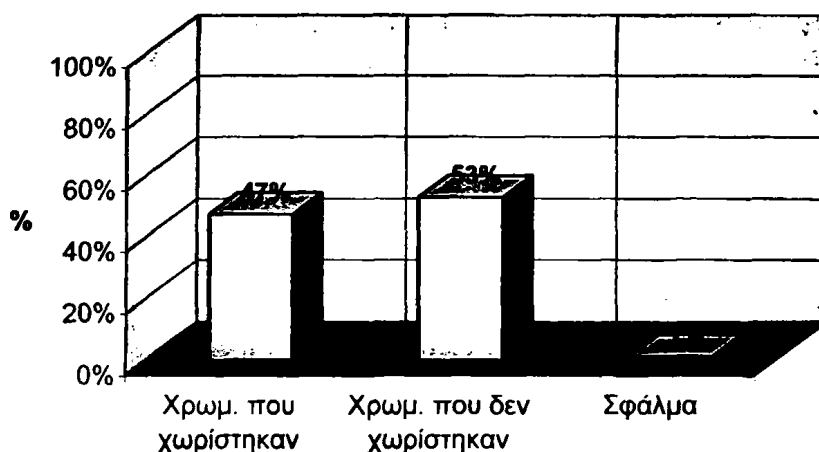
Όπως είδαμε στην προηγούμενη ενότητα η εφαρμογή της μεθοδολογίας της εύρεσης των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας για το διαχωρισμό χρωμοσωμάτων που εφάπτονται το ένα στο άλλο στο σύνολο των εικόνων μας δεν είχε τα αναμενόμενα αποτελέσματα.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αρχικά εφαρμόσαμε τον μετασχηματισμό *Watershed* σε όλες τις εικόνες μας χωρίς όμως την επαναληπτική εφαρμογή του σε κάθε περιοχή *Watershed*. Στον Πίνακα 4 και Σχήμα 3, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εφαρμογής του μετασχηματισμού. Μπορούμε να παρατηρήσουμε το χαμηλό ποσοστό επιτυχίας της μεθοδολογίας αυτής σε σχέση με τη προτεινόμενη μεθοδολογία (Επαναληπτική Χρήση του Μετασχηματισμού *Watershed*).

Το χαμηλό αυτό ποσοστό οφείλεται στον παραμετρικό ορισμό των *markers* της εικόνας, όπως είδαμε στην ενότητα 4.6. Οι *markers* όπως τονίστηκε πρέπει να ορίζουν κάθε αντικείμενο(χρωμόσωμα) της εικόνας. Έτσι στην συγκεκριμένη περίπτωση παρατηρούμε τον ελλιπή ορισμό των χρωμοσωμάτων από τους *markers* που οδηγεί σε χαμηλά ποσοστά την μέθοδο.



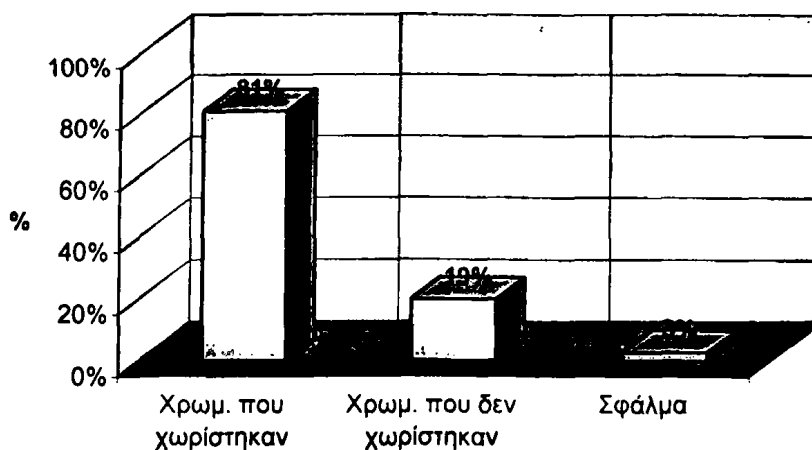
Σχήμα 3: Αποτελέσματα μεθοδολογίας μη επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *Watershed*.

Μεθοδολογία	Εφαπτόμενα Χρωμ. που Χωρίστηκαν	Εφαπτόμενα Χρωμ. που δεν Χωρίστηκαν	Σφάλμα
Watershed μη Επαναληπτικός	187/396	209/396	12/940
Ποσοστό (%)	47%	28%	1%

Πίνακα 4: Πίνακας αποτελεσμάτων μεθοδολογίας μη επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *Watershed*.

Παρακάτω (Σχήμα 4) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εφαρμογής της επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *Watershed*. Μπορούμε να δούμε το σαφώς μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας της συγκεκριμένης μεθοδολογίας από την προηγούμενη μεθοδολογία. Παρατηρούμε επίσης το μικρό ποσοστό σφάλματος της μεθόδου.

Όλα τα παραπάνω οφείλονται στο γεγονός ότι τελικά ο ελλιπής ορισμός των *markers* (που συνέβαινε στην απλή εφαρμογή του μετασχηματισμού *Watershed*) παρακάμπτεται από την επαναληπτική χρήση του μετασχηματισμού.

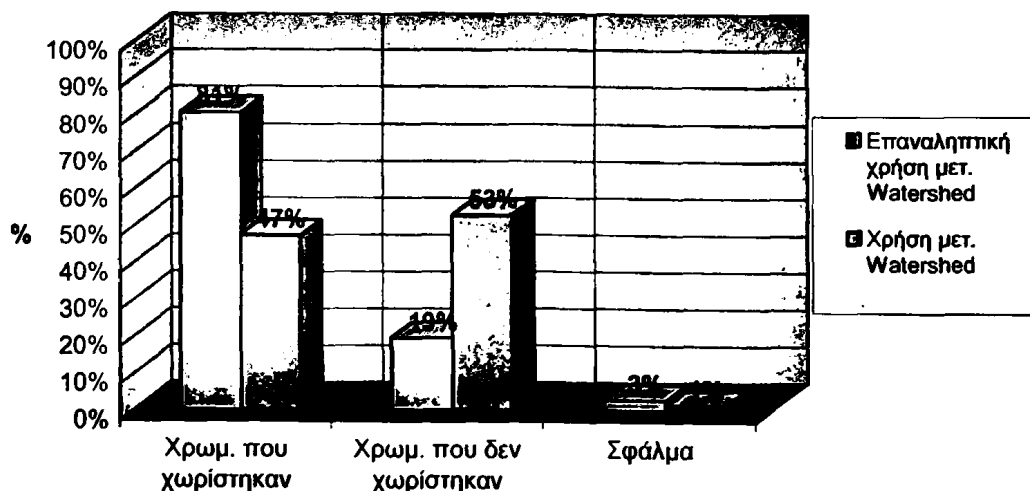


Σχήμα 4: Αποτελέσματα μεθοδολογίας επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού Watershed.

Μεθοδολογία	Εφαπτόμενα Χρωμ. που Χωρίστηκαν	Εφαπτόμενα Χρωμ. που δεν Χωρίστηκαν	Σφάλμα
Επαναληπτικός Watershed	319/396	77/396	26/940
Ποσοστό (%)	81%	19%	3%

Πίνακας 5: Πίνακας αποτελεσμάτων μεθοδολογίας επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού Watershed.

Στο Σχήμα 5 παρουσιάζεται μια σύγκριση των δύο μεθοδολογιών για το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων που εφάπτονται το ένα στο άλλο. Και οι δύο κάνουν χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* η μεν πρώτη εφαρμόζει το μετασχηματισμό στην δυαδική εικόνα όπως αυτή προκύπτει από μέθοδο Otsu ενώ η δεύτερη εφαρμόζει τον μετασχηματισμό εξαντλητικά σε κάθε περιοχή *Watershed* μέχρι να μην δημιουργούνται νέες περιοχές.



Σχήμα 5: Σύγκριση των δύο μεθοδολογιών χρήσης του μετασχηματισμού Watershed (Επαναληπτικής και μη).

Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι η χρήση του επαναληπτικού μετασχηματισμού *Watershed* παρουσιάζει ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας.



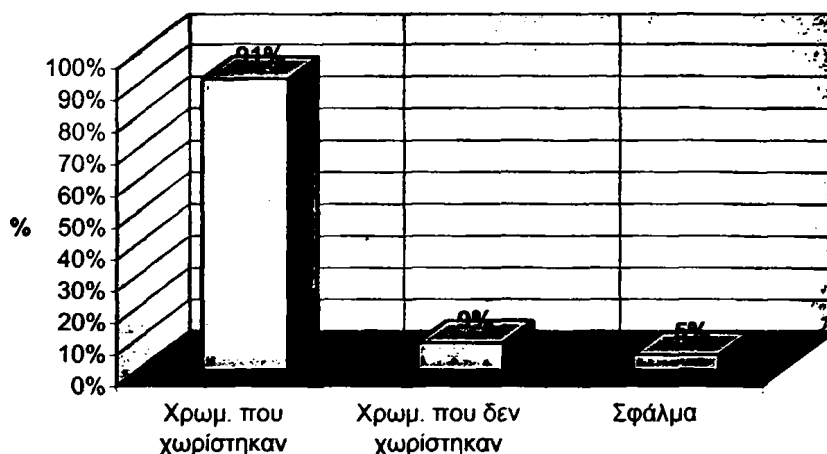
**5.6 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ WATERSHED ΚΑΙ ΕΥΡΕΣΗ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΧΑΜΗΛΗΣ ΦΩΤΕΙΝΟΤΗΤΑΣ**

Λόγω του γεγονότος ότι υπήρχαν ακόμη χρωμοσώματα τα οποία εφάπτονταν το ένα στο άλλο σε σημείο που να μοιάζουν με ένα χρωμόσωμα και παρατηρώντας ότι η χρήση μόνο της επαναληπτικής εφαρμογής του μετασχηματισμού *watershed* δεν παρουσίαζε ικανοποιητικά ποσοστά επιτυχίας, κρίναμε απαραίτητη την χρήση της μεθοδολογίας, εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας για την προσπάθεια επίλυσης και αυτών των περιπτώσεων [12].

Ωστόσο τροποποιήσαμε την συγκεκριμένη μεθοδολογία σε δύο βασικά σημεία:

- Ο υπολογισμός των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας δεν εφαρμόστηκε στην αρχική εικόνα όπως έχει εφαρμοστεί [12] αλλά σε κάθε περιοχή που προέκυπτε από τη χρήση του μετασχηματισμού *Watershed*. Αποτέλεσμα είναι η λειτουργία της μεθοδολογίας σε λιγότερα χρωμοσώματα που ακουμπούσαν το ένα το άλλο.
- Όταν δύο ή και περισσότερα μονοπάτια τέμνονται τότε ενώνουμε τα δύο μονοπάτια.

Στο Σχήμα 6 και στον Πίνακα 6, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *Watershed* με χρήση της μεθόδου υπολογισμού των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.



Σχήμα 6: Αποτελέσματα μεθοδολογίας επαναληπτικής χρήσης του επαναληπτικού μετασχηματισμού Watershed & Υπολογισμού μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.

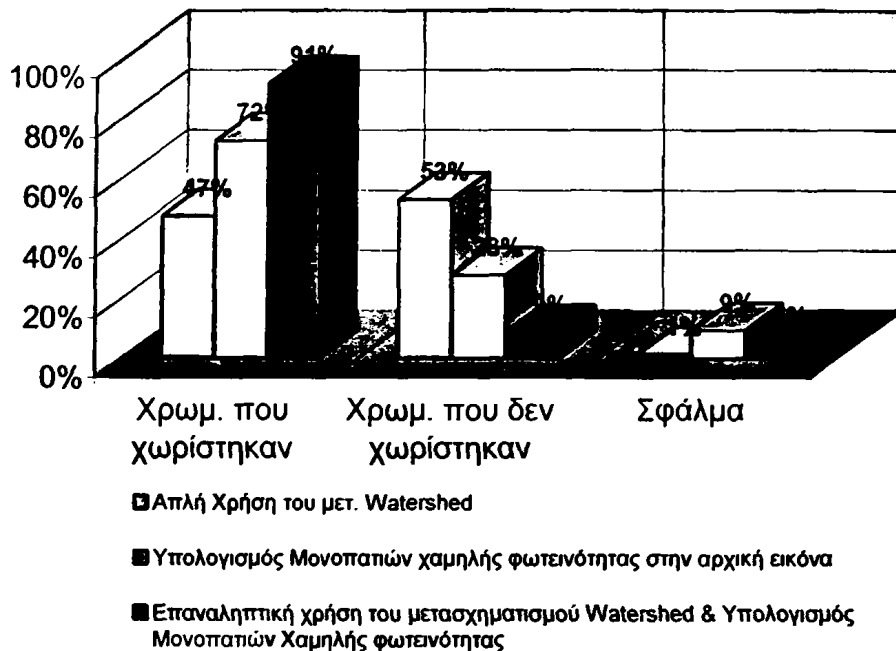
Μεθοδολογία	Εφαπτόμενα Χρωμ. που Χωρίστηκαν	Εφαπτόμενα Χρωμ. που δεν Χωρίστηκαν	Σφάλμα
Επαναληπτικός Watershed & Υπολογισμός μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας	362/396	34/396	46/940
Ποσοστό (%)	91%	9%	5%

Πίνακας 6: Πίνακας αποτελεσμάτων μεθοδολογίας επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού Watershed & Υπολογισμός μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας.



5.7 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΜΕ ΆΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ

Στην ενότητα αυτή θα συγκρίνουμε τα αποτελέσματα της μεθοδολογίας μας με άλλες μεθόδους που έχουν παρουσιαστεί μέχρι σήμερα. Στο σχήμα 7 γίνεται μια συνολική σύγκριση των μεθόδων που ακολουθήσαμε μέχρι να φτάσουμε στην τελική προτεινόμενη μέθοδο η οποία παρουσίαζε τα καλύτερα αποτελέσματα (Επαναληπτική χρήση του μετασχηματισμού *Watershed* & Υπολογισμός μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας).



Σχήμα 7: Σύγκριση των τριών μεθόδων που εφαρμόσαμε.

Η σύγκριση της μεθοδολογίας μας με άλλες μεθόδους παρουσιάζεται στον Πίνακα 7. Η αξιολόγηση όλων των μεθόδων που παρουσιάζεται στη βιβλιογραφία γίνεται με κριτήριο τα εξής κριτήρια:

- **Ποσοστό επιτυχίας εφαπτόμενων χρωμοσωμάτων (X<sub>E</sub>)** : Πλήθος εφαπτόμενων χρωμοσωμάτων που χωρίστηκαν προς το συνολικό πλήθος εφαπτόμενων χρωμοσωμάτων.
- **Ποσοστό επιτυχίας συνολικών χρωμοσωμάτων (X<sub>Σ</sub>)** : Πλήθος χρωμοσωμάτων που αναγνωρίστηκαν προς το συνολικό πλήθος χρωμοσωμάτων.

Στον Πίνακα 7, παρουσιάζονται όλες οι μέθοδοι κατάτμησης εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων ταξινομημένες στις τρεις κατηγορίες: Προτεινόμενες μέθοδοι (*Watershed*), Μέθοδοι υπολογισμού μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας (*Pale Paths*) και μέθοδοι που βασίζονται στην σύγκριση περιοχών με πρότυπα ή χαρακτηριστικά (*Segmentation based on characteristics or prototypes*) Κεφάλαιο 2. Επίσης στον Πίνακα 7 δίνονται στοιχεία για τον τύπο των εικόνων που χρησιμοποιήθηκαν αλλά και του πλήθους των χρωμοσωμάτων.



Μεθοδολογία		Τύπος Εικόνας	N <sub>x</sub> <sup>1</sup>	X <sub>E</sub> <sup>2</sup> (%)	X <sub>E</sub> <sup>3</sup> (%)	Σφάλμα (%)
WATERSHED	Επαναληπτικός Watershed	C – Bands DAPI	940	87.1%	81%	3%
	Watersheds & Pale paths	C – Bands DAPI	940	91.2%	90.9%	4.8%
PALE PATHS	Intelligent Splitting in the chromosome domain [12]	C – Bands G – bands	~500	-	91-95%	4.4%
	Fully Automatic Chromosome Segmentation [13]	C – Bands G – bands	~19.719	92%	-	-
	Automatic Karyotyping of metaphase cells [14]	G – bands	9.614	-	82%	-
SEGMENTATION BASED ON CHARACTERISTICS OR PROTOTYPES	Geometric Separation of Chromosomes [15]	G – bands	1.150	-	82%	7%
	Classification-driven Partially Occluded Object Segmentation [16]	G – bands	1.610	82.6 %	-	-

<sup>1</sup>N<sub>x</sub>: Συνολικό πλήθος χρωμοσωμάτων.

<sup>2</sup>X<sub>E</sub>: Ποσοστό επιτυχίας επί του συνολικού πλήθους χρωμοσωμάτων.

<sup>3</sup>X<sub>E</sub>: Ποσοστό επιτυχίας επί των εφάπτόμενων χρωμοσωμάτων.

Πίνακας 7: Σύγκριση της μεθόδου μας με άλλες μεθόδους.

## 5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρουσιάσαμε μια νέα μέθοδο κατάτμησης εικόνων χρωμοσωμάτων. Η μέθοδος καταφέρνει να επιλύσει σε ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας ~90% την περίπτωση των χρωμοσωμάτων που εφάπτονται το ένα στο άλλο. Η μέθοδος αφού μετατρέψει σε δυαδική μια εικόνα χρωμοσωμάτων στην συνέχεια υπολογίζει το μετασχηματισμό απόστασης. Στον μετασχηματισμό αυτό εφαρμόζουμε το μετασχηματισμό *watershed* και μια πρώτη εκτίμηση για το πλήθος των χρωμοσωμάτων που βρίσκονται στην εικόνα αποκτάται. Το ποσοστό επιτυχίας της παραπάνω μεθόδου δεν καταφέρνει να ξεπεράσει το 50%.

Για το λόγο αυτό εφαρμόζουμε επαναληπτικά την παραπάνω μεθοδολογία επαναληπτικά σε κάθε περιοχή *watershed* μέχρι να μην δημιουργούνται νέες περιοχές. Με τον τρόπο αυτό καταφέρνουμε να αυξήσουμε το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου σε



ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας ~81%. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μέθοδος εφαρμόζεται σε μικρότερη από την αρχική εικόνα με αποτέλεσμα οι επιμέρους τεχνικές που εφαρμόζονται, όπως ο υπολογισμός των *markers* να δουλεύει καλύτερα πράγμα που αποτυπώνεται στο ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου.

Ωστόσο παραμένουν δύσκολες περιπτώσεις εφαπτόμενων χρωμοσωμάτων προς επίλυση. Για το λόγο αυτό εφαρμόζεται η μέθοδος εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας και γενικά το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου αυξάνεται ~91%. Η μεθοδολογία αυτή εφαρμόζεται στις περιοχές *watershed* σε αντίθεση με την εφαρμογή της σε όλη την εικόνα όπως αρχικά αυτή προτάθηκε [12]. Αυτό εξηγεί και τη μείωση του σφάλματος του παραπάνω βήματος σε σχέση με την αρχική μεθοδολογία από 9% σε 5% (Σχήμα 7), μιας και ο υπολογισμός των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας χρησιμοποιεί ένα πλήθος από παραμέτρους των οποίων τις βέλτιστες τιμές τις περισσότερες φορές χρειάζεται να υπολογίσουμε. Μια ακόμη αλλαγή που προσαρμόσαμε στη μεθοδολογία εύρεσης μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας ήταν η ένωση μονοπατιών που τέμνονται.

Η μέθοδος είναι πρωτότυπη αφού συνδυάζει την επαναληπτική εφαρμογή του μετασχηματισμού *Watershed*, που εφαρμόστηκε για πρώτη φορά σε εικόνες ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων, όσο και τον υπολογισμό των μονοπατιών χαμηλής φωτεινότητας σε περιοχές *Watershed* αντί σε ολόκληρη εικόνα.

Σε σχέση με άλλες μεθόδους κατάτμησης εικόνων ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων η μέθοδος μας παρουσιάζει ικανοποιητικό ποσοστό επιτυχίας. Επιπλέον η μεθόδός μας είναι αυτόματη και δεν απαιτεί την αλληλεπίδραση με το χρήστη-χειριστή. Ένα ακόμη πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι δεν απαιτεί την ύπαρξη βάσης δεδομένων χρωμοσωμάτων για τη λειτουργία της όπως απαιτούν ορισμένες μέθοδοι. Επίσης η μεθοδολογία αξιολογήθηκε για μια όχι και τόσο απλή βάση δεδομένων εικόνων αφού περίπου το 50% της βάσης εικόνων αποτελούνταν από περιπτώσεις χρωμοσωμάτων που εφάπτονταν το ένα το άλλο Πίνακας 2.

Η μεθοδολογία που προτείναμε ουσιαστικά αποτελεί μια μέθοδο τεχνικής διαίρεσης (*Region Splitting*) που βασίζεται στην επαναληπτική χρήση του μετασχηματισμού *watershed*. Αντίθετα με τεχνικές συνένωσης (*Region Merging*) που έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στην περίπτωση του μετασχηματισμού *Watershed* [42] και για τις οποίες πρέπει να ορίσουμε κριτήριο συνένωσης γειτονικών περιοχών η μεθοδολογία μας δεν χρησιμοποιεί κανένα κριτήριο διαίρεσης περιοχών παρά την επαναληπτική εφαρμογή της μεθοδολογίας σε κάθε μια περιοχή.

Η μεθοδολογία της επαναληπτικής χρήσης του μετασχηματισμού *watershed* που προτείναμε ίσως μπορεί να εφαρμοστεί και για άλλες περιπτώσεις κατάτμησης εικόνων, όπως αυτών των κυττάρων κ.α. Ένα από τα επόμενα βήματα είναι η εφαρμογή της μεθόδου μας σε εικόνες διαφορετικών αντικειμένων για την περαιτέρω αξιολόγησή της. Επίσης η κατηγοριοποίηση των χρωμοσωμάτων είναι και αυτή ένα σημαντικό επόμενο βήμα.





6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] H. Tjio, Levan A, The chromosome number of man, *Hereditas*, 42:1-6, (1956).
- [2] M. Thompson, R. McInnes, H. Willard, Genetics in Medicine, *W. B. Saunders Company*, (1991).
- [3] S. Moorhead, C. Nowell, J. Mellman, M. Battips, Chromosome preparation of leycocytes cultured from human peripheral blood, *Experimental Cell Research*, 20:613-616, (1960).
- [4] T. Caspersson, S. Farber, G. Foley, J. Kudynowski, J. Modest, E. Simonsson, U. Wagh, L. Zech, Chemical differentiation along metaphase chromosomes, *Experimental Cell Research*, 49:219-222, (1968).
- [5] T. Sumner, J. Evans, A. Buckland, A new technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol.* 232:31-32, (1971).
- [6] E. Arrighi, C. Hsu , Localization of heterochromatin in human chromosomes, *Cytogenetics*, 10:81-86, (1971).
- [7] G. Bauman, J. Wiengant, P. Borst, P. Duijin, A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorochrome labelled RNA, *Experimental Cell Research*, 128:485-490, (1980).
- [8] Standardisation in Human Cytogenetics: Birth Defects, *Paris Conference*, (1971).
- [9] B. Hook, L. Hamerton, Population cytogenetics: Studies in humans, *Academic Press New York*, (1977).
- [10] C. Lundsteen, T. Gerdes, J. Maahr, J. Philip, Clinical performance of a system for semiautomated chromosome analysis, *American Journal of Human Genetics*, 41:493-502, (1987)
- [11] J. Piper, E. Granum, On fully automatic feature measurement for banded chromosome classification, *Cytometry*, 10:242-255, (1989).
- [12] L. Ji, Intelligent<sup>SA</sup> Splitting in the chromosome domain, *Pattern Recognition*, 22(5):519-532, (1989).



- [13] L. Ji, Fully automatic chromosome segmentation, *Cytometry*, 17:196-208, (1994).
- [14] M. Popescu, P. Gader, J. Keller, C. Klein, J. Stanley, C. Caldwell, Automatic karyotyping of metaphase cells with overlapping chromosomes, *Computers in Biology and Medicine*, 29:61-82, (1999).
- [15] G. Agam, I. Dinstein, Geometric separation of partially overlapping nonrigid objects applied to automatic chromosome classification, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 19(11):1212-1222, (1997).
- [16] B. Lerner, H. Guterman, I. Dinstein, A Classification-driven Partially Occluded Object Segmentation (CPOOS) method with application to chromosome analysis, *IEEE Transactions on Signal Processing*, 46(10):2841-2847, (1998).
- [17] G. C. Charters, J. Graham, Trainable grey-level models for disentangling overlapping chromosomes, *Pattern Recognition*, 32:1335-1349, (1999).
- [18] G. C. Carters, J. Graham, Disentangling chromosome overlaps by combining trainable shape models with classification evidence, *IEEE Transactions on Signal Processing*, 50(8):2080-2085.
- [19] K. Sahoo, A survey of thresholding techniques, *Computer Vision, Graphics and Image Understanding*, 41:233-260, (1988).
- [20] M. Sonka, V. Hlavac, R. Boyle, Image processing, analysis, and machine vision, *PWS Publishing*, (1999).
- [21] N. Otsu, A threshold selection method for Gray – Levels histograms, *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 9:62-66, (1979).
- [22] R. Walpole, R. Myers, S. Meyrs, Probability and statistics for engineers and scientists, *Prentice Hall*, (1998).
- [23] R. Gonzalez, R. Woods, Digital image processing, *Prentice Hall*, 2<sup>nd</sup> Edition, (2001).
- [24] H. Digabel, C. Lantuéjoul, Iterative algorithms, In *Proc. 2nd European Symp. Quantitative Analysis of Microstructures in Material Science, Biology and Medicine*, Caen, France, Oct. 1977, J. L. Chermant, Ed. Stuttgart, West Germany: Riederer Verlag, 85-99, (1978).
- [25] S. Beucher, C. Lantuéjoul, Use of watersheds in contour detection, In *Proc. Int. Workshop Image Processing, Real-Time Edge and Motion Detection/Estimation*, Rennes, France, (1979).
- [26] Γ. Μανωλόπουλος, Μαθήματα Θεωρίας Γράφων, *Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών*, Αθήνα, (1996).
- [27] J. B. Roerdink, A. Meijster, The watershed transform: definitions, algorithms and parallelization strategies, *Fundamenta Informaticae*, 41:187-228, (2001).



- [28] L. Vincent and P. Soille. Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations, *IEEE Transactions on Pattern Analysis Machine Intelligent*, 13(6):583-598, (1991).
- [29] H. T. Cormen, E. C. Leiserson, and R. L. Rivest, Introduction to algorithms, *MIT Press*, (1990).
- [30] G. Borgerfors, Distance transformations in digital images, *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 27:321-345, (1984).
- [31] W. D. Paglieroni, Distance transforms: Properties and machine vision applications, *Graphical Models and Image Processing*, 54:56—74, (1992).
- [32] A. Rosenfeld, J. Pfaltz, Sequential operations in digital picture processing, *Journal of the ACM*, 13:471-494, (1966).
- [33] A. Rosenfeld, J. Pfaltz, Distance functions on digital pictures, *Pattern Recognition*, 1:33-61, (1968).
- [34] P. P. Das, P. P. Chakrabarti, Distance functions in digital geometry, *Information Sciences*, 42:113-136, (1987).
- [35] M. Yamashita, T. Ibaraki, Distances defined by neighbourhood sequences, *Pattern Recognition*, 19:237-246, (1986).
- [36] P. E. Danielson, Euclidean distance mapping, *Comp. Graph. and Image Proc.*, 14:227-248, (1980).
- [37] H. Breu, J. Gil, Kirkpatrick, D., Werman, M., Linear time Euclidean distance transform algorithms, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 17(5):529-533, (1995).
- [38] M. G. Voronoi, Nouvelles applications des parametres continus á la theorie des formes quadratiques, *J. Reine Angew. Math.*, 134:198-287, (1908).
- [39] Λ. Παλής, Στοιχεία Υπολογιστικής Γεωμετρίας, Εκδόσεις Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, 2001.
- [40] M. I. Shamos, D. Hoey, Closest-point problems, *Proc. 16th Annu. IEEE Sympos. Found. Comput. Sci.*, 151-162, (1975).
- [41] N. Malpica, O. C. Solorzano, J. J. Vaquero, A. Santos, I. Vallcorba, M. J. Sagredo, F. Pozo, Applying watershed algorithms to the segmentation of clustered nuclei, *Cytometry*, 28:289-297, (1997).
- [41] M. J. Gaugh, Image segmentation and analysis via multiscale gradient watershed hierarchies, *IEEE Transactions on Image Processing*, 8(1):69-79, (1999).
- [42] H. Haris, N. Efstratiadis, N. Maglaveras, K. Katsaggelos, Hybrid image segmentation using watersheds and fast region merging, *IEEE Transactions on Image Processing*, 7(12):1684-1699, (1998).



- [43] V. Grau, U. Mewes, M. Alcaniz, R. Kikinis, S. Warfield, Improved watershed transform for medical image segmentation Using Prior Information, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 23(4):447-458.
- [44] F. Meyer, S. Beucher, Morphological segmentation, *Journal of Visual Communication and Image Representation*, 1(1):21-46, (1990).
- [45] L. Vincent, Morphological grayscale reconstruction in image analysis: Applications and efficient algorithms, *IEEE Transactions on Image Processing*, 2(2):176-201, (1993).
- [46] S. Baucher, The watershed transform applied to image segmentation, *Scanning Microsc. Suppl.*, 6:299-314, (1992).
- [47] H. E. Hall, Almost uniform distribution for computer image enhancement, *IEEE Trans. Comput.*, 23(2):207-208, (1974).
- [48] S. M. Pizer, D. J. Amburn, D. Austin, R. Cromartie, A. Geselowitz, T. Greer, B. H. Romeny, J. B. Zimmerman, and K. Zuiderveld, Adaptive histogram equalization and its variations, *Comput. Vision Graphics Image Process*, 39:355-368, (1987).
- [49] L. Vincent, Morphological grayscale reconstruction in image analysis: applications and efficient algorithms, *IEEE Transactions on Image Processing*, 2(2):176-201, (1993).
- [50] <http://www.metasystems.de>
- [51] J. Gauch, Image segmentation and analysis via multiscale gradient watershed hierarchies, *IEEE Transactions on Image Processing*, 8(1):69-79, (1999).
- [52] P. Musavi, R. Ward, S. Fels, M. Sameti, P. Lansdorp, Feature analysis and centromere segmentation of human chromosome images using an iterative fuzzy algorithm, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 49(4):363-371, (2002).



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α: ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ OTSU

Η διακύμανση μεταξύ των επιπέδων γκρι των δύο κλάσεων δίνεται από τη σχέση (3.14, Κεφάλαιο 3):

$$\sigma_B^2(k) = \omega_0(\mu_0 - \mu_T)^2 + \omega_1(\mu_1 - \mu_T)^2 \xrightarrow[3.5,3.6]{3.3,3.4}$$

$$\sigma_B^2(k) = \omega(k)\left(\frac{\mu(k)}{\omega(k)} - \mu_T\right)^2 + (1 - \omega(k))\left(\frac{\mu_T - \mu(k)}{1 - \omega(k)} - \mu_T\right)^2$$

$$= \frac{\mu(k)^2}{\omega(k)} - 2\mu(k)\mu_T + \omega(k)\mu_T^2 + \frac{(\mu_T - \mu(k))^2}{1 - \omega(k)} - 2\mu_T(\mu_T - \mu(k)) + (1 - \omega(k))\mu_T^2$$

$$= \frac{\mu(k)^2}{\omega(k)} - 2\mu(k)\mu_T + \omega(k)\mu_T^2 + \frac{(\mu_T - \mu(k))^2}{1 - \omega(k)} - 2\mu_T^2 + 2\mu(k)\mu_T + \mu_T^2 - \omega(k)\mu_T^2$$

$$= \frac{\mu(k)^2}{\omega(k)} + \frac{\mu_T^2 - 2\mu_T\mu(k) + \mu(k)^2}{1 - \omega(k)} - \mu_T^2$$

$$= \frac{\mu(k)^2(1 - \omega(k)) + (\mu_T^2 - 2\mu_T\mu(k) + \mu(k)^2)\omega(k) - \mu_T^2\omega(k)(1 - \omega(k))}{\omega(k)(1 - \omega(k))}$$

$$= \frac{\mu(k)^2 - \omega(k)\mu(k)^2 + \mu_T^2\omega(k) - 2\mu_T\mu(k)\omega(k) + \mu(k)^2\omega(k) - \mu_T^2\omega(k) + \mu_T^2\omega(k)^2}{\omega(k)(1 - \omega(k))}$$

$$= \frac{\mu(k)^2 - 2\mu_T\mu(k)\omega(k) + \mu_T^2\omega(k)^2}{\omega(k)(1 - \omega(k))}$$

$$= \frac{(\mu(k) + \mu_T\omega(k))^2}{\omega(k)(1 - \omega(k))}$$



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β: ΟΙ ΤΕΛΕΣΤΕΣ DILATION ΚΑΙ EROSION

Έστω  $E = R^2$  ή  $Z^2$  ο δυσδιάστατος Ευκλείδειος χώρος ή το Ευκλείδειο πλέγμα αντίστοιχα. Το αντικείμενο  $X$  της δυαδικής εικόνας είναι ένα υποσύνολο του  $E$ . Ας θεωρήσουμε  $B$  ένα δομικό στοιχείο, τότε μπορούμε να ορίσουμε τους μορφολογικούς μετασχηματισμούς διαστολής (*dilation*) και συστολής (*erosion*) αντίστοιχα.

### Dilation

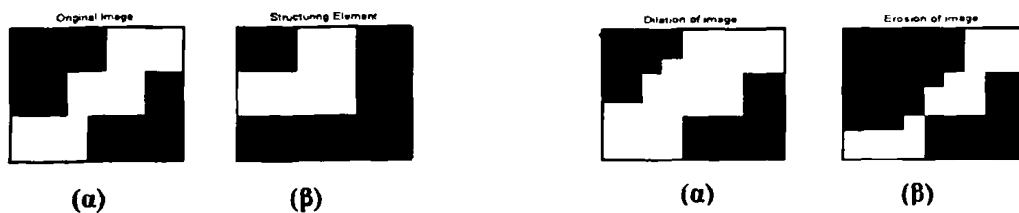
Η διαστολή  $X \oplus B$  (1) περιέχει όλες τις μετατοπίσεις του  $B$  που τέμνονται με το  $X$ . Είναι ένας τελεστής επέκτασης και τείνει να συρρικνώνει τις οπές και να επεκτείνει τα άκρα του αντικείμενου, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1(α).

$$X \oplus B = \{p \in E : p = x + b, x \in X \text{ και } b \in B\}. \quad (A.1)$$

### Erosion

Η συστολή  $X \ominus B$  (2) είναι ένας τελεστής συρρικνώσεως επειδή περιέχει μόνο σημεία του  $E$ , τέτοια ώστε οι μετατοπίσεις του  $B$  να είναι υποσύνολα του  $X$ . Αυτά τα σημεία σχηματίζουν ένα υποσύνολο του  $X$ . Έτσι, η συστολή συρρικνώνει ένα αντικείμενο, κονταίνει τα άκρα του και επεκτείνει τις οπές του, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1(β).

$$X \ominus B = \{p \in E, p + b \in X \ \forall b \in B\}. \quad (A.2)$$



Εικόνα 1: (α) Αρχική Εικόνα. (β) Δομικό στοιχείο

Εικόνα 2: (α) Διαστολή (*dilation*) της εικόνας. (β) Συστολή (*erosion*) της εικόνας.

