

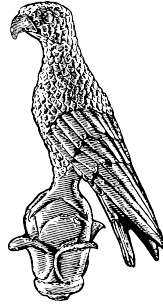
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τεχνικές Ψηφιακής Επεξεργασίας Εικόνας για την Ανάλυση
Μικροσκοπικής Απεικόνισης Ιστοπαθολογίας

Αλέξανδρος Μπανταλούκας-Αρτζμάντ
Μηχανικός Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και Πληροφορικής

ΑΡΤΑ 2023



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τεχνικές Ψηφιακής Επεξεργασίας Εικόνας για την Ανάλυση
Μικροσκοπικής Απεικόνισης Ιστοπαθολογίας

Αλέξανδρος Μπανταλούκας-Αρτζμάντ
Μηχανικός Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και Πληροφορικής

ΑΡΤΑ 2023

Ημερομηνία αίτησης του κου Μπανταλούκα-Αρτζμάντ Αλέξανδρου: 08-04-2019

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 9^η/12-04-2019

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Τζάλλας Αλέξανδρος, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Γλαβάς Ευριπίδης, Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Γκόγκος Χρήστος, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής: 9^η/12-04-2019

«Τεχνικές Ψηφιακής Επεξεργασίας Εικόνας για την Ανάλυση Μικροσκοπικής Απεικόνισης Ιστοπαθολογίας»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 103^η/11-07-2023

Τζάλλας Αλέξανδρος	Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών της Σχολής Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Βιοϊατρική Τεχνολογία με Έμφαση στην Επεξεργασία και Ανάλυση Βιοϊατρικών Δεδομένων»
Γλαβάς Ευριπίδης	Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών της Σχολής Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Αρχιτεκτονική Υπολογιστών και Λειτουργικά Συστήματα»
Γκόγκος Χρήστος	Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών της Σχολής Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Συνδυαστικοί Αλγόριθμοι και Προγραμματισμός με έμφαση στο Χρονοπρογραμματισμό»
Γιαννακέας Νικόλαος	Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών της Σχολής Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Σήματα και Συστήματα»
Καρβέλης Πέτρος	Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών της Σχολής Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Ανάλυση Εικόνας, Σήματος και Μηχανικής Όρασης με Μέθοδους Μηχανικής Μάθησης»
Τσίπουρας Μάρκος	Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας με γνωστικό αντικείμενο «Ψηφιακή Επεξεργασία Σήματος»

Αστρακάς Λουκάς

Αναπληρωτής Καθηγητής της Ιατρικής Σχολής του
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με γνωστικό αντικείμενο «Ιατρική
Φυσική»

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 20-07-2023

Άρτα 21-07-2023

Ο ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΛΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

Ευριπίδης Γλαβάς
Καθηγητής



Η Γραμματέας του Τμήματος

Ευαγγελία Χρήστου

Πρόλογος

Η αξιολόγηση ιστολογικών ευρημάτων με βάση τους ψηφιακούς μικροσκοπικούς σαρωτές προσφέρει εκτεταμένες δυνατότητες επεξεργασίας και ανάλυσης σημαντικού όγκου δεδομένων, καθιστώντας δυνατή την παραγωγή πληροφοριών υψηλού επιπέδου, οι οποίες είναι καθοριστικής σημασίας για τον εντοπισμό αλλά και τη θεραπεία ασθενειών. Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποσκοπεί στην εφαρμογή μεθόδων υπολογιστικής όρασης για τη διάγνωση παθολογιών σε ψηφιοποιημένα ιστολογικά δείγματα βιοψίας και στην αντιμετώπιση του προβλήματος της ημιποσοτικής αξιολόγησης στις σύγχρονες κλινικές εγκαταστάσεις.

Η διδακτορική έρευνα πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αλληλεπίδρασης Ανθρώπου Υπολογιστή (HCILAB) του τμήματος Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αλέξανδρου Τζάλλα, τον οποίο ευχαριστώ μαζί με τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Νικόλαο Γιαννακέα για την ενθάρρυσή τους να ξεκινήσω την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής. Εκτιμώ επίσης την εμπιστοσύνη τους και την αυτονομία που μου παρείχαν στο σχεδιασμό και την υλοποίηση των πειραματικών μελετών. Ευχαριστώ ακόμα το Τμήμα Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών για τη φιλοξενία και την παροχή πρόσβασης στον απαραίτητο εξοπλισμό και λογισμικό για τη διεκπεραίωση της έρευνάς μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την αμέριστη υποστήριξη και ενθάρρυνση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια των ετών της διεξαγωγής της παρούσας διδακτορικής έρευνας.

Ερευνητικά Έργα

Μέρη αυτής της διδακτορικής διατριβής υποστηρίχθηκαν από:

Φορέας: ΠΙ, Κωδικός: 61500, Τίτλος: “Σύστημα Αυτόματης Μέτρησης της Διόγκωσης των Ηπατικών Κυττάρων σε Εικόνες Βιοψιών (xBalloon)”

Περιγραφή: Το έργο υλοποιήθηκε με κοινοπραξία της Q Base R&D και του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στην πράξη “Ενίσχυση Μικρομεσαίων Επιχειρήσεων για ερευνητικά έργα στους τομείς αγροδιατροφής, υγείας και βιοτεχνολογίας” του Επιχειρηματικού Προγράμματος “Ήπειρος 2014-2020”.

Φορέας: ΠΙ, Κωδικός: Τ2ΕΔΚ-03660, Τίτλος: “Ευφυής Πλατφόρμα Υποστήριξης Διάγνωσης / Σταδιοποίησης Ευρημάτων σε Βιοψίες με Βαθιά Μάθηση (Deep in Biopsies)”

Περιγραφή: Το έργο υλοποιείται σε συνεργασία με τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στο πλαίσιο της Ενιαίας Δράσης Κρατικών Ενισχύσεων Έρευνας, Τεχνολογικής Ανάπτυξης και Καινοτομίας «Ερευνώ – Δημιουργώ – Καινοτομώ» και χρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης – ΕΤΠΑ.

Δημοσιεύσεις Συγγραφέα

Δημοσιεύσεις Εργασιών σε Διεθνή Περιοδικά με Σύστημα Κριτών

1. **A. Arjmand**, O. Tsakai, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, R. Forlano, P. Manousou, R. D. Goldin, C. Gogos, E. Glavas and N. Giannakeas, “Ensemble Convolutional Neural Network Classification for Pancreatic Steatosis Assessment in Biopsy Images”, *Information*, vol. 13, no. 4, March 2022, DOI: 10.3390/info13040160
2. **A. Arjmand**, V. Christou, I. G. Tsoulos, M. G. Tsipouras, A. T. Tzallas, C. Gogos, E. Glavas and N. Giannakeas, “An Evolutionary Algorithm-based Optimization Method for the Classification and Quantification of Steatosis Prevalence in Liver Biopsy Images”, *Array*, vol. 11, July 2021, DOI: 10.1016/j.array.2021.100078
3. **A. Arjmand**, M. G. Tsipouras, A. T. Tzallas, R. Forlano, P. Manousou and N. Giannakeas, “Quantification of Liver Fibrosis - A Comparative Study”, *Applied Sciences (Appl. Sci.)*, vol. 10, no. 2, January 2020, DOI: 10.3390/app10020447
4. **A. Arjmand**, C. T. Angelis, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou and N. Giannakeas, “Training of Deep Convolutional Neural Networks to Identify Critical Liver Alterations in Histopathology Image Samples”, *Applied Sciences (Appl. Sci.)*, vol. 10, no. 1, December 2019, DOI: 10.3390/app10010042
5. **A. Arjmand** and N. Giannakeas, “Fat Quantification in Liver Biopsies using a Pretrained Based System”, *Engineering, Technology & Applied Science Research (ETASR)*, vol. 8, no. 6, pp. 3550-3555, December 2018, DOI: 10.48084/etasr.2274

Δημοσιεύσεις Εργασιών σε Διεθνή Συνέδρια με Σύστημα Κριτών

1. **A. Arjmand**, M. Pappas, O. Tsakai, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, R. Forlano, P. Manousou, R. Goldin, E. Glavas and N. Giannakeas, “Automated Quantification of Pancreatic Steatosis in Biopsy Images using a Classification Based System”, *6th South-East Europe Design Automation, Computer Engineering, Computer Networks and Social Media Conference (SEEDA-CECNSM)*, Preveza, Greece, September 2021, DOI: 10.1109/SEEDA-CECNSM53056.2021.9566280
2. **A. Arjmand**, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, C. T. Angelis, G. Tsoumanis, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou and N. Giannakeas, “Transfer Learning versus Custom CNN Architectures in NAFLD Biopsy Images”, *Telecommunications and Signal Processing (TSP)*, Milan, Italy, July 2020, DOI: 10.1109/TSP49548.2020.9163489

3. **A. Arjmand**, C. T. Angelis, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou and N. Giannakeas, "Deep Learning in Liver Biopsies using Convolutional Neural Networks", *Telecommunications and Signal Processing (TSP)*, Budapest, Hungary, July 2019, DOI: 10.1109/TSP.2019.8768837
4. **A. Arjmand**, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, R. Forlano, P. Manousou, N. Ketertsidis and N. Giannakeas, "Fat Droplet Identification in Liver Biopsies using Supervised Learning Techniques", *Proceedings of Pervasive Technologies Related to Assistive Environments (PETRA)*, Corfu, Greece, June 2018, DOI: 10.1145/3197768.3201554

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής ολοκληρώθηκαν και τα ακόλουθα έργα, τα οποία δεν αποτελούν μέρος της:

Δημοσιεύσεις Εργασιών σε Διεθνή Περιοδικά με Σύστημα Κριτών

1. V. Christou, I. Tsoulos, **A. Arjmand**, D. Dimopoulos, D. Varvarousis, A. T. Tzallas, C. Gogos, M. G. Tsipouras, E. Glavas, A. Ploumis and N. Giannakeas, "Grammatical Evolution-Based Feature Extraction for Hemiplegia Type Detection", *Signals*, vol. 3, no. 4, October 2022, DOI: 10.3390/signals3040044
2. V. Christou, **A. Arjmand**, D. Dimopoulos, D. Varvarousis, I. Tsoulos, A. T. Tzallas, C. Gogos, M. G. Tsipouras, E. Glavas, A. Ploumis and N. Giannakeas, "Automatic Hemiplegia Type Detection (Right or Left) Using the Levenberg-Marquardt Backpropagation Method", *Information*, vol. 13, no. 2, February 2022, DOI: 10.3390/info13020101

Δημοσιεύσεις Εργασιών σε Διεθνή Συνέδρια με Σύστημα Κριτών

1. V. Nastos, **A. Arjmand**, K. Tsakai, D. Dimopoulos, D. Varvarousis, A. T. Tzallas, N. Giannakeas, A. Ploumis and Christos Gogos, "Human Activity Recognition using Machine Learning Techniques", *7th South-East Europe Design Automation, Computer Engineering, Computer Networks and Social Media Conference (SEEDA-CECNSM)*, Ioannina, Greece, September 2022, DOI: 10.1109/SEEDA-CECNSM57760.2022.9932971
2. V. Christou, **A. Arjmand**, D. Dimopoulos, D. Varvarousis, A. T. Tzallas, C. Gogos, M. G. Tsipouras, A. Ploumis and N. Giannakeas, "Neural Network-Based approach for Hemiplegia Detection via Accelerometer Signals", *6th South-East Europe Design Automation, Computer Engineering, Computer Networks and Social Media Conference (SEEDA-CECNSM)*, Preveza, Greece, September 2021, DOI: 10.1109/SEEDA-CECNSM53056.2021.9566216

Περιεχόμενα

Πρόλογος	i
Ερευνητικά Έργα	ii
Δημοσιεύσεις Συγγραφέα	iii
Περιεχόμενα	v
Κατάλογος Σχημάτων	viii
Κατάλογος Πινάκων	x
Επιτελική Σύνοψη	xi
Executive Summary	xiii
1 Εισαγωγή: Σκοπός, Υπόβαθρο και Οργάνωση της Διατριβής	1
1.1 Σκοπός και Οργάνωση της Διατριβής	2
1.2 Ψηφιακή Μικροσκοπία	6
1.3 Εμπορικά Εργαλεία Επεξεργασίας και Ανάλυσης Εικόνων Μικροσκοπίας . .	10
1.3.1 ImageJ/Fiji	10
1.3.2 QuPath	11
1.3.3 CellProfiler	11
1.3.4 ilastik	12
1.3.5 Aiforia	13
2 Επιστημονική Στάθμιση Ανάλυσης Ιστοπαθολογικών Εικόνων	15
2.1 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση Μεθοδολογιών Ανάλυσης Εικόνων Ιστοπαθολογίας	16
2.1.1 Μεθοδολογίες ανάλυσης της μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου	16
2.1.2 Μεθοδολογίες ανάλυσης της μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου	31
2.1.3 Μεθοδολογίες ανάλυσης της νεφροκυτταρικού καρκινώματος	35
2.2 Βάσεις Δεδομένων Ιστολογικών Εικόνων Μικροσκοπίας	43
2.2.1 Βάση δεδομένων μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου	43
2.2.2 Βάση δεδομένων μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου	45
2.2.3 Βάση δεδομένων νεφροκυτταρικού καρκινώματος	47

3	Μεθοδολογίες Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων	49
3.1	Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ	50
3.1.1	Υλικά και μέθοδοι	50
3.1.2	Αποτελέσματα	58
3.2	Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας	60
3.2.1	Υλικά και μέθοδοι	62
3.2.2	Αποτελέσματα	68
3.3	Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στους Νεφρούς	70
3.3.1	Υλικά και μέθοδοι	70
3.3.2	Αποτελέσματα	77
4	Μεθοδολογίες Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων	78
4.1	Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ με Τεχνικές Εξελικτικής Βελτιστοποίησης	79
4.1.1	Υλικά και μέθοδοι	80
4.1.2	Αποτελέσματα	86
4.2	Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ με Τεχνικές Βαθιάς Μάθησης	92
4.2.1	Υλικά και μέθοδοι	93
4.2.2	Αποτελέσματα	96
4.3	Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας με Τεχνικές Μηχανικής Μάθησης	104
4.3.1	Υλικά και μέθοδοι	104
4.3.2	Αποτελέσματα	110
4.4	Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας με Τεχνικές Βαθιάς Μάθησης	113
4.4.1	Υλικά και μέθοδοι	114
4.4.2	Αποτελέσματα	120
4.5	Συγκριτική Μελέτη Μεταφοράς Μάθησης έναντι Νέων CNN Αρχιτεκτονικών σε Προβλήματα Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων	132
4.5.1	Υλικά και μέθοδοι	132
4.5.2	Αποτελέσματα	135
5	Μεθοδολογίες Σταδιοποίησης Κακοηθειών σε Εικόνες Ιστολογίας	137
5.1	Ημιποσοτικοποιημένες Διαβαθμούμενες Κλίμακες	138
5.1.1	Σύστημα βαθμολόγησης Kleiner	138
5.1.2	Συστήματα βαθμολόγησης Ishak και METAVIR	139
5.1.3	Σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman	140
5.2	Μελέτη Σταδιοποίησης Κακοήθειας στους Νεφρούς	141
5.2.1	Υλικά και μέθοδοι	142
5.2.2	Αποτελέσματα	154
6	Συμπεράσματα και Μελλοντική Έρευνα	156
6.1	Συμπεράσματα Διδακτορικής Διατριβής	157
6.1.1	Συμπεράσματα μελέτης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο ήπαρ	157
6.1.2	Συμπεράσματα μελέτης ταξινόμησης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο ήπαρ με τεχνικές βαθιάς μάθησης	158
6.1.3	Συμπεράσματα μελέτης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο πάγκρεας	159

6.1.4	Συμπεράσματα συγκριτικής μελέτης μεταφοράς μάθησης έναντι νέων CNN αρχιτεκτονικών σε προβλήματα ταξινόμησης ιστοπαθολογικών ευρημάτων	162
6.1.5	Συμπεράσματα μελέτης σταδιοποίησης κακοήθειας στους νεφρούς . .	163
6.2	Μελλοντικοί Στόχοι	165

Βιβλιογραφία

169

Κατάλογος Σχημάτων

1.1	Ιστολογικές χρώσεις δειγμάτων βιοψίας	7
1.2	Βασικά στοιχεία οπτικής μικροσκοπίας	8
2.1	Απεικόνιση ιστολογικών αλλοιώσεων της ηπατικής νόσου	44
2.2	Απεικόνιση παραλλαγών της παγκρεατικής στεάτωσης	46
2.3	Ιστολογικό δείγμα νεφρού με διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα	47
3.1	Διάγραμμα ροής μεθόδου ανίχνευσης δομών ηπατικής στεάτωσης	51
3.2	Απεικόνιση βημάτων ενίσχυσης της ιστολογικής εικόνας ήπατος	52
3.3	Κατάτμηση της ιστολογικής περιοχής βιοψίας ήπατος	55
3.4	Μορφολογική επεξεργασία δυαδικής εικόνας ήπατος	56
3.5	Κατάτμηση των κυκλικών δομών ηπατικού λίπους	57
3.6	Διαδραστικό εργαλείο αλληλεπίδρασης με αντικείμενα κατάτμησης ήπατος	58
3.7	Τελικό αποτέλεσμα μεθόδου ανίχνευσης ηπατικού λίπους	59
3.8	Διάγραμμα ροής μεθόδου κατάτμησης παγκρεατικού λίπους	61
3.9	Ενίσχυση χρωματικών αντιθέσεων της ιστολογικής εικόνας παγκρέατος	62
3.10	Κατάτμηση της ιστολογικής περιοχής βιοψίας παγκρέατος	65
3.11	Μορφολογικό φιλτράρισμα κυκλικών δομών παγκρεατικού λίπους	66
3.12	Χειροκίνητη επισημείωση εικόνας για ημιποσοτική αξιολόγηση της παγκρεατικής στεάτωσης	67
3.13	Τελικό αποτέλεσμα μεθόδου ανίχνευσης παγκρεατικού λίπους	68
3.14	Διάγραμμα ροής μεθόδου κατάτμησης περιοχών νεφροκυτταρικού καρκινώματος	71
3.15	Βήματα κατάτμησης κυττάρων νεφρικού καρκινώματος	77
4.1	Διάγραμμα ροής μεθόδου ταξινόμησης ηπατικού λίπους	79
4.2	Ταυτοποίηση ιστολογικών δομών και ηπατικών αλλοιώσεων	80
4.3	Επισημείωση δειγμάτων εκπαίδευσης στον ηπατικό ιστό	81
4.4	Γραμματική Εξέλιξη για την κατασκευή προγράμματος ταξινόμησης ηπατικών δομών	84
4.5	CFG γραμματική για την κατασκευή νέου προγράμματος ταξινόμησης	85
4.6	Διαδικασία κατασκευής προγράμματος ταξινόμησης από ένα χρωμόσωμα ακέραιων αριθμών	86
4.7	Οπτικοποίηση αποτελεσμάτων ταξινόμησης ηπατικού λίπους	90
4.8	Γραφική αναπαράσταση του σφάλματος ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους	91
4.9	t-test διάγραμμα διασποράς των αποτελεσμάτων ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους	92
4.10	Προσαρμοσμένη αρχιτεκτονική CNN για την ταξινόμηση δομών ήπατος	95

4.11	Γραφήματα επικύρωσης προσαρμοσμένου μοντέλου CNN ταξινόμησης δομών ήπατος	97
4.12	Προβλέψεις προσαρμοσμένου μοντέλου CNN σε ηπατικές δομές	100
4.13	Θηκογράμματα οπτικοποίησης σφάλματος πρόβλεψης CNN	101
4.14	Οπτικοποίηση ενεργοποιήσεων σε μοντέλα CNN	103
4.15	Διάγραμμα ροής της συμβατικής μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους	105
4.16	Απεικόνιση των τεσσάρων εξεταζόμενων ιστολογικών αντικειμένων παγκρέα- τος	106
4.17	Οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων εξισορρόπησης κλάσεων Borderline - SMO- TE	109
4.18	Οπτικοποίηση της συμβατικής μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους . .	113
4.19	Διάγραμμα ροής της βαθιάς μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους . . .	115
4.20	Οπτική αναπαράσταση της εξαγωγής παγκρεατικών δεδομένων εκπαίδευσης .	115
4.21	Ανάλυση καμπυλών ROC και PRC ανά κλάση παγκρέατος	122
4.22	Παρουσίαση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης της μεθόδου ensemble CNN .	123
4.23	Grad-CAM και LIME απεικόνιση πληροφοριακών χαρακτηριστικών σε μι- κροσκοπικές δομές παγκρέατος	126
4.24	Οπτικοποίηση της βαθιάς μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους	129
4.25	Οπτική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων ομοιότητας Dice κατάτμησης λίπους	130
4.26	Προσαρμοσμένη βαθύτερη αρχιτεκτονική CNN για την ταξινόμηση δομών μικροσκοπίας	134
5.1	Διάγραμμα ροής της διαγνωστικής διαδικασίας του διαυγοκυτταρικού νεφρι- κού καρκινώματος	143
5.2	Οπτική αναπαράσταση του σταδίου επισημείωσης αντικειμένων νεφρικής κα- κοήθειας	145
6.1	Κατά ζεύγη συσχετίσεις χαρακτηριστικών του συνόλου δεδομένων παγκρέατος	161
6.2	Σημαιολογική κατάτμηση ευρημάτων ενδιαφέροντος σε δείγμα βιοψίας NAFLD- NASH	166
6.3	Δείγμα βιοψίας με θορυβώδη τεχνουργήματα εντός της ιστολογικής περιοχής	168

Κατάλογος Πινάκων

3.1	Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου κατάτμησης εικόνας	60
3.2	Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου κατάτμησης εικόνας	69
4.1	Εξαγωγή χαρακτηριστικών από επισημειώσεις ιστολογικών περιοχών	82
4.2	Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου ταξινόμησης	88
4.3	Σφάλμα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου ταξινόμησης	89
4.4	Έκθεση ταξινόμησης δομών ήπατος για το προσαρμοσμένο μοντέλο CNN	99
4.5	Σύγκριση της CNN _{SGDM} απόδοσης με α) προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN και β) έναν συμβατικό ταξινομητή νευρωνικού δικτύου MLP	102
4.6	Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου μηχανικής μάθησης	111
4.7	Σφάλμα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου μηχανικής μάθησης	112
4.8	Τεχνικές επαύξησης επιθεμάτων εικόνας για εξισορρόπηση παγκρεατικών κλάσεων	117
4.9	Εφαρμοσμένες παράμετροι για μεταφορά μάθησης σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN	118
4.10	Σύγκριση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης στο σύνολο δεδομένων παγκρέατος	121
4.11	Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου βαθιάς μάθησης	127
4.12	Σφάλμα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου βαθιάς μάθησης	128
4.13	Ομοιότητα κατάτμησης παγκρεατικού λίπους Sorensen-Dice	131
4.14	Χρόνοι εκπαίδευσης του προσαρμοσμένου και των προεκπαιδευμένων αρχιτεκτονικών CNN	135
4.15	Σύγκριση της απόδοσης ταξινόμησης μεταξύ των μοντέλων CNN στο υπό-σύνολο δοκιμής ήπατος	136
5.1	Σύστημα Kleiner για τη διαβάθμιση δραστηριότητας NAFLD	139
5.2	Δείκτες ιστολογικής δραστηριότητας για τη διαβάθμιση της ηπατικής ίνωσης και χίρρωσης	140
5.3	Σύστημα πυρηνικής βαθμολόγησης Fuhrman	141
5.4	Βελτιστοποίηση υπερπαραμέτρων κατά τον λεπτομερή συντονισμό CNN	152
5.5	Βελτιστοποίηση υπερπαραμέτρων στη διοχέτευση μηχανικής μάθησης	154
5.6	Βέλτιστες λύσεις Pareto του υβριδικού ταξινομητή ExpanderNet με χρήση της Μπεύζιανής βελτιστοποίησης	155

Επιτελική Σύνοψη

Η βιοψία είναι η εξέταση η οποία δίδει την πλήρη εικόνα της παθολογικής κατάστασης των ιστών του ασθενούς και αποτελεί βασικό παράγοντα για τον καθορισμό της επακόλουθης θεραπείας της νόσου. Αυτό έχει οδηγήσει στη ανάδειξη ενός σχετικά νέου τομέα έρευνας, με σημαντική ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια, με επίκεντρο την αξιολόγηση των ιστολογικών ευρημάτων με βάση τους ψηφιακούς μικροσκοπικούς σαρωτές. Κύριος στόχος του είναι η επεξεργασία εικόνων από δείγματα βιοψίας για την ακριβή ποσοτική τους ανάλυση και τη δυνατότητα λήψης έγκυρων διαγνωστικών αποφάσεων. Κατά συνέπεια, οι ιατροί αποφαινόμενοι αν η πάθηση είναι φαρμακευτικά ιάσιμη ή εάν κάποιο όργανο πρέπει να αφαιρεθεί ή να αντικατασταθεί με μόσχευμα.

Στόχος του διδακτορικού είναι η εφαρμογή σύγχρονων τεχνικών ανάλυσης εικόνας για την ακριβή ποσοτική αξιολόγηση της εξάπλωσης ασθενικών ευρημάτων σε μικροσκοπικά δείγματα βιοψίας ήπατος, παγκρέατος και νεφρών και η μείωση των διαγνωστικών σφαλμάτων που προκύπτουν από τις ημιποσοτικές οπτικές αξιολογήσεις των κλινικών ιατρών. Η συγκεκριμένη κατεύθυνση οδήγησε στην υλοποίηση καινοτόμων μεθοδολογιών υπολογιστικής όρασης για την ποσοτική αξιολόγηση της συσσώρευσης λίπους σε ψηφιοποιημένα ιστολογικά δείγματα βιοψίας από ασθενείς με μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο και μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο. Τα ευρήματα των αυτοματοποιημένων εργαλείων δείχνουν μικρή διαγνωστική απόκλιση από τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις ειδικών ιστοπαθολόγων, τονίζοντας την αξιοπιστία τους και την αναγκαιότητα υιοθέτησής τους στην σύγχρονη κλινική πρακτική.

Και οι δύο παραπάνω παθήσεις, μπορούν να οδηγήσουν σε μη-αναστρέψιμες επιπλοκές και να αυξήσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου και μετάστασης σε άλλα όργανα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα κακοήθους διήθησης είναι το διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (ccRCC), ο πιο διαδεδομένος καρκίνος του ουροποιητικού συστήματος. Στο πλαίσιο της διδακτορικής έρευνας, αναπτύχθηκε μια μεθοδολογία για τον εντοπισμό κυτταρικών ανωμαλιών σε εικόνες βιοψίας νεφρού που συμβάλουν στην εξέλιξη του ccRCC σύμφωνα με το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman. Με βάση αυτή την έρευνα, σε μια επόμενη μεταδιδακτορική φάση, το διαγνωστικό σύστημα θα χρησιμοποιηθεί περαιτέρω για την εκτέλεση βαθμολόγησης των ανιχνευόμενων δομών για τη σταδιοποίηση κατά Fuhrman του ccRCC.

1. **Επιστημονικό Πεδίο:** Φυσικές Επιστήμες
Θεματική Ενότητα: Επιστήμη Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και Πληροφορική, Τεχνητή Νοημοσύνη
2. **Επιστημονικό Πεδίο:** Επιστήμες Μηχανικού και Τεχνολογία
Θεματική Ενότητα: Βιοϊατρική Μηχανική, Βιοϊατρική Μηχανική

Λέξεις-Κλειδιά:

Ψηφιακή Παθολογία, Ιατρική Απεικόνιση, Ψηφιακή Επεξεργασία Εικόνας, Κατάτμηση Εικόνας, Μηχανική Μάθηση, Βαθιά Μάθηση

Executive Summary

The biopsy is the examination that gives the full picture of the pathological state of the patient's tissues and is a key factor in determining the subsequent treatment of the disease. This has led to the emergence of a relatively new field of research, with significant growth in recent years, focusing on the evaluation of histological findings via digital microscopic scanners. Its primary objective is the processing of biopsy sample images for their accurate quantitative analysis and the possibility of making valid diagnostic decisions. Consequently, doctors decide whether the condition is pharmacologically treatable or whether an organ needs to be removed or replaced with a transplant.

The aim of this PhD is to apply modern image analysis techniques for the accurate quantitative evaluation of the spread of pathological findings in microscopic liver, pancreatic and kidney biopsy samples and to reduce diagnostic errors resulting from clinicians' semi-quantitative visual estimates. This direction has led to the implementation of novel computer vision methodologies for the quantitative measurement of fat accumulation in digitized histological biopsy samples from patients with non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic fatty pancreas disease. The findings of the automated tools show little diagnostic deviation from the semi-quantitative assessments of expert histopathologists, emphasizing their reliability and the necessity of adopting them in modern clinical practice.

Both the above conditions, can lead to irreversible complications and increase the risk of cancer development and metastasis to other organs. A typical example of malignant infiltration is clear cell renal cell carcinoma (ccRCC), the most common cancer of the urinary system. In the context of the doctoral research, a methodology was developed for the detection of cellular abnormalities in kidney biopsy images that contribute to the progression of ccRCC according to the Fuhrman scoring system. Based on this research, in a subsequent postdoctoral phase, the diagnostic system will be further used to perform the grading of detected structures for the Fuhrman staging of ccRCC.

1. **Discipline:** *Natural Sciences*

Subject Area: *Computer and Information Sciences, Artificial Intelligence*

2. **Discipline:** *Engineering and Technology*

Subject Area: *Biomedical Engineering, Biomedical Engineering*

Keywords:

Digital Pathology, Medical Imaging, Digital Image Processing, Image Segmentation, Machine Learning, Deep Learning

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή: Σκοπός, Υπόβαθρο και Οργάνωση της Διατριβής

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται το αντικείμενο της διδακτορικής έρευνας, η δομή της διατριβής, η οποία χωρίζεται σε 6 κεφάλαια και οι κύριοι στόχοι που τέθηκαν για την εκπόνησή της. Στη συνέχεια αναλύεται συνοπτικά το αντικείμενο της ψηφιακής μικροσκοπίας, καθώς και οι λόγοι που την καθιστούν ως το χρυσό πρότυπο σε σύγκριση με κλασικές μεθόδους ιατρικής απεικόνισης τα τελευταία χρόνια. Το κεφάλαιο ολοκληρώνεται με μια ανασκόπηση των διαθέσιμων εμπορικών εργαλείων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση των εικόνων ιστολογίας.

1.1 Σκοπός και Οργάνωση της Διατριβής

Παρόλο που τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην αποκάλυψη των γενετικών μηχανισμών που διέπουν τη μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD) και τη μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease - NAFPD), οι κλινικές δοκιμές δεν έχουν ακόμη αποδείξει κάποια αποτελεσματική μορφή φαρμακοθεραπείας για τις παθήσεις αυτές. Η προοδευτική μορφή των NAFLD και NAFPD ως μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα (Non-Alcoholic Steatohepatitis - NASH) και μη-αλκοολική στεατοπαγκρεατίτιδα (Non-Alcoholic Steatopancreatitis - NASP), αντίστοιχα, σε προχωρημένους βαθμούς εξάπλωσης οδηγεί σε σοβαρά συμπτώματα χρόνιας φλεγμονής και ιστολογικής ίνωσης, τα οποία με τη σειρά τους αυξάνουν τις πιθανότητες ανάπτυξης του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Hepatocellular Carcinoma - HCC) και καρκίνου του παγκρέατος, ως η τελικού σταδίου ηπατική και παγκρεατική νόσος. Όσον αφορά άλλες κρίσιμες παθολογίες, την τελευταία δεκαετία έχει επιτευχθεί τεράστια πρόοδος με τη χρήση στοχευμένων αντικαρκινικών παραγόντων για τη θεραπεία του μεταστατικού νεφροκυτταρικού καρκινώματος (Renal Cell Carcinoma - RCC), αλλά η ακριβής ταυτοποίηση και σταδιοποίηση της νόσου αποτελεί μια διαγνωστική πρόκληση λόγω του συνδυασμού ογκολογικών χαρακτηριστικών από διάφορους υποτύπους του καρκίνου.

Η παραδοσιακή εξέταση των προαναφερθέντων διαταραχών από ένα παθολόγο περιλαμβάνει, στις περισσότερες περιπτώσεις, μια μακρά και υποκειμενική οπτική ερμηνεία των διαφανειών βιοψίας μέσω μικροσκοπίου. Αυτό οδηγεί σε ένα σύννητες διαγνωστικό εμπόδιο ονομαζόμενο ως μεταβλητότητα του ενός παρατηρητή (intra-observer) ή μεταξύ των πολλών παρατηρητών (inter-observer), ως η διαγνωστική ασυμφωνία ακόμη και μεταξύ εξειδικευμένων ιατρών. Οι εν λόγω αποκλίσεις έχουν ως αποτέλεσμα ένα σημαντικό βαθμό ανακρίβειας στην εκτίμηση της προόδου μιας νόσου. Αυτό λόγω του ότι η ιατρική πρακτική μέχρι σήμερα περιορίζεται στις περισσότερες περιπτώσεις στην κατηγοριοποίηση των σταδίων της νόσου με τη χρήση διαβαθμωμένων κλίμακων, όπου οι ειδικοί ιατροί βαθμολογούν τα δείγματα βιοψίας στην κλίμακα κατόπιν οπτικής εξέτασης. Αυτό το μοντέλο διάγνωσης είναι γνωστό ότι είναι ανεπαρκές, καθώς είναι ιδιαίτερα εργώδες για τους ειδικούς, βασίζεται στην ατομική υποκειμενικότητα και η ταξινόμηση των περιπτώσεων σε διακριτές βαθμίδες παρέχει μόνο μια γενική εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς.

Τα προαναφερθέντα διαγνωστικά εμπόδια έχουν κινητοποιήσει τον κλάδο της ιστοπαθολογίας για την άμεση εύρεση καινοτόμων λύσεων που θα επιτρέψουν την ποσοτική ερμηνεία των παθήσεων μέσω των εικόνων βιοψίας. Δεδομένου ότι η βιοψία υποδηλώνει μια επεμβατική για τον ασθενή διαδικασία, οι σύγχρονες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη νέων μεθοδολογιών υπολογιστικής όρασης που χρησιμοποιούν τεχνικές ψηφιακής επεξεργασίας εικόνων σε συνδυασμό με αλγόριθμους μηχανικής μάθησης. Επομένως, μια αυτοματοποιημένη και ακριβής εξέταση θα μπορούσε να εξαλείψει τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα που

προκύπτουν από τις υποκειμενικές οπτικές εκτιμήσεις των ιατρών, επιτρέποντάς τους να επωφεληθούν πλήρως από τη χειρουργική επέμβαση και τη χρονοβόρα διαδικασία προετοιμασίας των πλακιδίων βιοψίας, από τη χρώση του ιστολογικού δείγματος έως τη σταθεροποίηση και την τοποθέτησή του εντός της διαφάνειας. Η προσέγγιση αυτή μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της παθολογικής κατάστασης του ασθενούς μέσω άμεσης θεραπευτικής παρέμβασης, ακόμη και αν απαιτείται μεταμόσχευση οργάνου σε περιπτώσεις μη-αναστρέψιμης εξέλιξης της νόσου σε τελικό στάδιο.

Έχοντας τα παραπάνω ως βάση, στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η δημιουργία μεθόδων υπολογιστικής όρασης για την διάγνωση παθολογιών που περιλαμβάνουν ιστολογικές κυτταρικές αλλοιώσεις και καρκινογόνα τμήματα σε ψηφιοποιημένα ιστολογικά δείγματα βιοψίας από διάφορα όργανα ανθρώπινων δοτών. Η διατριβή αποσκοπεί επίσης στην αντιμετώπιση του ζητήματος της ημιποσοτικής αξιολόγησής των δειγμάτων αυτών στις σύγχρονες κλινικές εγκαταστάσεις. Σε γενικές γραμμές η έρευνα εστιάζει: α) στη διερεύνηση των αιτιών ενός ελλειμματικού μεταβολικού μηχανισμού που οδηγεί σε στεάτωση (διήθηση λίπους) στον ηπατικό και παγκρεατικό ιστό, β) στην ανάπτυξη μεθόδων για τον διαχωρισμό της κυτταρικής διόγκωσης και την ποσοτικοποίηση του βαθμού συσσώρευσης λίπους στα όργανα αυτά και γ) στη μελέτη της δομής των καρκινικών κυττάρων σε δείγματα βιοψίας νεφρού με στόχο τη σταδιοποίηση τους.

Για τη μελέτη της ηπατικής στεάτωσης επετεύχθη συνεργασία του τμήματος Τηλεπληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών με τα τμήματα Χειρουργικής και Ιστοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Imperial του Λονδίνου¹, που οδήγησε σε τέσσερις μεθοδολογίες διαχωρισμού δομών ηπατοκυτταρικής διόγκωσης από αντίστοιχες λιπώδεις σε χορηγούμενα ιστολογικά δείγματα ασθενών με NAFLD και NASH.

- Το συνεδριακό άρθρο [1] εστιάζει στην υλοποίηση ενός νέου βαθύ συνελικτικού νευρωνικού δικτύου (Convolutional Neural Network - CNN), έτσι ώστε να μπορεί μετέπειτα να εκτελεί πλήρως αυτοματοποιημένες διαφοροποιήσεις των NAFLD και NASH ασθενικών δομών (λιποκύτταρα, ηπατοκυτταρική διόγκωση) από τις αντίστοιχες υγιείς (κολποειδή, ηπατικές φλέβες). Ως τελευταίο, εξετάζεται η ακρίβεια ταξινόμησης του βαθύ μοντέλου, καθώς και η οπτικοποίηση των γνωσιακών ιστολογικών χαρακτηριστικών σε διάφορα επίπεδα συνέλιξης του CNN.
- Η δημοσιευμένη εργασία [2] αποτελεί επέκταση του συνεδριακού άρθρου [1], όπου εξετάζεται η διαδικασία εκπαίδευσης της νέας αρχιτεκτονικής CNN με διαφορετικούς αλγόριθμους οπισθοδιάδοσης σφάλματος για την ταξινόμηση των τεσσάρων ιστολογικών δομών ήπατος. Έπειτα, η απόδοση του μοντέλου με τον βέλτιστο αλγόριθμο οπισθοδιάδοσης σφάλματος τίθεται σε σύγκριση με την αντίστοιχη προερχόμενη από προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN και ενός συμβατικού Πολυεπίπεδου Αντίληπτρου.

¹<https://www.imperial.ac.uk/metabolism-digestion-reproduction>

- Το προτεινόμενο έργο [3] αποσκοπεί στη βελτίωση των μεθόδων [1, 2] για την ταξινόμηση τεσσάρων διαφορετικών ανατομιών ηπατικού ιστού. Αυτό επιτυγχάνεται με την εκπαίδευση ενός βαθύτερου CNN με υποπαράθυρα εικόνας μεγαλύτερης διάστασης ως δεδομένα εισόδου. Η προκύπτουσα απόδοση ταξινόμησης συγκρίνεται έπειτα με την αντίστοιχη προ-εκπαιδευμένων αρχιτεκτονικών CNN στις οποίες εφαρμόζεται η τεχνική της μεταφοράς μάθησης (transfer learning).
- Στο άρθρο [4] παρουσιάζεται μια συνδυαστική μέθοδος με χρήση τεχνικών κατάτμησης εικόνας και ταξινόμησης πολλαπλών ιστολογικών αντικειμένων για την ανάλυση ψηφιοποιημένων δειγμάτων μικροσκοπίας ήπατος. Η μελέτη χρησιμοποιεί έναν αλγόριθμο Γραμματικής Εξέλιξης για τον διαχωρισμό των λιπιδίων δομών από λοιπά ασθενικά (διογκώσεις) και υγιή αντικείμενα (κολποειδή, φλέβες), με στόχο την αντικειμενική ποσοτικοποίηση της εναπόθεσης λίπους στον ηπατικό ιστό.

Ομοίως, μια συνεργασία με την Ιατρική Σχολή της Οξφόρδης² οδήγησε στη δημιουργία δύο μεθοδολογικών προσεγγίσεων για τη διερεύνηση της λιπώδους διήθησης σε 20 χορηγούμενα δείγματα βιοψίας παγκρέατος, οι οποίες θα μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στη ενδεδειγμένη παρακολούθηση της εξέλιξης της NAFLD.

- Στη συνεδριακή μελέτη [5] αναπτύσσεται επί της αρχής μια πλήρης διαγνωστική μέθοδος για την ποσοτική μέτρηση της επικράτησης λίπους σε δείγματα βιοψίας παγκρέατος με NAFLD. Η μέθοδος περιλαμβάνει την εκπαίδευση μοντέλων μηχανικής μάθησης για την αναγνώριση ανιχνεύσιμων υποψήφιων περιοχών διήθησης λίπους, την ποσοτικοποίηση του NAFLD βαθμού στεάτωσης και την εκτίμηση του απόλυτου διαγνωστικού σφάλματος σε σχέση με ημιποσοτικές εκτιμήσεις παθολόγων από χειροκίνητη επισημείωση.
- Το δημοσιευμένο άρθρο [6] επεκτείνει την προηγούμενη μεθοδολογική προσέγγιση [5] παρουσιάζοντας ένα πλήρες αυτοματοποιημένο διαγνωστικό εργαλείο για την ποσοτικοποίηση του επιπολασμού της παγκρεατικής στεάτωσης σε ιστολογικά δείγματα με διαφορετικούς βαθμούς NAFLD. Το προτεινόμενο υπολογιστικό σύστημα αποτελείται από τεχνικές επεξεργασίας εικόνας για την κατάτμηση των υποψήφιων αντικειμένων λίπους και πολλαπλών συνελκτικών νευρωνικών δικτύων σε ομάδα (ensemble CNN) για τον προσδιορισμό των αληθώς θετικών λιποκυττάρων μέσω ενός συστήματος ψηφοφορίας.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το RCC περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα κακοηθειών με διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά και μοριακές αλλοιώσεις. Για την αντιμετώπιση αυτού του σύνθετου διαγνωστικού προβλήματος, δημιουργήθηκε μια συνεργατική προσπάθεια με την Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων³ και την Ουρολογική Κλινική

²<https://www.ox.ac.uk/admissions/undergraduate/courses/course-listing/medicine>

³<https://med.uoi.gr>

του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα⁴. Στόχος υπήρξε η ανάπτυξη αυτοματοποιημένων μοντέλων για τη σταδιοποίηση του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος σε 31 χορηγούμενα πλακίδια βιοψίας νεφρού.

- Στόχος της μελέτης [7] είναι να εντοπιστούν κυτταρικές ανωμαλίες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (clear cell Renal Cell Carcinoma - ccRCC). Η αναπτυσσόμενη μεθοδολογία εφαρμόζει τεχνικές κατάτμησης εικόνας για την ανίχνευση κυκλικών καρκινικών αντικειμένων ενδιαφέροντος και βελτιστοποίησης υπερπαραμέτρων σε ένα υβριδικό μοντέλο εξαγωγής χαρακτηριστικών με βαθιά CNN σε συνδυασμό με μια συμβατική διοχέτευση-διασωλήνωση (pipeline) μηχανικής μάθησης. Σε επικείμενη μεταδιδακτορική έρευνα, θα δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στη χρήση του εκπαιδευμένου υβριδικού συστήματος για τον προσδιορισμό του επικρατούντος σταδίου κακοήθειας με βάση τα ταξινομημένα αντικείμενα κατάτμησης ccRCC, λαμβάνοντας υπόψη το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman.

Στις επόμενες ενότητες του τρέχοντος κεφαλαίου καλύπτονται οι θεμελιώδεις πτυχές της ψηφιακής μικροσκοπίας και πως έχει καταστήσει δυνατή τη λεπτομερή παρατήρηση ιστολογικών παθολογιών με τη χρήση σύγχρονων τεχνικών υπολογιστικής όρασης. Έπειτα, παρουσιάζονται συνοπτικά ορισμένα από τα εμπορικά εργαλεία που μπορούν να εφαρμοστούν για την επεξεργασία εικόνων μικροσκοπίας, με έμφαση στις πιο εμφανείς διαφορές στις αναλυτικές τους προσεγγίσεις.

Συνεχίζοντας, το Κεφάλαιο 2 προσφέρει μια συνοπτική και περιεκτική ανασκόπηση τόσο των πρώιμων όσο και των σύγχρονων πειραματικών μελετών που σχετίζονται με κάθε ιστοδιαγνωστικό πρόβλημα που εξετάζει η παρούσα διδακτορική έρευνα.

Στα επόμενα τρία κεφάλαια παρέχονται λεπτομερείς περιγραφές των μεθοδολογικών προσεγγίσεων που αναπτύχθηκαν στο πλαίσιο της διατριβής για την αυτοματοποιημένη ποσοτική αξιολόγηση της ιστολογικής εξάπλωσης των ευρημάτων NAFLD και NAFPD, καθώς και της σταδιοποίησης του υποτύπου ccRCC του νεφροκυτταρικού καρκινώματος.

Το Κεφάλαιο 3 αναλύει λεπτομερώς τα βήματα που ακολουθούνται για την ανίχνευση ασθενικών ανατομικών δομών. Έμφαση δίνεται στη χρήση τεχνικών βελτίωσης εικόνας και στην κατάτμηση ιστολογικών περιοχών ενδιαφέροντος, πριν από την ανάλυσή τους σε μεταγενέστερες φάσεις εποπτευόμενης μάθησης για την τελική ποσοτική διάγνωση των προαναφερθέντων διαταραχών.

Στο Κεφάλαιο 4 περιγράφονται οι συμβατικές μέθοδοι μηχανικής μάθησης και οι αλγόριθμοι βαθιάς μάθησης που εφαρμόζονται στα στάδια ταξινόμησης. Αυτές οι μέθοδοι επιτρέπουν τον ακριβή χαρακτηρισμό κάθε προηγούμενως κατατμημένης ιστολογικής δομής ενδιαφέροντος

⁴<https://www.gni-hatzikosta.gr/medical.html>

(Κεφάλαιο 3) και την εξάλειψη των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ανίχνευσης, οδηγώντας σε ορθότερες ποσοτικές ερμηνείες των εξεταζόμενων παθολογικών καταστάσεων.

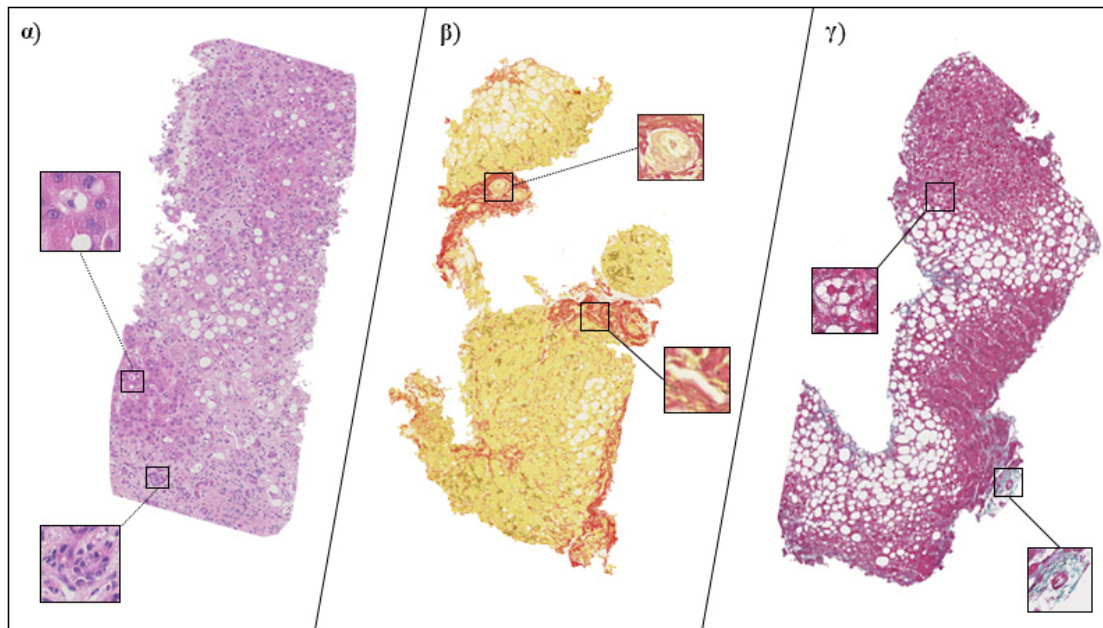
Στο Κεφάλαιο 5 συζητούνται τα μειονεκτήματα των συστημάτων διαβάθμισης ή δεικτών για την παρακολούθηση των ασθενικών δομών στον ηπατικό και νεφρικό ιστό, τονίζοντας τους περιορισμούς των ποιοτικών εκτιμήσεων που γίνονται από τους ανθρώπινους παρατηρητές/ιατρούς. Στην ενότητα που ακολουθεί παρουσιάζεται η πρώτη φάση μιας υπολογιστικής μεθόδου που ενσωματώνει το σύστημα βαθμονόμησης Fuhrman, η οποία προορίζεται για μελλοντική έρευνα με επίκεντρο την ποσοτικοποίηση της εξάπλωσης του ccRCC, η οποία ενδέχεται να εξαλείψει τη διαγνωστική αβεβαιότητα σε μικροσκοπικά δείγματα βιοψίας.

Το Κεφάλαιο 6 συνοψίζει τα ευρήματα της διεξαχθείσας διδακτορικής έρευνας και τη συμβολή των προτεινόμενων μεθοδολογιών στην επιστημονική κοινότητα, σε σύγκριση με προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες.

1.2 Ψηφιακή Μικροσκοπία

Παρότι τις ετήσιες προσπάθειες της ερευνητικής κοινότητας να αξιοποιηθεί στο μέγιστο η φύση των μη-επεμβατικών μεθόδων ιατρικής απεικόνισης, όπως η υπολογιστική-αξονική τομογραφία (Computed Tomography - CT), η υπερηχογραφία (Ultrasound - US) και η μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging - MRI), η μικροσκοπική ανάλυση των εικόνων βιοψίας παραμένει το χρυσό πρότυπο στη σύγχρονη διαγνωστική. Ενώ οι CT, US και MRI μπορούν να παρέχουν κάποιες πληροφορίες σχετικά με μια πάθηση, η χρήση της οπτικής μικροσκοπίας για την εξέταση των ιστολογικών ευρημάτων μπορεί να αποδώσει ακριβείς λεπτομέρειες σχετικά με τις ανατομικές δομές τους, επιτρέποντας ακριβέστερες ποσοτικές εκτιμήσεις και τη σταδιοποίηση της εξέλιξής τους.

Η προετοιμασία των μικροσκοπικών δειγμάτων είναι μια τυπική διαδικασία που περιλαμβάνει τη μονιμοποίηση-διατήρηση των βιοψιών με φορμαλίνη και τη σταθεροποίησή τους με παραφίνη. Στη συνέχεια, τα δείγματα πάχους 2 - 4 μm βάζονται με ιστολογικές χρώσεις για την ανάδειξη των συστατικών του ιστού που σχετίζονται με την πάσχουσα κατάσταση. Ενώ διάφορες ιστολογικές χρώσεις, όπως η Sirius Red και η Masson's trichrome, έχουν χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές, ειδικά στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης, η Αιματοξυλίνη και Ηωσίνη (Hematoxylin and Eosin - H&E) έχει καθιερωθεί ως το χρυσό πρότυπο μεταξύ των χρώσεων για την αποκάλυψη των ιστολογικών μεταβολών σε δείγματα βιοψίας (Εικόνα 1.1), όπως τα δομικά χαρακτηριστικά των υγιών ή ασθενικών κυττάρων [8]. Τα χρωματισμένα δείγματα ενσωματώνονται στο τέλος σε πλακίδια βιοψίας διαστάσεων 26 × 76 mm πριν υποβληθούν σε μικροσκοπική εξέταση.

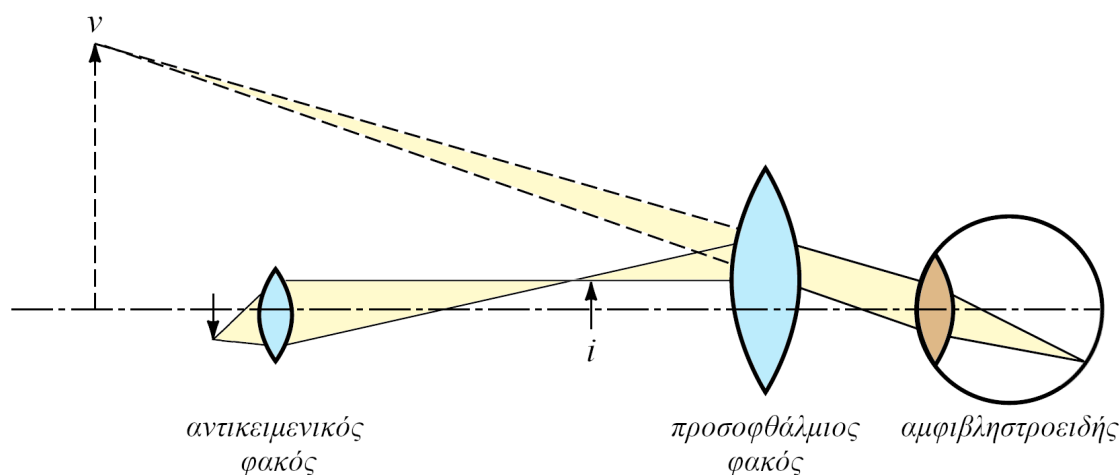


Εικόνα 1.1. Εικόνες βιοψίας ήπατος με τρεις από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες ιστολογικές χρώσεις: (α) Αιματοξυλίνη και Ηωσίνη (H&E), (β) Sirius Red (SR) και (γ) Masson's trichrome (MT). Στο δείγμα H&E η Αιματοξυλίνη χρωματίζει τους κυτταρικούς πυρήνες και τα νουκλεϊκά οξέα με μπλε χρώμα, ενώ η Ηωσίνη βάφει την εξωκυττάρια μήτρα και το κυτταρόπλασμα με ροζ. Στο δείγμα SR, η πλειονότητα των ιστολογικών αντικειμένων χρωματίζεται με κίτρινο χρώμα, το οποίο συμβάλλει στην ανάδειξη των κόκκινων ινών κολλαγόνου που ενδέχεται να περιβάλλουν υγιείς δομές, όπως οι ηπατικές φλέβες και τα κολποειδή. Η MT χρωματίζει τις περισσότερες δομές με σκούρο κόκκινο/μοβ χρώμα, προκειμένου να αποκαλυφθούν οι μπλε περιοχές συσσώρευσης κολλαγόνου [9].

Ορισμένα παραδείγματα ψηφιακών εργαλείων μικροσκοπίας είναι η σειρά Nanozoomer της Hamamatu (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Ιαπωνία), η σειρά Aperio της Leica (Leica Biosystems, Wetzlar, Γερμανία), οι σειρές BX, BXFM και GX της Olympus (Olympus Inspection Solutions, Waltham, Massachusetts, ΗΠΑ), τα προϊόντα OptraScan και BioPipeline Slide της Nikon (Nikon Instruments Inc., Melville, NY, ΗΠΑ) και η σειρά AXIO της ZEISS Microscopy (Carl Zeiss Microscopy, White Plains, NY, ΗΠΑ). Οι συγκεκριμένοι μικροσκοπικοί σαρωτές υποστηρίζονται από λογισμικό που επιτρέπει στους χρήστες να ρυθμίζουν τη μεγέθυνση στα δείγματα, να εξάγουν ψηφιοποιημένες τομές σε αρχεία επέκτασης JPEG, Bitmap, TIFF κ.λ.π. και να επισημαίνουν τα αντικείμενα ενδιαφέροντος για ημιποσοτική και αυτοματοποιημένη ανάλυση.

Οι θεμελιώδεις αρχές της οπτικής μικροσκοπίας (light microscopy) βασίζονται σε δύο σημαντικά στοιχεία: 1) τον αντικειμενικό φακό (objective) και 2) το προσοφθάλμιο (ocular). Ο αντικειμενικός φακός εξετάζει το δείγμα δημιουργώντας μια ενδιάμεση εικόνα στο οπτικό επίπεδο (image plane) του προσοφθάλμιου φακού, η οποία είναι μια πραγματική μεγεθυμένη εικόνα του υπό εξέταση βιολογικού δείγματος. Η ενδιάμεση εικόνα παρατηρείται στη συνέχεια μέσω του προσοφθάλμιου φακού και από το ανθρώπινο όργανο παρατήρησης (οφθαλμός), σχηματίζοντας μια δεύτερη πραγματική εικόνα στον αμφιβληστροειδή (retina)

(Εικόνα 1.2). Κατά συνέπεια, ο εγκέφαλος αντιλαμβάνεται και ερμηνεύει αυτή τη δεύτερη πραγματική εικόνα ως μια μεγεθυμένη “εικονική” εικόνα που βρίσκεται σε απόσταση 25 cm από τον οφθαλμό. Στην περίπτωση ενός μικροσκοπικού σαρωτή, η ενδιάμεση εικόνα εγγράφεται απευθείας στο μέσο λήψης (κάμερα) ώστε να προβληθεί ως πραγματική εικόνα στη συσκευή απεικόνισης (οθόνη).



Εικόνα 1.2. Βασικά στοιχεία οπτικής μικροσκοπίας: Το βιολογικό δείγμα βρίσκεται στο σημείο s , δηλαδή στην εξωτερική πλευρά του αντικειμενικού φακού. Ο αντικειμενικός φακός δημιουργεί μια πραγματική μεγεθυμένη (ενδιάμεση) εικόνα i στο οπτικό επίπεδο του προσοφθάλμιου φακού. Στο τέλος, ο αμφιβληστροειδής του οφθαλμού αντιλαμβάνεται το μεγεθυμένο αντικείμενο ως εικονική εικόνα στο σημείο v .

Συνοπτικά, ο αντικειμενικός και ο προσοφθάλμιος φακός συνεργάζονται για να παράγουν την τελική μεγέθυνση (magnification) της εικόνας, η οποία μπορεί να εκφραστεί από την ακόλουθη εξίσωση:

$$M_{final} = M_{obj} \times M_{oc} \quad (1.1)$$

όπου M_{final} είναι η τελική μεγέθυνση του δείγματος, που προκύπτει ως το γινόμενο της μεγέθυνσης του αντικειμενικού φακού M_{obj} και της μεγέθυνσης του προσοφθάλμιου M_{oc} . Για παράδειγμα, εάν ο προσοφθάλμιος φακός έχει μεγέθυνση $10\times$ και ο αντικειμενικός $4\times$, η τελική μεγέθυνση που παράγεται σύμφωνα με την Εξ.1.1 είναι $40\times$.

Ο προσοφθάλμιος φακός έχει δύο τεχνικά χαρακτηριστικά που αναγράφονται στην κάννη του: 1) το οπτικό πεδίο και 2) τη μεγεθυντική ισχύ. Για παράδειγμα, η σήμανση “ $10\times/20$ ” υποδηλώνει μεγέθυνση $10\times$ και οπτικό πεδίο διαμέτρου 20 mm. Σε συνδυασμό με μια μεγέθυνση $100\times$ του αντικειμενικού φακού, ο προσοφθάλμιος παρέχει οπτικό πεδίο με διάμετρο $20 \text{ mm}/100 = 200 \mu\text{m}$ για το εξεταζόμενο δείγμα [10].

Αναφορικά με τη κυτταρική μικροσκοπία, η πλειονότητα των εργασιών εκτελείται χρησιμοποιώντας μεγεθυντικές δυνάμεις ή δυνατότητες μεγέθυνσης $40\times - 100\times$, καθώς προσφέρουν

μια ισορροπία μεταξύ της ποιότητας της εικόνας και των πόρων επεξεργασίας ενός υπολογιστικού συστήματος [9].

Μιας και κάθε ιστολογική εικόνα χαρακτηρίζεται από ένα διευρυμένο φάσμα πληροφοριών, η μη-αυτόματη ανάλυση των δεδομένων της θεωρείται αναποτελεσματική έως και αδύνατη. Ως εκ τούτου, προκειμένου να αυξηθεί σημαντικά η αποτελεσματικότητα και η αντικειμενικότητα της τελικής διάγνωσης, η υποβοηθούμενη από υπολογιστή διάγνωση (Computer-Aided Diagnosis - CAD) έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ευρέως στον εντοπισμό ιστολογικών ανωμαλιών.

Η ψηφιακή επεξεργασία εικόνων μικροσκοπίας σχετίζεται με μια συλλογή τεχνικών που επιδιώκουν να προσδώσουν μια μορφή πιο κατάλληλη για ανάλυση από έναν άνθρωπο ή μια CAD. Δημοφιλείς εφαρμογές βασίζονται σε τεχνικές μείωσης του θορύβου και ενίσχυσης της αντίθεσης, ενώ άλλες στους μορφολογικούς τελεστές για την εξάλειψη ατελειών και περιττών δομών σε μια εικόνα. Για τον εντοπισμό αντικειμένων έχουν εφαρμοστεί διάφορες τεχνικές κατάτμησης, όπως η κατωφλίωση ιστογράμματος, ο μετασχηματισμός λεκάνης απορροής (watershed) και η ανίχνευση ακμών με βάση τα ενεργά περιγράμματα. Σύγχρονα προβλήματα υπολογιστικής όρασης, όπως η αναγνώριση προτύπων, έχουν προσεγγιστεί με τεχνικές μηχανικής μάθησης (machine learning) και περιλαμβάνουν την εκπαίδευση μοντέλων με παραδείγματα εκπαίδευσης που προέρχονται είτε από ακατέργαστα δεδομένα είτε από επισημειώσεις (annotations), υποδηλώνοντας χειροκίνητα σχολιασμένα χαρακτηριστικά.

Με την πάροδο του χρόνου, οι ασθένειες έχουν γίνει όλο και πιο πολύπλοκες, καθιστώντας δύσκολη την ανάλυση ιατρικών εικόνων με τη χρήση συμβατικών τεχνικών μηχανικής μάθησης. Αυτές οι τεχνικές συνήθως δεν αλληλοεπιδρούν άμεσα με τα ακατέργαστα δεδομένα, αλλά βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στις αναπαραστάσεις τους, απαιτώντας εκτεταμένη ιατρική τεχνογνωσία και προηγμένη μηχανική για την εξόρυξη χρήσιμων πληροφοριών [11]. Ως απάντηση, η ερευνητική κοινότητα έχει στραφεί σε πιο αποτελεσματικές τεχνικές, με τις μεθόδους βαθιάς μάθησης (deep learning) να έχουν αναγνωριστεί ως οι πλέον κατάλληλες για την παροχή πλήρως αυτοματοποιημένων προσεγγίσεων σε προβλήματα κατάτμησης και ταξινόμησης. Τα βαθιά νευρωνικά δίκτυα έχουν επεκταθεί στον τομέα της ιστολογίας για την αυτόματη καταγραφή της ανατομίας και της φυσιολογίας των ασθενικών ευρημάτων και εν τέλει την ποσοτικοποίηση της επικράτησής τους. Μεταξύ των μεθόδων βαθιάς μάθησης, η εκπαίδευση των συνελκτικών νευρωνικών δικτύων είναι ιδιαίτερα δημοφιλής, καθώς απομνημονεύουν τις άκρως απαραίτητες λεπτομέρειες των εικόνων εκπαίδευσης για την αποτελεσματική αναγνώριση των δομών ενδιαφέροντος.

1.3 Εμπορικά Εργαλεία Επεξεργασίας και Ανάλυσης Εικόνων Μικροσκοπίας

Με την έλευση των πλαισίων λογισμικού ανοιχτού κώδικα, η ψηφιακή επεξεργασία εικόνας έχει αναδειχθεί ως ένα ισχυρό εργαλείο για την εξέταση ιστολογικών δειγμάτων σε κυτταρικό επίπεδο, με έναν πρωτοφανή τρόπο υψηλής ανάλυσης. Αν και αυτές οι δημοσίως διαθέσιμες τεχνολογίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επεξεργασία υψηλής απόδοσης, συχνά δεν αποδίδουν βέλτιστα σε δεδομένα εικόνων μικροσκοπίας φωτεινού πεδίου, καθώς μπορεί να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ κλινικών εργαστηρίων, ρυθμίσεων σάρωσης και μεμονωμένων πειραματικών μελετών [11]. Από αυτή την άποψη, η ανάπτυξη λογισμικού προσαρμοσμένης αναγνώρισης προτύπων εικόνας παραμένει η βέλτιστη προσέγγιση για την αυτοματοποίηση και την επιτάχυνση μιας ροής εργασιών για οποιοδήποτε ιστοδιαγνωστικό πρόβλημα. Έχει επίσης σημαντικό θετικό αντίκτυπο στην προσθήκη νέων υπολογιστικών δυνατοτήτων όταν απαιτείται, γεγονός που οδηγεί σε εξοικονόμηση του κόστους συντήρησης μιας διαγνωστικής πλατφόρμας και στο χρόνο που απαιτείται για την εισαγωγή της στους χρήστες του ιατρικού προσωπικού.

1.3.1 ImageJ/Fiji

Το ImageJ [12] είναι λογισμικό ανάλυσης εικόνων ανοιχτού κώδικα γραμμένο σε γλώσσα Java. Αρχικά βασίστηκε στο πρόγραμμα NIH Image που δημιουργήθηκε για υπολογιστές Macintosh, ενώ πλέον τρέχει ως εφαρμογή σε οποιοδήποτε λειτουργικό σύστημα που διαθέτει εικονική μηχανή Java 1.5 ή νεότερη έκδοση. Σε γενικές γραμμές, είναι ένα εξαιρετικά ισχυρό εργαλείο που επιτρέπει την παράλληλη διαχείριση και επεξεργασία πολλαπλών αρχείων εικόνας με πολυνημάτωση. Ως εφαρμογή, έχει τη δυνατότητα επεξεργασίας, ανάλυσης, οπτικοποίησης και αποθήκευσης εικόνων 8-bit, 16-bit και 32-bit διαφόρων τύπων, όπως TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS και Raw. Καλύπτει επίσης κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας, όπως χειρισμό αντίθεσης, εξομάλυνση και ανίχνευση ακμών, καθώς και γεωμετρικούς μετασχηματισμούς, όπως κλιμάκωση (scaling), περιστροφή (rotation) και αναστροφή (flipping) εικόνας. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για τη στατιστική ανάλυση εικόνας, καθώς διευκολύνει την ανάλυση της έντασης των εικονοστοιχείων (pixels), τη μέτρηση αποστάσεων, γωνιών και εμβαδών σε περιοχές ενδιαφέροντος και τη γραφική αναπαράσταση δεδομένων.

Το Fiji αποτελεί μια διαφορετική διανομή του ImageJ που περιλαμβάνει πολλά πρόσθετα (plug-ins) και μακροεντολές (macros). Για να γίνει αυτό εφικτό, το Fiji βασίζεται σε σύγχρονες μεθόδους ανάπτυξης εφαρμογών που μπορούν να διασυνδέσουν ένα εκτενές φάσμα γλωσσών προγραμματισμού με μια ευρεία γκάμα αλγορίθμων ανάλυσης εικόνας, οι οποίοι

με τη σειρά τους μπορούν να διανεμηθούν δωρεάν. Από το 2015, διατίθεται επίσης το ImageJ2 το οποίο φέρει σημαντικές βελτιώσεις στην ανάλυση και επεξεργασία τρισδιάστατων εικόνων.

Στο σύνολό του, το ImageJ έχει την υποστήριξη μιας μεγάλης και ενεργής επιστημονικής κοινότητας, καθιστώντας το ένα από τα σημαντικότερα προγράμματα ανοιχτού κώδικα για την επεξεργασία και ανάλυση εικόνων.

1.3.2 QuPath

Το QuPath [13] είναι μια εφαρμογή λογισμικού ανοιχτού κώδικα με φιλική προς το χρήστη διεπαφή, ειδικά σχεδιασμένη για την ανάλυση εικόνων ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) ιστολογικών δειγμάτων. Διαθέτει έξυπνα εργαλεία για την επιτάχυνση της διαδικασίας ανάλυσης και τη βελτίωση της ακρίβειας επισημείωσης, συμπεριλαμβανομένης της ημιαυτόματης οριοθέτησης με βάση την αντίθεση στα γειτονικά εικονοστοιχεία και προηγμένες δυνατότητες απεικόνισης με μια σύγχρονη διεπαφή JavaFX.

Το QuPath παρέχει ενσωματωμένους αλγόριθμους μηχανικής και βαθιάς μάθησης για αυτόματη ανίχνευση και ταξινόμηση αντικειμένων, καθώς και για την ταξινόμηση μεμονωμένων εικονοστοιχείων σε εικόνες φωτεινού πεδίου (brightfield) και φθορισμού (fluorescent). Χρησιμοποιώντας τα εργαλεία OpenSlide και Bio-Formats, παρέχει επίσης τη δυνατότητα υπολογισμού και εξαγωγής χωρικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών με βάση την ένταση εικονοστοιχείων, καθώς και εξόρυξης δεδομένων μέσω σεναρίων (scripting). Το OpenSlide αναφέρεται σε μια ελαφριά και φιλική προς τον προγραμματιστή βιβλιοθήκη που περιορίζεται σε ανάλυση εικόνων 2D, 8-bit και του RGB χρωματικού χώρου. Το Bio-Formats, από την άλλη πλευρά, μπορεί να υποστηρίξει ένα ευρύτερο φάσμα τύπων εικόνων και πολυδιάστατων δεδομένων, όπως για παράδειγμα z-στοίβες, χρονοσειρές (time series) και πολυπλεξικές εικόνες (multiplexed images).

Εκτός από τη βασική του λειτουργία, το QuPath είναι συμβατό με άλλα δημοφιλή εργαλεία, όπως τα ImageJ, MATLAB, OpenCV, Java Topology Suite και OMERO, καθώς και με εργαλεία για τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης με κλινικά δεδομένα που προέρχονται από άλλους βιοδείκτες. Αυτή η συμβατότητα επιτρέπει στους προγραμματιστές να προσθέσουν τις δικές τους μεθοδολογικές υλοποιήσεις για την επίλυση νέων διαγνωστικών προκλήσεων και τη διευκόλυνση της ανταλλαγής δεδομένων.

1.3.3 CellProfiler

Το CellProfiler [14] είναι ένα λογισμικό ανοιχτού κώδικα που βασίζεται στο MATLAB και αναπτύχθηκε από το Broad Institute του MIT και του Harvard. Επιτρέπει στους

βιολόγους ιατρούς και τους επιστήμονες να εξετάζουν ένα ευρύ φάσμα ανατομικών ευρημάτων σε εικόνες βιολογικών δειγμάτων. Η πλειονότητα των εργασιών μπορεί να εκτελεστεί χρησιμοποιώντας μια φιλική γραφική διεπαφή χρήστη (Graphical User Interface - GUI), χωρίς να χρειάζεται να εμβαθύνει κανείς σε θεωρητικές έννοιες της υπολογιστικής όρασης ή στην ανάπτυξη κώδικα. Ωστόσο, προσφέρει τη δυνατότητα συνδυασμού μεμονωμένων προγραμματιστικών μονάδων (modules) σε μια διοχέτευση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αυτοματοποιημένη ανάλυση εικόνων.

Στο CellProfiler, μια τυπική διοχέτευση περιλαμβάνει τη φόρτωση εικόνων, τη διόρθωση της ανομοιόμορφης φωτεινότητας, τον εντοπισμό αντικειμένων και τη λήψη μετρήσεων για αυτά τα αντικείμενα. Εντός της διοχέτευσης, οι προγραμματιστικές μονάδες μπορούν εύκολα να προστεθούν, να αφαιρεθούν ή να αναδιαταχθούν. Οι μονάδες εκτελούνται σειριακά και μπορεί κανείς να αξιολογήσει την αποτελεσματικότητά τους καθώς εφαρμόζονται στις εικόνες. Αυτό μπορεί να βοηθήσει στη σταδιακή ανάλυση χαρακτηριστικών όπως το μέγεθος, το σχήμα, η ένταση του χρώματος, η υφή (ομαλότητα) και άλλων, οδηγώντας στην ιεραρχική ανίχνευση αντικειμένων, όπως κύτταρα που αποτελούνται από προηγούμενες εντοπιζόμενους πυρήνες που διαχωρίζονται από το υπόβαθρό τους (ιστός). Το λογισμικό παρέχει επίσης τη δυνατότητα απεικόνισης των περιγραμμάτων των ανιχνευόμενων αντικειμένων με τη μορφή μάσκας στην αρχική εικόνα, γεγονός που διευκολύνει την επαλήθευση και τον ποιοτικό έλεγχο της υπολογιστικής ανάλυσης.

Για την επεξεργασία μεγάλου αριθμού εικόνων με το CellProfiler, το σύνολο δεδομένων μπορεί να χωριστεί σε ξεχωριστές παρτίδες (batches) και να διανεμηθεί σε μια συστάδα υπολογιστών ως ανεξάρτητες διεργασίες. Ως τελική σημείωση, μια WSI δεν μπορεί να αναλυθεί από το λογισμικό μόνο του, εκτός εάν ενσωματωθεί σε άλλα εργαλεία, όπως το Orbit, το οποίο θα χωρίσει τις WSIs σε πλακίδια και θα τα στείλει στο CellProfiler για ανάλυση.

1.3.4 ilastik

Το ilastik [15] είναι ένα πρόγραμμα ανοιχτού κώδικα που επιτρέπει σε χρήστες χωρίς εξειδίκευση στην επεξεργασία εικόνας να εκτελούν κατάτμηση και ταξινόμηση εικόνων 2D, 3D και 4D με ενοποιημένο τρόπο. Με άλλα λόγια, μπορεί να αναλύσει έως και τρεις χωρικές (spatial) διαστάσεις και μία φασματική (spectral) διάσταση για τον υπολογισμό χαρακτηριστικών στα αντικείμενα ενδιαφέροντος. Το λογισμικό χρησιμοποιεί έναν ταξινομητή Τυχαίου Δάσους (Random Forest), ο οποίος μαθαίνει από τις ετικέτες κλάσης που παρέχει ο χρήστης μέσω μιας φιλικής GUI. Με βάση αυτές τις ετικέτες, το ilastik εφαρμόζει τις

κατάλληλες κατατμήσεις στην εικόνα και παρέχει στο χρήστη ανατροφοδότηση σε πραγματικό χρόνο, επιτρέποντας τη διαδραστική βελτίωση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης και κατάτμησης.

Πιο τεχνικά, μέσω της κλιμακωτής ταξινόμησης (cascaded classification), το ilastik υποδεικνύει σταδιακά τις περιοχές της εικόνας όπου ο ταξινομητής εξακολουθεί να κάνει λάθη, βελτιώνοντας παράλληλα την απόδοση με βάση τις επισημειώσεις του χρήστη. Αυτό επιτυγχάνεται με την εμφάνιση μιας επικάλυψης (overlay) γνωστής ως χάρτης αβεβαιότητας, που εφιστά την προσοχή στις περιοχές όπου η πρόβλεψη είναι πιο διφορούμενη. Χάρη σε αυτή τη διαδικασία, ο χρήστης καθοδηγείται στην επισημείωση αντικειμένων με πιο πληροφοριακά για τον ταξινομητή χαρακτηριστικά. Αφού εκπαιδευτεί σε ένα σύνολο αντιπροσωπευτικών δειγμάτων για κάθε κλάση, ο ταξινομητής μπορεί να επεξεργαστεί αυτόματα ένα μεγάλο πλήθος εικόνων σε παρτίδες. Το λογισμικό υποστηρίζει επίσης την ενσωμάτωση νέων προγραμματιστικών μονάδων ανάλυσης μέσω ενός μηχανισμού plug-in.

Το κύριο μειονέκτημα του λογισμικού είναι ότι μπορεί να υπολογίσει μόνο τις τοπικές ιδιότητες μεμονωμένων αντικειμένων, όπως η φωτεινότητα, το χρώμα και η υφή, καθώς δεν υποστηρίζει την ταυτόχρονη καταγραφή των ιδιοτήτων άλλων σημείων ενδιαφέροντος. Αυτό σημαίνει ότι δεν μπορούν να αναλυθούν οι χωρικές ιδιότητες συσχέτισης μεταξύ διαφορετικών στοιχείων. Επιπλέον, το λογισμικό δεν έχει σχεδιαστεί για την επεξεργασία WSIs, ωστόσο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση πεδίων υψηλής μεγέθυνσης σε διαφάνειες μικροσκοπίου.

Εκτός από την κανονική έκδοση του ilastik, οι χρήστες μπορούν επίσης να κάνουν λήψη εκδόσεων που υποστηρίζουν υπολογιστικές διεργασίες μέσω καρτών επεξεργασίας γραφικών (GPU). Αυτές επιταχύνουν σημαντικά τη διαδικασία εκτέλεσης προ-εκπαιδευμένων μοντέλων νευρωνικών δικτύων από το bioimage.io Model Zoo, υπό την προϋπόθεση ότι το σύστημα διαθέτει συμβατή Nvidia GPU. Εάν ο χρήστης ενδιαφέρεται να εκτελέσει μια ροή εργασίας στη GPU ενός απομακρυσμένου διακομιστή, η τοπική εγκατάσταση πελάτη μπορεί να χειριστεί την επικοινωνία μεταξύ των δύο πλευρών.

1.3.5 Aiforia

Η Aiforia Technologies (Ελσίνκι, Φιλανδία) προσφέρει την Aiforia (AI for Image Analysis)⁵, μια επί πληρωμή υπηρεσία βασιζόμενη στο σύννεφο (cloud) που παρέχει στους παθολόγους και τους επιστήμονες εργαλεία τεχνητής νοημοσύνης για την ανάλυση μεγάλου όγκου και πολύπλοκων ιατρικών εικόνων με μεγαλύτερη ταχύτητα, ακρίβεια και συνέπεια. Η υπηρεσία καλύπτει ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών κλάδων, συμπεριλαμβανομένης της παθολογίας, της ογκολογίας και των νευροεπιστημών. Οι χρήστες μπορούν να έχουν πρόσβαση

⁵<https://www.aiforia.com>

στην υπηρεσία cloud της Aiforia με ένα πρόγραμμα περιήγησης στο διαδίκτυο μέσω της πλατφόρμας Aiforia Create, όπου μπορούν να δημιουργήσουν υπολογιστικά μοντέλα βασισμένα σε βαθιά νευρωνικά δίκτυα και να τα χρησιμοποιήσουν για σκοπούς ποσοτικοποίησης ή μέτρησης χαρακτηριστικών στα δικά τους ιατρικά δεδομένα.

Οι προαναφερθέντες στόχοι διευκολύνονται με το Annotation Assistant, ένα έξυπνο εργαλείο σάρωσης εικόνων που βασίζεται στην ενεργό μάθηση (active learning) και προσφέρει συμβουλευτικό ρόλο στον χρήστη σχετικά με την επιλογή των πιο χρήσιμων περιοχών για επισημείωση, οι οποίες θα παρέχουν τα πιο πληροφοριακά δεδομένα κατά την εκπαίδευση των μοντέλων τεχνητής νοημοσύνης. Ο χρήστης μπορεί στη συνέχεια να επιλέξει να αποδεχθεί, να τροποποιήσει ή να απορρίψει τις προτάσεις του εργαλείου. Η μέθοδος αυτή όχι μόνο συντομεύει τις διαδικασίες επισημείωσης και εκπαίδευσης, αλλά και βελτιώνει την ποιότητα των βαθμών αρχιτεκτονικών. Είναι επίσης ιδιαίτερα χρήσιμη για την ανάλυση μεγάλων συνόλων δεδομένων με υψηλή μεταβλητότητα. Επιπλέον, η Aiforia υποστηρίζει τη μεταφορά μάθησης, η οποία επιτρέπει την ταχεία προσαρμογή προ-εκπαιδευμένων μοντέλων σε νέες εργασίες ανάλυσης εικόνας.

Η Aiforia προσφέρει πάνω από 400 υπολογιστικά μοντέλα που επιτρέπουν στους παθολόγους να διεξάγουν εργασίες ταξινόμησης, σημασιολογικής κατάτμησης (semantic segmentation) και ανίχνευσης αντικειμένων (object detection) διαφορετικών κλάσεων. Ωστόσο, ο ακριβής υπολογισμός χαρακτηριστικών σε μεμονωμένες ιστολογικές περιοχές αποτελεί πρόκληση, ιδίως όταν υπάρχουν επικαλυπτόμενα αντικείμενα, ένα σύνηθες φαινόμενο στην ιστοπαθολογία. Η ομάδα της Aiforia έχει ξεπεράσει αυτό το εμπόδιο με την κατάτμηση στιγμιότυπων (instance segmentation), η οποία εκτελεί ταυτόχρονα σημασιολογική κατάτμηση και ανίχνευση για τον ακριβή εντοπισμό και την οριοθέτηση κάθε μεμονωμένου στοιχείου ενδιαφέροντος. Με αυτή την προσέγγιση, οι χρήστες μπορούν να προσδιορίσουν τα πραγματικά όρια των ανατομικών δομών και να λάβουν ακριβείς μετρήσεις που σχετίζονται με το εμβαδόν, την ένταση της ιστολογικής χρώσης κ.λ.π.

Κεφάλαιο 2

Επιστημονική Στάθμιση Ανάλυσης Ιστοπαθολογικών Εικόνων

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρέχεται μια ανασκόπηση των βιβλιογραφικών εργασιών που δημοσιεύτηκαν τα τελευταία χρόνια σχετικά με την ποσοτική μέτρηση της μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου, συμπεριλαμβανομένων των μικροσκοπικών ευρημάτων που υποδηλώνουν τη χρόνια εξέλιξη της σε μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα. Επιπλέον, παρουσιάζονται πειραματικές μελέτες που επικεντρώνονται στην ανάλυση της μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου, αλλά και που περιορίζονται στην ημιποσοτική αξιολόγηση των ιστολογικών δειγμάτων. Η βιβλιογραφική ανασκόπηση εστιάζει στην συνέχεια στην έρευνα που έχει γίνει για την αυτοματοποιημένη διάγνωση του νεφροκυτταρικού καρκινώματος σε εικόνες βιοψίας, συμπεριλαμβανομένου του πιο συνηθισμένου υποτύπου του, του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος. Τέλος, περιγράφονται τα σύνολα δεδομένων που λειτούργησαν ως βάση για την εκπόνηση της διδακτορικής έρευνας, καθώς και το ιατρικό υπόβαθρο σχετικά με τις εξεταζόμενες παθολογοανατομικές δομές.

2.1 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση Μεθοδολογιών Ανάλυσης Εικόνων Ιστοπαθολογίας

2.1.1 Μεθοδολογίες ανάλυσης της μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου

Λόγω των περιορισμών της μεταβλητότητας μεταξύ του ενός παρατηρητή (intra-observer) και των πολλών παρατηρητών-ιατρών (inter-observer) στον ποσοτικό προσδιορισμό της μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD), η ερευνητική κοινότητα έχει αποδεχθεί τα τελευταία χρόνια την πρόκληση της ανάπτυξης αυτοματοποιημένων και αξιόπιστων λογισμικών για την ακριβή εκτίμηση του επιπολασμού της. Τα αναπτυσσόμενα εργαλεία χρησιμοποιούν τόσο παραδοσιακές όσο και σύγχρονες τεχνικές που βασίζονται στην ψηφιακή επεξεργασία εικόνων βιοψίας.

Οι Zaitoun et al. [16] ήταν από τους πρώτους που εφάρμοσαν στερεολογικές και μορφομετρικές μεθόδους για την ποσοτική αξιολόγηση της μικροφουσαλιδώδους και μακροφουσαλιδώδους στεάτωσης και επιπλέον της ιστολογικής ίνωσης. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε 118 δείγματα βιοψίας ήπατος, 86 από τα οποία είχαν ηπατίτιδα C (Hepatitis Virus C - HVC) και 32 αλκοολική ηπατική νόσο (Alcoholic Liver Disease - ALD). Όσον αφορά τις στερεολογικές μεταβολές, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην στερεολογία της ίνωσης μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών ($p = 0,008$), ενώ η στερεολογία της στεάτωσης ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ALD από ό,τι σε αυτούς με HVC ($p = 0,0002$). Τέλος, η αναλογία της μικροφουσαλιδώδους ήταν υψηλότερη στην HVC από ότι στην ALD ($p = 0,0003$), ενώ η αναλογία της μακροφουσαλιδώδους στεάτωσης ήταν υψηλότερη στην ALD από ότι στην HVC ($p = 0,0003$).

Στη μελέτη των Marsman et al. [17] διευρύνθηκαν οι ποσοτικές αποκλίσεις μεταξύ της αξιολόγησης της ηπατικής στεάτωσης από έναν παθολόγο και της αυτοματοποιημένης μέτρησης από ένα σύστημα ανάλυσης εικόνας. Για τα πειράματα, συλλέχθηκαν δείγματα βιοψίας αρουραίων και 49 δείγματα βιοψίας από αποθανόντες δότες. Παρατηρήθηκε ότι η μέση εκτιμώμενη περιεκτικότητα σε λίπος των ανθρώπινων δειγμάτων ήταν 1,4 φορές μεγαλύτερη από αυτή που ελήφθη από το αυτοματοποιημένο λογισμικό. Επίσης, στα δείγματα αρουραίων, η μέση εκτίμηση του παθολόγου ήταν περίπου 2 φορές υψηλότερη από αυτή του αυτοματοποιημένου λογισμικού, η οποία παρουσίασε υψηλή συσχέτιση Pearson ($r = 0,971$).

Οι Roullier et al. [18] εφάρμοσαν τον ασαφή αλγόριθμο Fuzzy c-Means για την ανίχνευση λιποκυττάρων που χαρακτηρίζονται από ομοιογενή υφή λόγω υψηλής έντασης εικονοστοιχείων και στρογγυλού σχήματος, καθώς και για τον αποκλεισμό των ιστολογικών τεχνουργημάτων από τις ποσοτικοποιήσεις στεάτωσης. Οι δοκιμές περιλάμβαναν 37 εικόνες βιοψίας

με δυνατότητα μεγέθυνσης 400× και τα ευρήματα έδειξαν καλή συσχέτιση με την οπτική αξιολόγηση ενός παθολόγου ($r^2 = 0,85$, $p < 0,05$).

Οι El-Badry et al. [19] επικεντρώθηκαν στη συσχέτιση μεταξύ της υπολογιστικής μέτρησης της στεάτωσης και των οπτικών ερμηνειών από τέσσερις παθολόγους σε 46 δείγματα βιοψίας από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική εκτομή. Τα μεθοδολογικά βήματα έλαβαν μέρος σε ψηφιοποιημένες εικόνες σε μεγέθυνση 40× και αποσκοπούσαν στην αποκάλυψη λευκών λιποκυττάρων σε ξεχωριστά κανάλια του χρωματικού χώρου RGB. Οι αξιολογήσεις του λογισμικού συσχετίστηκαν σημαντικά με εκείνες ενός από τους κλινικούς ιατρούς, με συντελεστή Spearman ($r_s = 0,82$), ενώ υπήρξε χαμηλή συσχέτιση με τους άλλους τρεις ($r_s = 0,22, 0,28, 0,38$). Οι διακυμάνσεις, σύμφωνα με την ερευνητική ομάδα, οφείλονται στα χαμηλότερα ποσοστά περιεκτικότητας σε λίπος από αυτά των παθολόγων, ως αποτέλεσμα της εκτενούς ανάλυσης και της εξάλειψης των ψευδώς θετικών δομών στεάτωσης.

Ο στόχος της μελέτης των Liquori et al. [20] ήταν η αυτοματοποιημένη διαβάθμιση της συσσώρευσης λίπους σε δείγματα βιοψίας από παχύσαρκους ασθενείς και αρουραίους χρησιμοποιώντας διάφορες ιστολογικές χρώσεις, όπως του υπερωδικού οξέος Schiff (Periodic acid-Schiff) και της μπλε Τολουϊδίνης (Toluidine blue), ψηφιοποιημένα σε μεγέθυνση 400×. Οι κύριες τεχνικές για τον εντοπισμό των δομών στεάτωσης και την εξάλειψη μη-κυκλικών τεχνουργημάτων βασίστηκαν στην ομοιομορφία του χρώματος και το κυκλικό σχήμα των φυσαλίδων λίπους με τη εφαρμογή μορφολογικών τελεστών. Στα αποτελέσματα δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις στους υπολογισμούς της συνολικής επιφάνειας λίπους μεταξύ των εικόνων διαφορετικών χρώσεων.

Οι Turlin et al. [21] εξέτασαν τη συσχέτιση μεταξύ του πλήθους των λιπιδίων και του μεγέθους τους με παράγοντες όπως η αναλογία στεάτωσης και ο δείκτης μάζας σώματος (Body Mass Index - BMI), εξετάζοντας 108 δείγματα βιοψίας σε μεγέθυνση 10×. Ακολουθώντας πρώτα διάφορες τεχνικές βελτίωσης εικόνας, όπως μείωση του θορύβου και ενίσχυση της αντίθεσης, οι φυσαλίδες λίπους προσδιορίστηκαν στη συνέχεια με βάση τον αριθμό των εικονοστοιχείων, το λευκό χρώμα και το κυκλικό σχήμα. Αυτά είχαν ως αποτέλεσμα τον αποκλεισμό μεγάλων ινωδών περιοχών και ιστολογικών τεχνουργημάτων, όπως τα κολποειδή, τα χολαγγεία και τα αιμοφόρα αγγεία. Τα ευρήματα αποκάλυψαν μια μέτρια συσχέτιση Spearman μεταξύ του μεγέθους των λιπιδίων και του δείκτη μάζας σώματος ($r_s = 0,35$, $p = 0,0003$) και μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των ανιχνευόμενων λιπιδίων και του εκτιμώμενου ποσοστού στεάτωσης ($r_s = 0,93$, $p < 0,01$).

Στη μελέτη των Kong et al. [22] παρουσιάστηκε μια μεθοδολογία για την ποσόστωση της στεάτωσης και τη σύγκριση της απόδοσής της με άλλες μεθόδους μέτρησης, συμπεριλαμβανομένης της μικροσκοπικής ανθρώπινης βαθμολόγησης και της ραδιολογίας. Για τις δοκιμές διατέθηκαν 10 δείγματα, όπου τμήματα του καθενός ψηφιοποιήθηκαν σε μεγέθυνση 200×.

Μετά τη δυαδικοποίηση των εικόνων κλίμακας του γκρι μέσω κατωφλίωσης, πραγματοποιήθηκε κατάτμηση των ασθενικών δομών ενδιαφέροντος με μια παραλλαγή των ελλειπτικών καμπύλων και με εφαρμογή του μετασχηματισμού λεκάνης απορροής (watershed transform). Διαπιστώθηκε ότι υπήρχε ισχυρότερη συσχέτιση μεταξύ της ιστολογικής ανίχνευσης και των ανθρώπινων αξιολογήσεων ($r = 0,9243$, $p = 0,0001$) παρά μεταξύ της ανθρώπινης ανάλυσης και των ραδιολογικών δεδομένων ($r = 0,8353$).

Στη δημοσιευμένη μελέτη της Batool [23] χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι μορφολογικοί παράγοντες, συγκεκριμένα η στερεότητα, η εκκεντρότητα και το μέγεθος, προκειμένου να αποκλειστούν τυχόν ανιχνευμένα παθολογικά ή υγιή ευρήματα που δεν χαρακτήριζαν τις φυσαλίδες λίπους. Επομένως, ο λόγος της στεάτωσης θα μπορούσε έπειτα να μετρηθεί με μεγαλύτερη ακρίβεια σε ένα σύνολο 38 εικόνων βιοψίας ήπατος με χρώση Αιματοξυλίνης και Ηωσίνης (Hematoxylin and Eosin - H&E). Εφαρμόστηκε επίσης μια μέθοδος δυαδικού λεξικού για την περαιτέρω μείωση των ψευδώς θετικών ευρημάτων και την ανάκτηση περιοχών διήθησης λίπους που δεν είχαν προηγουμένως συμπεριληφθεί. Τα τελικά αποτελέσματα αποκάλυψαν μια καλή συσχέτιση Pearson ($r_p = 0,9066$) μεταξύ των ποσοτικών ελέγχων του λογισμικού και των ποσοστών στεάτωσης που παρείχαν δύο ειδικοί ιατροί.

Στη μελέτη των Schwen et al. [24] αναπτύχθηκε μια μέθοδος για την ποσοτικοποίηση της μακροφυσαλιδώδους στεάτωσης σε 2037 βιοψίες ήπατος ποντικών που χρωματίστηκαν με διάφορες βαφές (H&E, Elastica van Gieson - EvG, H&E/EvG, Glutamine Synthetase - GS, κ.α.) και ψηφιοποιήθηκαν σε μεγέθυνση 400x. Πρώτον, οι ιστολογικές τομές διαχωρίστηκαν από το φόντο τους ορίζοντας μια τιμή κατωφλίου στις τιμές φωτεινότητας και κορεσμού των εικονοστοιχείων, ενώ οι λοβιακές ζώνες ορίστηκαν με την πλημμύριση των υπολογιζόμενων κοιλάδων μετά την εφαρμογή του μετασχηματισμού λεκάνης απορροής. Η κατάτμηση των κενотоπίων λίπους βασίστηκε επίσης στις τιμές των εικονοστοιχείων, ενώ το σχήμα τους χρησιμοποιήθηκε για τη διάκριση των αληθώς θετικών από τα τεχνουργήματα. Συμπερασματικά, η χρώση H&E επέτρεψε την βέλτιστη κατάτμηση των αντικειμένων λίπους και βάσει οπτικών ελέγχων από ειδικό, η ακρίβεια της ποσοτικής μεθόδου ορίστηκε στο 92%.

Οι Hall et al. [25] διερεύνησαν τις συσχετίσεις μεταξύ του ηπατικού λίπους, των αμινοτρανσφερασών και της ηπατικής αρχιτεκτονικής μέσω τεχνικών επεξεργασίας εικόνας σε στεατωτικά μικροσκοπικά δείγματα σε αντικειμενική (objective) μεγέθυνση 20x. Αρχικά, οι ινώδεις περιοχές και τα ιστολογικά τεχνουργήματα εξαιρέθηκαν από τις μετρήσεις της αναλογικής περιοχής λίπους (measurement of the Fat Proportionate Area - mFPA) ως συνέπεια της δυαδικής μετατροπής των κόκκινων, πράσινων και μπλε καναλιών του χρωματικού χώρου RGB σε συνδυασμό με τον μορφολογικό τελεστή διαστολής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όταν η περιεκτικότητα σε λίπος ήταν αυξημένη, τα επίπεδα της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (Alanine Aminotransferase - ALT) και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης

(Aspartate Aminotransferase - AST) αυξάνονταν επίσης. Επιπλέον, ισχυρίστηκαν ότι η αυξημένη ALT ήταν εμφανής τόσο στο 5% όσο και στο 20% της mFPA και ότι σε περιπτώσεις με προχωρημένη αναλογία λίπους (mFPA = 10%) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ηπατικής αρχιτεκτονικής και της ακτίνας των λοβών.

Η μεθοδολογική προσέγγιση των Tsiplakidou et al. [26] περιλάμβανε μια σειρά βημάτων επεξεργασίας εικόνας για την ανίχνευση αληθώς θετικών δομών λίπους. Οι δοκιμές αφορούσαν 40 δείγματα βιοψίας από ασθενείς με ηπατίτιδα C που ελήφθησαν σε χαμηλή μεγέθυνση 2x. Μετά από ένα στάδιο βελτίωσης εικόνας, συμπεριλήφθηκαν μόνο υποψήφιος περιοχές στεάτωσης που πληρούσαν τα κριτήρια του εμβადού, της εκκεντρότητας και της στρογγυλότητας. Χρησιμοποιώντας τον συντελεστή συσχέτισης συμφωνίας (Concordance Correlation Coefficient - CCC), τα υπολογιζόμενα ποσοστά επικράτησης λίπους της αυτοματοποιημένης μεθόδου συγκρίθηκαν με εκείνα των παθοανατόμων. Η βαθμολογία CCC = 0,87 [-1, 1] έδειξε ένα καλό επίπεδο συμφωνίας μεταξύ των δύο πλευρών.

Οι Roy et al. [27] πρότειναν μια νέα μέθοδο για την κατάτμηση λίπους σε αποκομμένα ιστολογικά τμήματα από 11 εικόνες βιοψίας υψηλής ανάλυσης. Με την εφαρμογή τεχνικών βελτίωσης εικόνας και μορφολογικής επεξεργασίας, επιτεύχθηκε εξομάλυνση των εξωτερικών ορίων των κυτταρικών δομών στεάτωσης και αφαίρεση μικρών ανεπιθύμητων τεχνουργημάτων. Στη συνέχεια, περιγράφηκε μια εξειδικευμένη τεχνική για τον προσδιορισμό των σημείων καμπυλότητας με σκοπό τον διαχωρισμό των επικαλυπτόμενων σταγονιδίων λίπους. Επιπρόσθετα, διεξήχθη ένα βήμα ταξινόμησης για την περαιτέρω διαφοροποίηση μεμονωμένων και επικαλυπτόμενων περιοχών στεάτωσης, με ποσοστά επιτυχίας στις περισσότερες περιπτώσεις ίσα με 100%.

Οι Segovia-Miranda et al. [28] εφάρμοσαν μια τεχνική τρισδιάστατης απεικόνισης για την ανάπτυξη χωρικά-επιλυμένων γεωμετρικών και λειτουργικών μοντέλων και τον εντοπισμό μορφολογικών αλλαγών που σχετίζονται με την εξέλιξη της NAFLD. Συγκεκριμένα, το μέγεθος της κατανομής των σταγονιδίων λίπους και η ομοιογένεια της πυρηνικής υφής τους αξιολογήθηκαν ως ιστολογικοί βιοδείκτες για τη διαφοροποίηση μεταξύ των σταδίων της NAFLD. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ο υψηλότερος συντελεστής συσχέτισης Pearson ήταν 0,680 για τη γ-γλουταμιλοτρανσφεράση (gamma-glutamyl transpeptidase), ακολουθούμενος από 0,518 για το πρωτογενές ολικό χολικό οξύ, 0,505 για το ολικό χολικό οξύ και 0,473 για την αλκαλική φωσφατάση (alkaline phosphatase).

Οι Esparza et al. [29] βασίστηκαν στην αυτοματοποίηση της κατάτμησης των λιποκυττάρων για να προσδιοριστεί η συσχέτισή τους με τον βαθμό στεάτωσης και την οπτική εκτίμηση ενός παθολόγου. Η μελέτη εφαρμόστηκε σε 68 εικόνες βιοψίας ασθενών με μεταμόσχευση ήπατος, οι οποίες χρωματίστηκαν με H&E και Masson's trichrome και ψηφιοποιήθηκαν σε μεγέθυνση 20x. Με τον καθορισμό μιας τιμής κατωφλίου επιτεύχθηκε ο εντοπισμός των ιστολογικών τμημάτων, ενώ η μετατροπή τους σε κλίμακα του γκρι, η ενίσχυση της υφής

με το φίλτρο Frangi και η δυαδικοποίηση οδήγησαν στην αποκάλυψη των αντικειμένων ενδιαφέροντος. Με την εκ νέου εφαρμογή κατωφλίου στα σχηματικά χαρακτηριστικά αυτών των αντικειμένων, ακολουθούμενη από τον μετασχηματισμό λεκάνης απορροής σε συνδυασμό με μορφολογικούς τελεστές, επιτεύχθηκε η εξάλειψη μικρών και μη-κυκλικών δομών και ο διαχωρισμός επικαλυπτόμενων λιποκυττάρων. Ως τελικό βήμα, για κάθε κατατημημένη λιπώδη δομή υπολογίστηκαν η ακτίνα, η κυκλικότητα, η απόσταση με τον πλησιέστερο της γείτονα, η μεταξύ τους περιφερειακή ισοτροπία (ομοιομορφία-ετερογένεια) και ο λόγος των λιποκυττάρων προς τα συνολικά ηπατοκύτταρα. Κλείνοντας, η ανάλυση παλινδρόμησης και ο συντελεστής Spearman παρήγαγαν υψηλές τιμές συσχέτισης για την ακτίνα ($R^2 = 0,86$, $r = 0,72$), την απόσταση πλησιέστερου γείτονα ($R^2 = 0,82$, $r = -0,82$), την περιφερειακή ισοτροπία ($R^2 = 0,84$, $r = 0,74$) και την αναλογία λιποκυττάρων ($R^2 = 0,90$, $r = 0,85$), ενώ χαμηλές τιμές για την κυκλικότητα ($R^2 = 0,48$, $r = -0,32$) με τους βαθμούς στεάτωσης και της εξέτασης του παθολόγου, αντίστοιχα.

Στους Xu et al. [30] αναπτύχθηκε μια αυτοματοποιημένη μέθοδος για τον προσδιορισμό των ποσοστών διήθησης λίπους σε εικόνες βιοψίας και τη σύγκριση με ημιποσοτικές βαθμολογίες τριών παθολογοανατόμων. Με την προσάρτηση ενός smartphone στη βάση του προσοφθάλμιου ενός μικροσκοπίου φωτός, ελήφθησαν 80 εικόνες H&E σε μεγεθύνσεις 10×, 20× και 40× από δείγματα ασθενών με μεταμόσχευση ήπατος. Πρώτον, για την ανίχνευση των αντικείμενων μακροστεάτωσης, εφαρμόστηκε κατωφλίωση ιστογράμματος για τη μετατροπή των εικόνων RGB σε δυαδικές. Συνεχίζοντας, χρησιμοποιώντας τους μορφολογικούς τελεστές, τον μετασχηματισμό λεκάνης απορροής και ορίων κατωφλίου στις τιμές κυκλικότητας και μεγέθους των δυαδικών αντικειμένων, διακρίθηκαν οι δομές στεάτωσης από τα ιστολογικά τεχνουργήματα. Συμπερασματικά, υπήρξε μόνο μέτρια συμφωνία μεταξύ του ψηφιακού εργαλείου και των ιατρών, όταν εξετάστηκε μόνο ο αριθμός των σωστά προσδιορισμένων στοιχείων μακροστεάτωσης στα δείγματα, με συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των κατηγοριών (Interclass Correlation Coefficient - ICC) 0,65 (95% CI, 0,29-0,89). Ωστόσο, όταν διερευνήθηκαν πρόσθετοι παράγοντες όπως η έκταση και η κατανομή του ιστολογικού δείγματος για τον υπολογισμό του λόγου στεάτωσης, υπήρξε καλύτερη συμφωνία (ICC 0,72, 95% CI, 0,40-0,91).

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι η ηπατική απόφραξη, που προκαλείται από μπλοκάρισμα των χοληφόρων αγωγών, των κολποειδών, των πυλαίων φλεβών κ.λ.π., μπορεί να οδηγήσει σε μη-αναστρέψιμες ηπατικές επιπλοκές. Για την αντιμετώπιση αυτού του ζητήματος, οι ερευνητές έχουν εμβαθύνει στην ανάπτυξη διαγνωστικών συστημάτων που βασίζονται σε τεχνικές μη-εποπτευόμενης μηχανικής μάθησης και αλγορίθμους ταξινόμησης για την ακριβή διάκριση του λιπώδους ιστού από άλλες ιστολογικές δομές και την εξάλειψη των ψευδώς θετικών παθολογικών ευρημάτων.

Στους Nativ et al. [31] προτάθηκε μια μέθοδος ανάλυσης εικόνας που θα μπορούσε να διακρίνει τις κύριες διαφορές μεταξύ των λιπιδικών σχηματισμών της μικροφουσαλιδώδους και μακροφουσαλιδώδους στεάτωσης. Για την κατάτμηση των δύο αντικειμένων ενδιαφέροντος, η προσέγγιση εφάρμοσε τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος και τον αλγόριθμο ομαδοποίησης K-μέσων (K-means). Στο τέλος, κλήθηκε επίσης ένας ταξινομητής Δέντρου Απόφασης (Decision Tree) για την ενίσχυση του διαχωρισμού των δύο ομάδων. Μετά τη φάση της ταξινόμησης, οι τιμές ειδικότητας (specificity) και ευαισθησίας (sensitivity) ήταν 93,7% και 99,3%, αντίστοιχα και ο συντελεστής προσδιορισμού γραμμικής παλινδρόμησης, ως η μέθοδος συσχέτισης με τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις παθολόγων, ήταν ίσος με 0,97.

Οι Sumitpaibul et al. [32] παρουσίασαν μια μεθοδολογία για τον ακριβή υπολογισμό της αναλογίας λίπους σε ιστολογικές τομές από 16 εικόνες ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) μεγέθυνσης 400×. Για τη κατάτμηση των υποψήφιων δομών στεάτωσης εφαρμόστηκαν κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας, όπως η μετατροπή του χρωματικού χώρου σε κλίμακα του γκρι, η μείωση του θορύβου με φίλτράρισμα μέσης τιμής, ο διαχωρισμός του φόντου και η δυαδική μορφολογική επεξεργασία. Στο επόμενο βήμα, ο ταξινομητής k-Πλησιέστερων Γειτόνων (k-Nearest Neighbors - k-NN) κλήθηκε να προσδιορίσει τις κηλίδες λίπους που θα παρείχαν μια ακριβή μέτρηση του λόγου στεάτωσης στις εικόνες ήπατος. Τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ακρίβεια (accuracy) 97,52% στην ταξινόμηση λιπιδίων αντικειμένων και μέση διαφορά 0,22 μονάδων μεταξύ της αναλογίας λίπους που υπολογίστηκε με την αυτοματοποιημένη μέθοδο και της βασικής αλήθειας από χειροκίνητες επισημειώσεις ειδικών.

Οι Homeyer et al. [33] είχαν ως στόχο την ακριβή διάκριση μεταξύ μεμονωμένων ή επικαλυπτόμενων σταγονιδίων λίπους και υγιών τμημάτων (αγγεία, ρωγμές) σε 32 εικόνες από στεατωτικά δείγματα αρουραίων. Ο αλγόριθμος Τυχαίου Δάσους (Random Forest) χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό των μικροσκοπικών αντικειμένων με βάση τα εξαγόμενα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με στατιστικά στοιχεία γειτνίασης, το μέγεθος και την εκκεντρότητα. Η μέθοδος παρήγαγε ακρίβεια ταξινόμησης 92% για τα αντικείμενα λίπους, με τα χαρακτηριστικά γειτνίασης να βελτιώνουν σημαντικά την τιμή της κατά 17%.

Οι Sciarabba et al. [34] πρότειναν ένα εργαλείο για την παρακολούθηση της ηπατικής στεάτωσης σε 15 ιστολογικές εικόνες σε μεγέθυνση 20×. Η κατάτμηση των αντικειμένων έγινε μέσω κατωφλίωσης δύο επιπέδων ύστερα από ομαδοποίηση, λαμβάνοντας υπόψη διάφορες χρωματικές και σχηματικές ιδιότητες (στερεότητα, επιμήκυνση και τραχύτητα). Τα αποτελέσματα κατάτμησης έπειτα βελτιστοποιήθηκαν μέσω των μορφολογικών τελεστών ανοίγματος και κλεισίματος, προκειμένου να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των φουσαλιδών λίπους από τα μη-ασθενικά ευρήματα. Το λογισμικό πέτυχε ένα καλό ποσοστό ανίχνευσης 91,01%,

ως ο αριθμός των λιπιδίων στεάτωσης που ανιχνεύθηκαν επιτυχώς σε σχέση με τον αντίστοιχο της χειροκίνητης καταμέτρησης ενός παθολόγου. Παράλληλα, εντοπίστηκε μια ψευδώς θετική αναλογία λίπους 4,49% σε σχέση με την εκτίμηση του ιατρού.

Οι Shi et al. [35] ανέπτυξαν ένα σύστημα για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας του ηπατικού λίπους σε μικροσκοπικά δείγματα ποντικών με χρώση H&E και συντελεστή μεγέθυνσης 400×. Για να διαχωριστούν οι υποψήφιες φυσαλίδες λίπους από το φόντο τους, υπολογίστηκε αρχικά ένα προσαρμοστικό καθολικό όριο κατωφλίου σύμφωνα με τη διάμεσο (median) των ιστογραμμάτων εικόνας. Πριν από τη χρήση αλγόριθμων ομαδοποίησης για τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων από το κυτταρόπλασμα και τους πυρήνες, χρησιμοποιήθηκαν διάφορες τεχνικές βελτίωσης εικόνας, όπως η μείωση του θορύβου και η ενίσχυση της αντίθεσης μεταξύ των εικονοστοιχείων του ιστού και των λιποκυττάρων. Ο υπολογισμός του διανύσματος χαρακτηριστικών για την προσέγγιση ομαδοποίησης των αντικειμένων ενδιαφέροντος έλαβε υπόψη μια ποικιλία μορφολογικών ιδιοτήτων, συμπεριλαμβανομένης της εκκεντρότητας, της στερεότητας και του εμβαδού, επιπλέον των τιμών έντασης των εικονοστοιχείων στα κανάλια L και b του χρωματικού χώρου Lab. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι ο αριθμός των ανιχνευόμενων σταγονιδίων λίπους και οι υπολογιζόμενες μέσες τιμές στεάτωσης ήταν χαμηλότερες από τις αντίστοιχες χειροκίνητων επισημειώσεων. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι το υπολογιζόμενο κατώφλι είχε ως αποτέλεσμα τον αποκλεισμό ορισμένων αντικειμένων λίπους με ένταση χαμηλότερη από τη διάμεση τιμή στα εικονοστοιχεία τους. Παρόλα αυτά, τα εξαγόμενα ποσοστά σφάλματος ήταν μικρότερα από 5%, που είναι επαρκή για την υιοθέτηση του αυτοματοποιημένου εργαλείου στην κλινική πρακτική.

Οι Munsterman et al. [36] παρείχαν μια μέθοδο για την αυτόματη μέτρηση της αναλογικής περιοχής στεάτωσης (Steatosis Proportionate Area - SPA) σε WSIs ήπατος, όπου μπορεί να ενσωματωθεί ως Java πρόσθετο (plug-in) στο εργαλείο Fiji. Για την διάκριση πιθανών στεατωτικών ηπατοκυττάρων από τον περιβάλλοντα ιστό H&E, καθορίστηκε ένα όριο κατωφλίου στο κανάλι κορεσμού του χρωματικού χώρου HSB (Hue = απόχρωση, Saturation = κορεσμός, Brightness = φωτεινότητα). Για να επιτευχθεί λεπτομερής διαχωρισμός των δομών λίπους από άλλα μικροσκοπικά αντικείμενα στις WSIs, εκπαιδεύτηκε και αξιολογήθηκε ο αλγόριθμος Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic Regression - LR) σε τιμές χαρακτηριστικών κυκλικότητας, στρογγυλότητας και στερεότητας από αντικείμενα χειροκίνητης επισημείωσης. Στο τέλος των δοκιμών, η ακρίβεια ταξινόμησης του αλγορίθμου LR ήταν 91,9% και το εμβαδό περιοχής κάτω από την καμπύλη (Area Under the Curve - AUC) του λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (Receiver Operating Characteristic - ROC) για τη σωστά ταξινομημένη στεάτωση ήταν 0,970. Επίσης, η SPA των WSIs συσχετίστηκε σημαντικά με τα καταγεγραμμένα ποσοστά στεάτωσης ενός ηπατολόγου ($R_s = 0,845$, CI: 0,749-0,902, $P < 0,001$).

Οι Arista Romeu et al. [37] δημιούργησαν ένα μεθοδολογικό πλαίσιο για τη δυαδική ταξινόμηση περιπτώσεων NAFLD και μη-NAFLD σε εικόνες βιοψίας ήπατος ποντικών με χρώση H&E και Oil-Red O. Πιο εμφατικά, η ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Component Analysis - PCA) και τα μοντέλα τετραγωνικής (quadratic) και κανονικής (canonical) διακριτικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν για την αυτοματοποιημένη διάγνωση σε 2298 δεδομένα φασματοσκοπίας διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance - DF) και ενδογενούς φθορισμού (Fluorescence Spectra - FS). Εν συνεχεία, εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ των φασματικών μετρήσεων και της διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος που χορηγήθηκε στους ζωικούς δότες, καθώς και με μορφομετρικές αναλύσεις των εικόνων μικροσκοπίας με το εργαλείο ImageJ. Σημειώνεται ότι τα δυαδικά μοντέλα ταξινόμησης παρήγαγαν σφάλμα ταξινόμησης $\leq 1,3\%$, ενώ ο συνδυασμός μετρήσεων DF και FS μείωσε το διαγνωστικό σφάλμα σε $\leq 0,6\%$. Ομοίως, οι συντελεστές συσχέτισης Pearson με βάση τη μορφομετρική ανάλυση και τη διατροφή λίπους ήταν $\leq 0,8$.

Χάρη στην αποτελεσματικότητα των σύγχρονων διαγνωστικών συστημάτων, ο τομέας της ιστοπαθολογίας έχει επικεντρωθεί σε προβλήματα αναγνώρισης πολλαπλών και πολύπλοκων ιστολογικών αλλοιώσεων, συμπεριλαμβανομένης της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης (hepatocellular ballooning) και της φλεγμονής, δύο χρόνιες παθήσεις για τις οποίες δεν υπήρχαν μέχρι πρόσφατα αυτοματοποιημένες διαγνωστικές λύσεις.

Η μεθοδολογία των Vanderbeck et al. [38] βασίστηκε σε τεχνικές κατάτμησης και εποπτευόμενης ταξινόμησης για την επίλυση ενός προβλήματος αναγνώρισης πολλαπλών ιστολογικών κλάσεων σε 47 εικόνες μεγέθυνσης $20\times$ υγιών και NAFLD δοτών. Οι δομές μακροστεάτωσης, τα χοληφόρα αγγεία, οι πυλαίες φλέβες και τα κολποειδή αποτέλεσαν τις ανατομικές δομές ενδιαφέροντος και για τον διαχωρισμό τους χρησιμοποιήθηκε ο αλγόριθμος Μηχανής Διανυσματικής Υποστήριξης (Support Vector Machine - SVM). Τα πειράματα παρήγαγαν τιμές πιστότητας (precision) και ανάκλησης/ευαισθησίας (recall/sensitivity) $\geq 82\%$ επιπλέον της συνολικής ακρίβειας ταξινόμησης 89% . Σύμφωνα με τον συντελεστή Spearman, το συνολικό ποσοστό στεάτωσης που υπολογίστηκε από την αυτοματοποιημένη προσέγγιση συσχετίστηκε με τον μέσο διαγνωστικό βαθμό δύο ιατρών κατά $90,8\%$. Ως συμπέρασμα, η εφαρμοσμένη μέθοδος κρίθηκε αξιόπιστη για την εκτίμηση του βαθμού NAFLD και είχε το πλεονέκτημα ότι λάμβανε υπόψη της επιπλέον πρόσθετα ανατομικά χαρακτηριστικά στις εικόνες βιοψίας ήπατος.

Μια μεταγενέστερη μελέτη των Vanderbeck et al. [39] είχε ως στόχο την αυτοματοποιημένη αναγνώριση της λοβιακής φλεγμονής και της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης. Ομοίως με την προηγούμενη έρευνα [38], η ταξινόμηση των κατατμημένων δομών παρήγαγε τιμές πιστότητας και ανάκλησης 70% και 49% για περιπτώσεις φλεγμονής και 91% και 54% για διογκωμένα ηπατοκύτταρα, αντίστοιχα. Επιπλέον, στο στάδιο της ταξινόμησης, παρατηρήθηκε 95% ROC-AUC για τη λοβιακή φλεγμονή και 98% για τη κυτταρική διόγκωση. Η

συσχέτιση Spearman για τα φλεγμονώδη αντικείμενα και τις διογκώσεις σε σχέση με τη διάγνωση ειδικών παθολόγων ήταν 45,2% για 46%, αντίστοιχα, ενθαρρυντικές αποδόσεις για επερχόμενες ποσοτικές αναλύσεις της μη-αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (Non-Alcoholic Steatohepatitis - NASH).

Στη μελέτη των Ishikawa et al. [40] παρουσιάστηκε μια μεθοδολογία ανάλυσης εικόνας για τον διαχωρισμό των ιστολογικών δοκίδων από τα σταγονίδια λίπους, τα κολποειδή και τα στρώματα σε βιοψίες ήπατος H&E ψηφιοποιημένες σε μεγέθυνση 20x. Η κατάτμηση των υποψήφιων λιπιδίων σχηματισμών επιτεύχθηκε με τη χρήση ποικίλων τεχνικών επεξεργασίας εικόνας, συμπεριλαμβανομένης της εξομάλυνσης ακμών με φιλτράρισμα επιλεκτικού προσανατολισμού (orientation-selective), του δυαδικού μετασχηματισμού μέσω κατωφλίωσης και της εφαρμογής του αλγόριθμου μεγιστοποίησης προσδοκίας (expectation-maximization). Μετά την εξαγωγή διανυσμάτων χαρακτηριστικών, ο ταξινομητής Random Forest κλήθηκε να διαχωρίσει τις φυσαλίδες λίπους από τα υπόλοιπα ασθενικά και μη ευρήματα. Τα πειραματικά αποτελέσματα κατέδειξαν την ικανότητα της μεθόδου να υπολογίζει την αναλογία της δοκιδωτής περιοχής, με βάση την πυκνότητα του πυρήνα της προς το κυτταρόπλασμα, για τη σταδιοποίηση Edmondson του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Hepatocellular Carcinoma - HCC).

Στους Giannakeas et al. [41] προτάθηκε μια αυτοματοποιημένη διαγνωστική μέθοδος βασισμένη στην ομαδοποίηση εικονοστοιχείων και στο δυαδικό μορφολογικό φιλτράρισμα για την ποσοτική εκτίμηση της στεάτωσης σε 20 εικόνες βιοψίας ήπατος σε μεγέθυνση 5x. Πιο συγκεκριμένα, η ένταση των εικονοστοιχείων από κάθε κανάλι RGB των έγχρωμων δειγμάτων αποτέλεσε το διάνυσμα χαρακτηριστικών για τον διαχωρισμό των εικονοστοιχείων του φόντου από τα αντίστοιχα του ιστού με τη μέθοδο K-means. Ένα περαιτέρω βήμα περιλάμβανε μια επαναληπτική διαδικασία μορφολογικού ανοίγματος για την ανίχνευση κυκλικών λιποκυττάρων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το νέο εργαλείο παρουσίασε ~1% μέσο ποσοστό σφάλματος σε σχέση με ημιποσοτικές διαγνώσεις ηπατολόγων. Σε μια επέκταση της μεθοδολογίας [42], προκειμένου να αποκλειστεί η πλειονότητα των ψευδώς θετικών δομών στεάτωσης (διογκωμένα ηπατοκύτταρα, κολποειδή και φλέβες) από τις διαδικασίες μέτρησης της λιπώδους διήθησης, συμπεριλήφθηκε ένα στάδιο ταξινόμησης των αντικειμένων κατάτμησης σε ένα μεγαλύτερο σύνολο 27 εικόνων με μεγέθυνση 20x. Χάρη στην εποπτευόμενη προσέγγιση, επιτεύχθηκε μείωση του μέσου σφάλματος μέτρησης λίπους (1,95%) κατά μισή ποσοστιαία μονάδα σε σύγκριση με το στάδιο κατάτμησης (2,4%) των άγνωστων ιστολογικών δομών.

Οι Sethunath et al. [43] επιχείρησαν να αναπτύξουν ένα εργαλείο για τον εντοπισμό δομών ηπατικής μικρο- και μακροστεάτωσης σε δείγματα ποντικών με χρώση H&E και μεγέθυνση 20x, αλλά και να αξιολογήσουν το επίπεδο συμφωνίας του με τους ημιποσοτικούς ελέγχους ενός ειδικού παθολόγου. Για να διαχωριστεί η ιστολογική περιοχή από το φόντο της

χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ανάπτυξης περιοχής (region growing), ενώ η προσέγγιση για την ανίχνευση των λευκών αντικειμένων ενδιαφέροντος βασίστηκε αρχικά στο φίλτρο μέσης τιμής για τη μείωση του θορύβου και στην τεχνική διόρθωσης γάμμα (Gamma correction) για την αύξηση των αντιθέσεων της εικόνας. Στη συνέχεια, οι πιθανές περιοχές λίπους διαχωρίστηκαν από τον ιστό τους χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο K-means και ένα κατώφλι στο πλήθος των λευκών εικονοστοιχείων. Προκειμένου να ταυτοποιηθούν τα λιποκύτταρα και να αποκλειστούν διάφορες ιστολογικές αλλοιώσεις (λοβιακή φλεγμονή και πυλαία φλεγμονή) και ιστολογικά τεχνουργήματα από τους υπολογισμούς του λόγου στεάτωσης, εκπαιδεύτηκε ο ταξινομητής SVM λαμβάνοντας υπόψη χαρακτηριστικά υψής για κάθε κατατεταμένη δομή εφαρμόζοντας φίλτρα Gabor με διάφορους προσανατολισμούς θ° . Κατά την πρόβλεψη των περιοχών μακροστεάτωσης με το εκπαιδευμένο μοντέλο, επιτεύχθηκε συνολική ακρίβεια ταξινόμησης 84,2%, η οποία απέδωσε επίσης τιμές πιστότητας, ανάκλησης και περιοχής κάτω από την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (AUROC) 94,2%, 95% και 99,1%, αντίστοιχα. Όσον αφορά τις περιοχές μικροστεάτωσης, οι εξαγόμενες τιμές πιστότητας, ανάκλησης και AUROC ήταν 79,2%, 77%, 78,1%, αντίστοιχα και η ακρίβεια ίση με 78,7%. Τέλος, ο συντελεστής προσδιορισμού για τη συσχέτιση μεταξύ των αναλογιών μακροστεάτωσης που υπολογίστηκαν από το λογισμικό και τον παθολόγο ήταν $R^2 = 0,905$.

Οι Forlano et. al. [44] παρουσίασαν μια ολοκληρωμένη μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές επεξεργασίας εικόνας και μηχανικής μάθησης για τον εντοπισμό πολλαπλών ηπατικών παθολογιών, όπως η στεάτωση, η κυτταρική διόγκωση, η ιστολογική φλεγμονή και η ίνωση. Για τις πειραματικές δοκιμές ελήφθησαν υπόψη 246 δείγματα βιοψίας ασθενών με NAFLD-NASH, μέρος των οποίων χρωματίστηκε με H&E (σάρωση σε μεγέθυνση 20x) και τα υπόλοιπα με Sirius Red (σάρωση σε μεγέθυνση 2x). Οι μέθοδοι επεξεργασίας αναφέρονταν στον αλγόριθμο ομαδοποίησης K-means, στην κατωφλίωση εικόνας, στους μορφολογικούς τελεστές και στα διαγράμματα Voronoi για την κατάτμηση των περιοχών ενδιαφέροντος και τον διαχωρισμό των υγιών ηπατοκυττάρων από τα αντίστοιχα διόγκωσης. Κατόπιν αυτού, τα υπολογιζόμενα ποσοστά επικράτησης λίπους, διόγκωσης, φλεγμονής και ίνωσης συγκρίθηκαν με τα ημιποσοτικά ευρήματα από τις χειροκίνητες επισημειώσεις παθολόγων. Για τις δύο διαγνωστικές προσεγγίσεις, παρατηρήθηκε ICC 0,97 για τη στεάτωση, 0,96 για την φλεγμονή, 0,94 για τη διόγκωση και 0,92 για την ίνωση.

Στους Liu et al. [45] εισήχθη το αυτοματοποιημένο εργαλείο “qFIBS” σε μια προσπάθεια να εκτιμηθεί ο επιπολασμός διάφορων παθολογικών συμπτωμάτων που σχετίζονται με τις διαταραχές NAFLD-NASH. Η διαγνωστική διαδικασία περιλάμβανε την ανάλυση 219 δειγμάτων βιοψίας που χρωματίστηκαν με H&E και Masson’s trichrome για την παρακολούθηση της ηπατικής στεάτωσης, της κυτταρικής διόγκωσης, της λοβιακής φλεγμονής και της ίνωσης. Για τη σάρωση των βιοψιών, χρησιμοποιήθηκε η μικροσκοπία παραγωγής δεύτερης

αρμονικής/φθορισμού διεγερμένη από δύο φωτόνια (Second Harmonic Generation/Two-Photon-Excited Fluorescence – SHG/TPEF) σε μεγέθυνση 20×. Η υπολογιστική ανάλυση διεξήχθη με παραμετροποίηση των προφίλ κάθε ιστολογικής αλλοίωσης ξεχωριστά και με αντιμετώπιση κάθε ευρήματος ηπατικής κλάσης ως συνεχή και όχι κατηγορηματική μεταβλητή. Σε σύγκριση με τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις παθολόγων, η απόδοση του qFIBS έδειξε γενικά καλύτερη συσχέτιση κατά την εκτίμηση του βαθμού στεάτωσης (0,867-1,000, $P < 0,001$) και ίνωσης (0,787-1,000, $P < 0,001$) και αντίστοιχα χαμηλότερη συσχέτιση κατά τη διάκριση της σοβαρής φλεγμονής (0,726-0,933, $P < 0,001$) και υψηλότερων βαθμών κυτταρικής διόγκωσης (0,708-0,957, $P < 0,001$).

Στους Teramoto et al. [46] εφαρμόστηκε μια μεθοδολογία ανάλυσης τοπολογικών δεδομένων για την ταξινόμηση 79 εικόνων βιοψίας σε μεγέθυνση 10× σε υποτύπους NAFLD (1 - 4) λαμβάνοντας υπόψη το σύστημα βαθμολόγησης Matteoni. Το συγκεκριμένο σύστημα συνέβαλε επίσης στη διάκριση μεταξύ δειγμάτων NAFLD και NASH με βάση την παρουσία ευρημάτων όπως η κυτταρική διόγκωση ή η ιστολογική ίνωση. Τα βήματα προεπεξεργασίας εικόνας περιλάμβαναν τη μετατροπή κάθε χρωματικού δείγματος σε αντίστοιχο της κλίμακας του γκρι και την ισοστάθμιση ιστογράμματος για τον υπολογισμό τιμών χαρακτηριστικών ανά υποεπίπεδα έντασης εικονοστοιχείων. Συνεχίζοντας, ο αλγόριθμος Logistic Regression κλήθηκε για τη διάκριση και σταδιοποίηση των δομών NAFLD-NASH βάσει των τοπολογικών χαρακτηριστικών τους. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα έδειξαν καλή απόδοση ταξινόμησης μεταξύ των υποτύπων NAFLD, καθώς και διάκρισης μεταξύ περιπτώσεων NAFLD και NASH με ποσοστά ακρίβειας άνω του 90%. Επίσης, οι υψηλότερες τιμές AUC για ταξινόμηση μεταξύ NASH και δύο υποτύπων NAFLD, χρησιμοποιώντας ανάλυση καμπυλών ROC, ήταν 0,984 και 0,946, αντίστοιχα.

Στους Brunt et al. [47] παρουσιάστηκε το εργαλείο ανάλυσης εικόνας “qBallooning2” για την παρακολούθηση της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης σε 44 δείγματα βιοψίας με χρώση H&E και μικροσκοπική απεικόνιση SHG/TPEF. Οι σαρωμένες διαφάνειες εξετάστηκαν επίσης από εννέα παθολόγους για τη σταδιοποίηση της NASH, οι οποίοι αργότερα επισημείωσαν κύτταρα με διόγκωση για την εκπαίδευση αλγόριθμων μηχανικής μάθησης. Η ανίχνευση των υποψήφιων διογκωμένων κυττάρων ήταν το αρχικό βήμα της προσέγγισης qBallooning2, το οποίο πραγματοποιήθηκε στο κανάλι TPEF χρησιμοποιώντας παραδοσιακές τεχνικές κατάτμησης εικόνας, όπως η μορφολογική επεξεργασία και ο μετασχηματισμός λεκάνης απορροής. Οι κατατμημένες δομές χαρακτηρίστηκαν στη συνέχεια από τη φάση μηχανικής μάθησης λαμβάνοντας υπόψη τιμές χαρακτηριστικών όπως το εμβαδόν, η περίμετρος, η απόσταση μεταξύ των διογκωμένων κυττάρων και η συνολική περιοχή κολλαγόνου γύρω από τις περιοχές διόγκωσης. Όταν εκπαιδεύτηκε με σύνολα δεδομένων ≥ 50 δειγμάτων, ο αλγόριθμος qBallooning2 έδειξε τιμές ευαισθησίας 11%-41%, θετική προγνωστική αξία (positive predictive value) 16%-38%, ποσοστά ψευδούς ανακάλυψης (false discovery

rates) 62%-84% και ειδικότητα > 99%. Ωστόσο, η τιμή συσχέτισης Fleiss kappa μεταξύ των αυτοματοποιημένων διαγνώσεων NASH ή μη-NASH NAFLD και των αντίστοιχων ημιποσοτικών ήταν 0,127 (95% CI 0,024-0,230, $p = 0,016$), η οποία θεωρήθηκε ότι οφείλεται στα μέτρια επίπεδα συμφωνίας μεταξύ των ιατρών, με Fleiss kappa 0,197 (95% CI 0,094-0,300) και ICC (0,718 [0,511-0,900]).

Τα πιο πρόσφατα χρόνια, οι μέθοδοι βαθιάς μάθησης έχουν εισαγάγει καινοτόμες και αποτελεσματικές λύσεις σε πολλές διεργασίες ανάλυσης εικόνων. Συνεπώς, τα βαθιά νευρωνικά δίκτυα έχουν εφαρμοστεί στην ιστολογική απεικόνιση προκειμένου να αποτυπωθεί με ακόμη πιο αυτοματοποιημένο τρόπο η ανατομία και η φυσιολογία των παθολογικών ευρημάτων και να ποσοτικοποιηθεί ο επιπολασμός τους.

Οι Vicas et al. [48] είχαν ως στόχο την ανίχνευση της ιστολογικής ίνωσης και την αντικειμενική ποσόστωση της στεάτωσης σε ένα σύνολο 107 αποκομμένων τμημάτων από WSIs ήπατος. Οι δύο διαγνωστικές προσεγγίσεις βασίστηκαν σε κλασικές τεχνικές υπολογιστικής όρασης (προεπεξεργασία εικόνας και συμβατική μηχανική μάθηση) και σε συνελικτικά νευρωνικά δίκτυα (Convolutional Neural Networks - CNNs). Από τεχνικής άποψης, το στάδιο προεπεξεργασίας εικόνας περιλάμβανε τη μετατροπή των χρωματικών καναλιών σε κλίμακα του γκρι ή HSV (Hue = απόχρωση, Saturation = κορεσμός, Value = αξία) και τον υπολογισμό εκατοστημορίων ιστογράμματος για τη μείωση της διακύμανσης των τιμών φωτεινότητας των εικονοστοιχείων. Επιπλέον, οι αρχιτεκτονικές VGG-16 και U-net CNN αποτέλεσαν τα προτιμώμενα βαθιά μοντέλα. Για την επικύρωση της αυτοματοποιημένης ανάλυσης εξετάστηκε ο συντελεστής συσχέτισης R^2 με βάση τις ημιποσοτικές αξιολογήσεις ενός ιατρού. Συνοπτικά, το U-net αποδείχθηκε ως η βέλτιστη αρχιτεκτονική για τη σημασιολογική κατάτμηση (semantic segmentation) αντικειμένων, ενώ ο R^2 ήταν 0,748 για την κλασική προσέγγιση υπολογιστικής όρασης και 0,893 για την CNN.

Οι Guo et al. [49] εφάρμοσαν τη μέθοδο βαθιάς μάθησης Mask R-CNN για την κατάτμηση μεμονωμένων και επικαλυπτόμενων σταγονιδίων στεάτωσης σε 451 ηπατικές WSIs. Οι συγκεκριμένες συνοδεύτηκαν από μάσκες κατάτμησης λίπους βασικής αλήθειας. Οι αρχιτεκτονικές ResNet-41, ResNet-50 και ResNet-65 αποτέλεσαν τη βάση (backbone) του Mask R-CNN, στις οποίες εφαρμόστηκε η μεταφορά μάθησης (transfer learning). Ταυτόχρονα, δοκιμάστηκε μια συμβατική μέθοδος κατάτμησης αντικειμένων λίπους, η οποία περιλάμβανε τη μετατροπή των εικόνων εισόδου σε κλίμακα του γκρι, την αφαίρεση περιοχών με στερεότητα > 0,95 και τη διαίρεση επικαλυπτόμενων λιπιδίων με μια μέθοδο ψηφοφορίας σημείων υψηλής καμπυλότητας. Το κύριο αποτέλεσμα αναφέρεται στο ότι η αρχιτεκτονική ResNet-50 παρήγαγε την υψηλότερη πιστότητα (75,87%), ανάκληση (60,66%), κατανομή-F1 (F1-score) (65,88%) και συντελεστή ομοιότητας κατάτμησης Jaccard (76,97%), σε σχέση με τις μέσες μετρήσεις στεάτωσης της βασικής αλήθειας.

Στη μελέτη των Yang et al. [50] έγινε υλοποίηση και εκπαίδευση μιας νέας αρχιτεκτονικής CNN για την ποσοτική ανάλυση της ηπατικής στεάτωσης. Για την ερευνητική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν 180 ιστολογικές εικόνες ζωικών δειγμάτων (κουνελιών) που ελήφθησαν με μεγέθυνση προσοφθάλμιου φακού $10\times$ και αντικειμενικού $40\times$. Αρχικά, για κάθε εικόνα προσδιορίστηκε η αναλογία στεάτωσης βασικής αλήθειας μέσω χειροκίνητης κατάτμησης των λιποκυττάρων από τις επισημειώσεις ιατρών. Κατά τη δοκιμή της προτεινόμενης τοπολογίας CNN, οι μέσες τιμές απόλυτου σφάλματος ήταν $\leq 3,21\%$, ενώ ο συντελεστής Pearson αποκάλυψε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του μέσου υπολογιζόμενου λόγου συσσώρευσης λίπους και της βασικής αλήθειας ($R \geq 0,9227$).

Στη μελέτη των Salvi et al. [51] επιχειρήθηκε η ανάπτυξη μιας πλήρως αυτοματοποιημένης μεθόδου ονόματι “HEPASS” για τον εντοπισμό δομών ηπατικής μικροστεάτωσης και μακροστεάτωσης σε 385 εικόνες βιοψίας H&E. Αρχικά, η χρήση ενός υψιπερατού φίλτρου RGB, καθώς και ο καθορισμός του κατωφλίου Otsu σε συνδυασμό με τον τελεστή μορφολογικού ανοίγματος, επέτρεψαν την αναγνώριση των εξωτερικών ορίων των ιστολογικών περιοχών. Έπειτα, με τη χρήση διαφορετικών πυρήνων Gabor, πραγματοποιήθηκε μια γενική κατάτμηση των αντικειμένων ενδιαφέροντος. Επιπλέον, εφαρμόστηκε προσαρμοστική χρωματική αποσυνέλιξη για τον διαχωρισμό των καναλιών Αιματοξυλίνης και Ηωσίνης σε συνδυασμό με τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος Chan-Vese για τον εντοπισμό πιθανών δομών μικροστεάτωσης. Το τελικό μεθοδολογικό βήμα περιλάμβανε την εκτέλεση σημασιολογικής κατάτμησης στα φιλτραρισμένα αντικείμενα με το βαθύ U-Net έχοντας ως βάση την αρχιτεκτονική ResNet-34 CNN. Συμπερασματικά, η μέθοδος HEPASS μπόρεσε να διαχωρίσει επικαλυπτόμενες περιοχές σε δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος και να εξαλείψει τα ιστολογικά τεχνουργήματα από τη διαγνωστική διαδικασία. Τα ευρήματα της αυτοματοποιημένης διάγνωσης έδειξαν ακρίβεια ταξινόμησης αντικειμένων λίπους $97,27\%$ και μέσο σφάλμα ποσοτικοποίησης στεάτωσης $1,07\%$, σε σύγκριση με τις χειροκίνητες επισημειώσεις παθολόγων.

Οι Sun et al. [52] ανέπτυξαν μια μέθοδο βαθιάς μάθησης για τον υπολογισμό του ποσοτού συσσώρευσης λίπους σε 96 WSIs ήπατος με χρώση H&E και μεγέθυνση $20\times$. Η μελέτη επικεντρώθηκε στη μεταφορά μάθησης στην προ-εκπαιδευμένη αρχιτεκτονική VGG-16, προκειμένου να αποδοθούν ετικέτες στεάτωσης σε εικονοστοιχεία που αποτελούν περιοχές εναπόθεσης λίπους και να εξαλειφθούν τα υγιή ανατομικά αντικείμενα. Συγκεκριμένα, η εκπαίδευση του μοντέλου CNN χωρίστηκε σε διάφορες φάσεις, κάθε μία από τις οποίες περιλάμβανε το “ξεπάγωμα” του επόμενου συνελικτικού μπλοκ για την ενημέρωση των βαρών λαμβάνοντας υπόψη τα νέα ιστολογικά δεδομένα. Στη συνέχεια, κάθε λεπτομερώς συντονισμένο (fine-tuned) μοντέλο προχώρησε στην ταξινόμηση εικονοστοιχείων εντός επιθεμάτων εικόνας (image patches). Αυτό επιτεύχθηκε πρώτα με την τεχνική κυλιόμενου παραθύρου στις WSIs με διάσταση 832×832 και βήμα 448 εικονοστοιχείων. Προχωρώντας, εφαρμόστηκε ένας συντελεστής υποδειγματοληψίας 32, με αποτέλεσμα οι ταξινομητές να

παράγουν πιθανοτικούς κατηγορηματικούς χάρτες μεγέθους 26×26 εικονοστοιχείων για κάθε επίθεμα εικόνας. Συνολικά, το διαγνωστικό εργαλείο έδειξε επαρκή απόδοση μέτρησης λίπους με καλή συσχέτιση Pearson, τόσο στο σύνολο εκπαίδευσης ($r = 0,88$, $ICC = 0,88$) όσο και σε νέα σύνολα δοκιμής ($r = 0,85$, $ICC = 0,85$), με βάση τις χειροκίνητες επισημειώσεις ιατρών.

Στους Qu et al. [53] προτάθηκε ένα αυτοματοποιημένο σύστημα για την αναγνώριση πολλαπλών πτυχών της NAFLD, όπως η στεάτωση, η ηπατοκυτταρική διόγκωση, η λοβιακή φλεγμονή και η ιστολογική ίνωση. Για τη μελέτη, εξετάστηκαν 87 διαφάνειες βιοψίας χρωματισμένες με H&E και Trichrome και ψηφιοποιημένες σε συντελεστές μεγέθυνσης $5\times$, $10\times$ και $20\times$. Για να μειωθεί η χρωματική διακύμανση μεταξύ των μικροσκοπικών δειγμάτων, κάθε WSI χωρίστηκε σε επιθέματα εικόνας και οι τιμές της έντασής τους κανονικοποιήθηκαν. Ακολούθως, τα δείγματα κάθε ηπατικής κλάσης εισήχθησαν σε ξεχωριστά μοντέλα ResNet-18 CNN, στα οποία ενημερώθηκαν τα βάρη του τελευταίου συνελικτικού μπλοκ για να εξαχθούν χάρτες χαρακτηριστικών που σχετίζονται περισσότερο με το ιστοπαθολογικό πρόβλημα. Συμπερασματικά, δεν εντοπίστηκαν διαφορές στην απόδοση ταξινόμησης μεταξύ των μεγεθύνσεων $5\times$, $10\times$ και $20\times$ όσον αφορά τα αντικείμενα στεάτωσης ($AUROC = 90,48\%$) και ίνωσης, Αντίθετα, ο συντελεστής $20\times$ παράγαγε την βέλτιστη απόδοση για εικόνες λοβιακής φλεγμονής ($AUROC = 70,18\%$) και ο $10\times$ για ηπατοκυτταρικής διόγκωσης, αντίστοιχα. Επιπλέον, η χρώση Trichrome οδήγησε σε καλύτερες προβλέψεις των περιοχών ίνωσης ($AUROC = 83,85\%$) και κυτταρικής διόγκωσης ($AUROC = 81,06\%$).

Οι Taylor-Weiner et al. [54] παρουσίασαν επίσης μια μεθοδολογία για την παρακολούθηση τεσσάρων ιστοπαθολογικών υποτύπων NAFLD-NASH (στεάτωση, κυτταρική διόγκωση, λοβιακή φλεγμονή και ίνωση) σε εικόνες βιοψίας ήπατος από ασθενείς με προχωρημένη NASH. Για τον σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν νέα βαθιά CNN εμπνευσμένα από τις υπολειμματικές (residual) συνδέσεις και τις αρχιτεκτονικές Inception για να διαχωρίσουν τις ιστολογικές περιοχές από το υπόβαθρό τους, να αποκλείσουν υγιή τεχνουργήματα από τις διαγνώσεις και να κάνουν προβλέψεις σε επίπεδο εικονοστοιχείων, με τη μορφή χαρτών θερμότητας, για τα αντικείμενα ηπατικής νόσου στις WSIs. Σε σύγκριση με τις ημιποσοτικές αξιολογήσεις ενός ειδικού ηπατολόγου, βρέθηκαν ικανοποιητικές συσχετίσεις Spearman για τις ταξινομήσεις των περιοχών στεάτωσης ($r = 0,59$) και ίνωσης ($r = 0,63$), ενώ χαμηλότερα επίπεδα συμφωνίας για τις περιοχές κυτταρικής διόγκωσης ($r = 0,39$) και φλεγμονής ($r = 0,34$).

Ομοίως, οι Heinemann et al. [55] ανέπτυξαν έναν αυτοματοποιημένο σύστημα για την ποσοτικοποίηση της σοβαρότητας των τεσσάρων ιστολογικών αλλοιώσεων που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη μελέτη σε μικροσκοπικά δείγματα ήπατος. Για να επιτευχθεί επίσης η

σταδιοποίηση των NAFLD-NASH, το αναπτυσσόμενο λογισμικό έλαβε υπόψη τις κλίμακες βαθμολόγησης Kleiner σε 467 βιοψίες με χρώσεις Masson's Trichrome και Masson-Goldner. Για την αναγνώριση των ασθενικών περιοχών ενδιαφέροντος, διαμορφώθηκε ένα σύνολο δεδομένων εικόνας με χειροκίνητη επισημείωση δειγμάτων κυτταρικής διόγκωσης, φλεγμονής και ίνωσης από έναν βιολόγο, ενώ η επισημείωση στεατωτικών κυττάρων έγινε αυτόματα μέσω της αρχιτεκτονικής U-net. Τα δεδομένα επισημείωσης τροφοδοτήθηκαν στη συνέχεια σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα Inception-v3 CNN και στα τελευταία τους επίπεδα, εφαρμόστηκε μεταφορά μάθησης για την προσαρμογή τους στα νέα πρότυπα ηπατικής νόσου. Ένα CNN χρησιμοποιήθηκε ειδικά για την ανίχνευση περιοχών ίνωσης και ένα άλλο για στεάτωσης, διόγκωσης και φλεγμονής, αντίστοιχα. Διαχωρίζοντας τις WSIs σε πλέγματα επιθεμάτων εικόνας, οι ταξινομήσεις CNN εξήγαγαν έναν χάρτη θερμότητας, ως τη μέθοδο οπτικοποίησης των χωρικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τις εξεταζόμενες ιστολογικές ανωμαλίες. Τέλος, με βάση τα ανιχνευμένα ευρήματα ηπατικής κλάσης, οι ανακτώμενοι χάρτες παρήγαγαν μια ενιαία βαθμολογία δραστηριότητας NAFLD-NASH. Η συμφωνία μεταξύ των υπολογισμένων βαθμολογιών και των αντίστοιχων της βασικής αλήθειας ενός παθολόγου μετρήθηκε με τις μέσες τετραγωνικές σταθμισμένες τιμές κάπα του Cohen (Cohen's kappa), οι οποίες ήταν 0,66 για τη στεάτωση, 0,43 για την κυτταρική διόγκωση, 0,24 για τη φλεγμονή, 0,62 για την ίνωση και 0,52 για τη βαθμολόγηση της δραστηριότητας NAFLD. Παράλληλα, παρήχθη ένα μέσο απόλυτο σφάλμα 0,29 για τη στεάτωση, 0,61 για τη διόγκωση, 0,53 για τη φλεγμονή, 0,78 για την ίνωση και 0,77 για τη βαθμολόγηση της NAFLD.

Στο άρθρο των Yin et al. [56] παρουσιάστηκε το εργαλείο "SparseX" για την αυτόματη μάθηση αραιών ερμηνεύσιμων χαρακτηριστικών και τη βαθμολόγηση της δραστηριότητας NAFLD σε εικόνες βιοψίας ήπατος. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμόστηκε ερμηνεύσιμη χωρική δειγματοληψία (Interpretable Spatial Sampling - ISS) καθοδηγούμενη από χαρακτηριστικά για την ανίχνευση ασθενικών περιοχών βάσει των παρατηρούμενων ιστολογικών αλλοιώσεων. Προκειμένου να επιλεγούν πιο αραιές αναπαραστάσεις, δηλαδή αυτές με μεγαλύτερη μεταβλητότητα, για πιο ακριβείς εντοπισμούς των δομών ενδιαφέροντος, μεθοδεύτηκε η τεχνική της μη-αρνητικής παραγοντοποίησης πίνακα (Non-negative Matrix Factorization - NMF) και ενσωματώθηκε σε ένα βαθύ νευρωνικό δίκτυο. Η προτεινόμενη μέθοδος έλαβε χώρα στα δημοσίως διαθέσιμα σύνολα δεδομένων "SteatosisRaw" και "Liver-NAS". Ένας ειδικός ιατρός αρχικά αξιολόγησε κάθε WSI ημιποσοτικά μέσω χειροκίνητης ταυτοποίησης των ασθενικών τμημάτων, οδηγώντας σε σταδιοποίηση των βαθμών στεάτωσης, ηπατοκυτταρικής διόγκωσης και ιστολογικής φλεγμονής. Όσον αφορά την αυτοματοποιημένη μέθοδο, οι WSIs χωρίστηκαν σε πλέγματα επιθεμάτων εικόνας, από τα οποία επιλέχθηκαν k με βάση τον υποτύπο NAFLD για την εξαγωγή χαρακτηριστικών, ενώ η NMF συνείσφερε στον εντοπισμό της στεάτωσης, της διόγκωσης και της φλεγμονής. Οι μέσες κατανομές-F1 της ISS στο σύνολο δεδομένων SteatosisRaw ήταν 73,1%, 69,9% και 76,7% για τη στεάτωση,

την ηπατοκυτταρική διόγκωση και τη φλεγμονή, αντίστοιχα, όπου προέκυψαν με βάση τα επισημειωμένα ευρήματα του παθολόγου. Όταν χρησιμοποιήθηκε επίσης η τεχνική NMF (ISS + NMF), η ικανότητα ανίχνευσης του SparseX βελτιώθηκε με κατανομές-F1 79,3% για τη στεάτωση και 76,7% για την κυτταρική διόγκωση και τη φλεγμονή. Στο σύνολο δεδομένων Liver-NAS, η χρήση μόνο της ISS οδήγησε σε κατανομές-F1 74,6% για τη στεάτωση, 69,9% για τη διόγκωση και 55,2% για την ίνωση. Ωστόσο, όταν συνδυάστηκε με την NMF, οι κατανομές-F1 αυξήθηκαν σε 70,8% και 56,8%, για τις περιοχές διόγκωσης και φλεγμονής, αντίστοιχα.

2.1.2 Μεθοδολογίες ανάλυσης της μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου

Παρά το γεγονός ότι το πάγκρεας είναι πιο επιρρεπές στην ανάπτυξη στεάτωσης σε σύγκριση με το ήπαρ, η μη-αλκοολική λιπώδης παγκρεατικής νόσος (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease – NAFPD) έχει διερευνηθεί λιγότερο από τη μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (NAFLD). Κατά συνέπεια, οι αυτοματοποιημένες μέθοδοι υπολογιστικής όρασης δεν έχουν εφαρμοστεί εκτενώς σε εικόνες βιοψίας παγκρέατος. Αντ' αυτού, έχει δοθεί μεγαλύτερη έμφαση στην έρευνα με τη χρήση μη-επεμβατικών μεθόδων ιατρικής απεικόνισης και στην ανάλυση της NAFLD. Επιβεβαιώνοντας τα παραπάνω, υπάρχουν λίγες δημοσιευμένες μελέτες παρακολούθησης της παγκρεατικής στεάτωσης, οι οποίες βασίζονται κυρίως σε ημιποσοτικές εξετάσεις ιστολογικών δειγμάτων, σε συνδυασμό με στατιστικές αναλύσεις των διαγνωστικών αποτελεσμάτων.

Ξεκινώντας από τη μελέτη του Olsen [57], στόχος ήταν να εξεταστεί ο βαθμός λιπομάτωσης σε ιστολογικά δείγματα παγκρέατος από ανθρώπινους δότες. 394 άτομα ηλικίας άνω των 20 ετών παρέιχαν βιοψίες από το σώμα του παγκρέατος με χρώση H&E για μικροσκοπική διάγνωση. Μάλιστα, το σύνολο υποδιαιρέθηκε σε ηλικιακές ομάδες των 10 ετών, δηλαδή 20 - 29, 30 - 39, ..., 90 - 99, προτού διερευνηθεί η συσχέτιση της λιπώδους διήθησης με παράγοντες όπως η ηλικία και το βάρος. Τέσσερα στάδια χρησιμοποιήθηκαν για την κατηγοριοποίηση του βαθμού λιπομάτωσης, όπου το στάδιο 1 αντιπροσώπευε τμήματα με αραιά κατανομημένα λιποκύτταρα στο εξωκρινές παρέγχυμα, τα στάδια 2 και 3 αυξημένη περιεκτικότητα σε λιποκύτταρα και το στάδιο 4 τμήματα με μερική ή πλήρη αντικατάσταση των εξωκρινών λοβών από λιπώδη ιστό. Η στατιστική ανάλυση αποκάλυψε ότι η προχωρημένη ηλικία και το υπερβολικό βάρος συσχετίστηκαν σημαντικά με τα επίπεδα λίπους, με τιμή Chi square test ($\chi^2 = 64,08$, $p < 0,001$) και συντελεστή συνάφειας (contingency coefficient) $C = 0,37$. Επιπλέον, οι ασθενείς με λιπομάτωση σταδίων 3 - 4 παρουσίασαν σημαντική αύξηση βάρους, η οποία επαληθεύτηκε στατιστικά με ($\chi^2 = 13,24$, $0,05 > p > 0,02$) και $C = 0,18$.

Οι Wilson et al. [58] επιχείρησαν να προσδιορίσουν τους μηχανισμούς πίσω από το σχηματισμό σταγονιδίων λίπους σε ιστολογικά δείγματα αρουραίων. Σύμφωνα με την κατανομή t-Student (Student's t-test), διαπιστώθηκε ότι οι βάσεις των ακινικών κυττάρων είχαν πολυάριθμες και ομοιόμορφες εναποθέσεις λίπους, ιδίως σε δότες που τρέφονταν με αιθανόλη (15 ± 17 σταγονίδια/τετράγωνο πλέγμα) σε σύγκριση με εκείνες μιας ομάδας ελέγχου (control) ($5 \pm 0,8$) ($p < 10^{-5}$), δηλαδή χωρίς κάποια πειραματική θεραπεία. Επιπρόσθετα, τα ακινικά κύτταρα στα δείγματα των δύο ομάδων είχαν παρόμοια μορφολογία και δεν παρουσίασαν ενδείξεις εκφυλιστικών αλλαγών. Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι η ανάπτυξη λιποκυττάρων στον παγκρεατικό ιστό αποδίδεται εν μέρει στην αυξημένη εστεροποίηση της χοληστερόλης.

Οι Nghiem et al. [59] επικεντρώθηκαν στην ημιποσοτική αξιολόγηση της διήθησης λίπους μεταξύ των παγκρεατικών λοβών και της συσχέτισή της με τον δείκτη μάζας σώματος (BMI), εξετάζοντας 33 ιστολογικές τομές από την κεφαλή, το σώμα και την ουρά 7 παγκρεάτων, χρωματισμένες με H&E και σε μεγέθυνση $40\times$. Μικροσκοπικά, παρατηρήθηκε αυξημένη διήθηση λίπους μεταξύ των παγκρεατικών λοβών καθώς και πάχυνση των μεσολοβιακών διαφραγμάτων με πολυάριθμα λιποκύτταρα στο εσωτερικό τους, που εκτιμάται ότι προκλήθηκε από τον υψηλό BMI = 33,3 των δοτών.

Στόχος της μελέτης των Mathur et al. [60] ήταν να εξακριβωθεί εάν η στεάτωση αποτελεί παράγοντα κινδύνου για μετεγχειρητική παγκρεατική φίστουλα, ως η μη-ομαλή επικοινωνία μεταξύ του παγκρέατος και άλλων οργάνων. Για την διάκριση του λιπώδους ιστού, χρησιμοποιήθηκαν 40 δείγματα βιοψίας με ιστολογική χρώση H&E, ιδίως από τον παγκρεατικό λαϊμό και από ασθενείς με και χωρίς παγκρεατική φίστουλα. Για κάθε δείγμα, εκτιμήθηκε ο συνολικός βαθμός επικράτησης της στεάτωσης, ως η συνολική ποσότητα λίπους εντός ενός μεμονωμένου παγκρεατικού λοβού και μεταξύ πολλαπλών παγκρεατικών λοβών (interlobular) και κατατάχθηκε σε διάφορα στάδια (0 - 4+). Οι διαγνωστικές εξετάσεις έδειξαν ότι, σε σύγκριση με το 13% των ασθενών ελέγχου, τα άτομα με φίστουλα είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ενδολοβιακού, μεσολοβιακού και ολικού παγκρεατικού λίπους, ενώ το 50% από αυτά κατηγοριοποιήθηκε σε στάδια στεάτωσης > 3 ($P < 0,001$). Σε μια μεταγενέστερη μελέτη [61], η ίδια ερευνητική ομάδα πραγματοποίησε δοκιμές για να διαπιστωθεί εάν η διήθηση λίπους και η συσσώρευση ίνωσης συνδέονται με άτομα με αδenoκαρκίνωμα παγκρέατος. Οι ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί για αδenoκαρκίνωμα είχαν σημαντικά περισσότερο παγκρεατικό λίπος από εκείνους που ήταν αρνητικοί ($46,4 \pm 8,7$ έναντι $21,4 \pm 4,8$, $p < 0,02$). Όσον αφορά τους θετικούς ασθενείς, είχαν επίσης μειωμένα ποσοστά ίνωσης ($1,7 \pm 0,3$ έναντι $2,7 \pm 0,3$, $p < 0,02$).

Στους Pinnick et al. [62] διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ της ιστολογικής περιεκτικότητας σε λίπος, της τριακυλογλυκερόλης (TG) και του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Type-2

Diabetes Mellitus - T2DM). Συγκεκριμένα, ο ποσοτικός επιπολασμός των λιποκυττάρων υπολογίστηκε με τη χρήση του λογισμικού επεξεργασίας εικόνας ImageJ και μορφομετρικών τεχνικών σε ιστολογικές εικόνες χρωματισμένες με Αιματοξυλίνη. Αρχικά, τα λιποκύτταρα φάνηκε να καταλαμβάνουν έως και το 20% της ιστολογικής περιοχής. Η ιστολογική ανάλυση των βιοψιών επιβεβαίωσε επίσης ότι η ποσοτικός προσδιορισμός του λίπους συσχετίστηκε σημαντικά με την περιεκτικότητα σε TG ($r = 0,64$, $P < 0,05$), ανεξάρτητα από τη διαβητική κατάσταση κάθε ασθενούς.

Οι Rosso et al. [63] διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ της εξάπλωσης του λίπους και της ανάπτυξης παγκρεατικής φίστουλας σε 111 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε παγκρεατογαστροστομία. Η ποσοτική αξιολόγηση της λιπώδους διήθησης πραγματοποιήθηκε σε δείγματα βιοψίας που χρωματίστηκαν με H&E και εκφράστηκε ως η αναλογία των λιποκυττάρων στην ενδολοβιακή (intralobular) και μεσολοβιακή (interlobular) περιοχή προς τη συνολική επιφάνεια του ιστού. Σύμφωνα με μια μονομεταβλητή ανάλυση, η αυξημένη διήθηση παγκρεατικού λίπους ($> 10\%$) συσχετίστηκε σημαντικά με την παρουσία φίστουλας ($P = 0,0003$). Παρόμοια με τη μελέτη του Olsen [57], τα αυξημένα επίπεδα παγκρεατικού λίπους συσχετίστηκαν σημαντικά με την προχωρημένη ηλικία ($P = 0,049$) και τον BMI ($P < 0,0001$).

Οι Fraulob et al. [64] εξέτασαν τη σχέση μεταξύ NAFPD, λιπώδους ήπατος και αντίστασης στην ινσουλίνη σε βιοψίες ποντικών με χρώση H&E. Για τη διερεύνηση της μορφομετρίας των λιποκυττάρων και τη μέτρηση του επιπολασμού τους, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, ΗΠΑ). Για την ανάδειξη των λιποκυτταρικών περιοχών ενδιαφέροντος, χρησιμοποιήθηκε ένα εργαλείο επιλογής με βάση μια τιμή κατωφλίου πυκνότητας εικονοστοιχείων. Συνοπτικά, σε δείγματα με υψηλότερο λόγο στεάτωσης, οι λιπώδεις δομές είχαν μορφομετρία $86,5 \pm 0,9 \mu\text{m}$ σε αντίθεση με $56,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$ σε δείγματα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λίπος ($p < 0,0001$). Σημειώνεται επίσης ότι δείγματα με αυξημένη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ και το πάγκρεας παρουσίασαν συμπτώματα αντίστασης στην ινσουλίνη ($p < 0,0001$). Οι συγγραφείς ισχυρίστηκαν ότι παρόμοια φαινόμενα ισχύουν για παράγοντες του ανθρώπινου μεταβολικού συνδρόμου, που μπορεί τελικά να οδηγήσουν σε χρόνια παγκρεατίτιδα.

Ο στόχος των Gaujoux et al. [65] ήταν η αξιολόγηση της επίδρασης του BMI σε ασθενείς με παγκρεατεκτομή ως πιθανό παράγοντα κινδύνου για παγκρεατική φίστουλα (Pancreatic Fistula - PF). Πραγματοποιήθηκε ιστολογική εξέταση σε 100 δείγματα βιοψίας H&E που ελήφθησαν από τον λαιμό του παγκρέατος και τα διαγνωστικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε πολυπαραγοντική ανάλυση με τη μέθοδο Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic Regression - LR). Με βάση την περιφερική (perilobular) και εντός μεμονωμένων παγκρεατικών λοβών (intralobular) διήθηση των φυσαλίδων στεάτωσης, υπολογίστηκε ο συνολικός επιπολασμός του λίπους. Πέραν τούτου, βαθμολογήθηκαν οι περιοχές παγκρεατικής ίνωσης

που αναπτύχθηκαν επίσης περιφερικά και εντός μεμονωμένων λοβών. Σύμφωνα με την πολυπαραγοντική ανάλυση, ο $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ και η παρουσία φυσαλίδων λίπους ήταν οι σημαντικότεροι προγνωστικοί παράγοντες της PF ($P < 0,0001$). Από την άλλη πλευρά, η παγκρεατική ίνωση δεν αποδείχθηκε καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη PF. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC (AUROC) για αυτές τις εκτιμήσεις ήταν 0,78, υποδεικνύοντας μια αντικειμενική βαθμολογία που ήταν σύμφωνη με τις ημιποσοτικές διαγνώσεις δύο κλινικών ιατρών. Η ακρίβεια της κάθε βαθμολόγησης PF αποδείχθηκε επίσης από το τεστ Hosmer-Lemeshow ($P = 0,98$), το οποίο υποδηλώνει συμφωνία μεταξύ των τιμών του μοντέλου LR και των παρατηρούμενων ποσοστών διάγνωσης των κλινικών ιατρών.

Οι Van Geenen et al. [66] αναζήτησαν πιθανές συσχετίσεις μεταξύ της παγκρεατικής στεάτωσης και της NAFLD σε 80 βιοψίες από αποθανόντες δότες. Πιο εμφατικά, χρησιμοποιήθηκε η μονομεταβλητή διατάξιμη (univariate ordinal) Λογιστική Παλινδρόμηση για τη συσχέτιση πολλαπλών ιστολογικών παραμέτρων-παθήσεων σε δείγματα παγκρέατος (λίπος) και ήπατος (λίπος, ηπατοκυτταρική διόγκωση και λοβιακή φλεγμονή) και για δύο παραμέτρους, η δυωνυμική (binary) Λογιστική Παλινδρόμηση, αντίστοιχα. Το ολικό παγκρεατικό λίπος βρέθηκε να αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα του επιπολασμού της NAFLD ($P = 0,02$). Επιπλέον, το μεσολοβιακό και το ολικό παγκρεατικό λίπος ($P = 0,02$ και $P = 0,03$, αντίστοιχα) βρέθηκαν να είναι σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες της βαθμολογίας δραστηριότητας NAFLD. Τέλος, σε αντίθεση με το ολικό λίπος, η παρουσία ενδολοβιακού παγκρεατικού λίπους συσχετίστηκε με τη μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH).

Οι Barriere et al. [67] ανέπτυξαν ένα μοντέλο για την παρακολούθηση των επιπτώσεων του μεταβολικού συνδρόμου σε ασθενείς με T2DM, συμπεριλαμβανομένης της αντίστασης στην ινσουλίνη, της δυσλειτουργίας των β-κυττάρων και άλλων βλαβών. Για να επιτευχθεί αυτό, ψηφιοποιημένες βιοψίες αρουραίων χρωματισμένες με Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη-Σαφράν (Hematoxylin-Eosin-Safran) αναλύθηκαν με το λογισμικό NIS-Elements Advanced Research (Nikon Instruments Inc., Τόκυο, Ιαπωνία). Πιο τεχνικά, το μέγεθος των νησίδων Λάνγκερχανς (Langerhans) υπολογίστηκε με βάση την αντίθεσή τους με τα συμπλέγματα κυττάρων (άκτινοι) χρησιμοποιώντας μια αυτόματα καθορισμένη τιμή κατωφλίου. Οι μορφομετρικές αναλύσεις των παγκρεατικών εικόνων αποκάλυψαν ότι ο αριθμός των νησίδων Langerhans μειώθηκε σημαντικά στα διαβητικά δείγματα λόγω της δυσλειτουργίας των β-κυττάρων τους ($P < 0,05$). Επίσης, σε σύγκριση με δείγματα ελέγχου, το μέγεθος των υφιστάμενων νησίδων αυξήθηκε σημαντικά ($P < 0,01$), έχοντας επίσης υπερπλαστικές και αιμορραγικές αλλοιώσεις, που καταδεικνύουν την ύπαρξη T2DM.

Οι Sokmen et al. [68] διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ ηπατικής και παγκρεατικής στεάτωσης σε 228 ασθενείς με NAFLD. Για τον προσδιορισμό του βαθμού συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ χρησιμοποιήθηκαν τόσο η αξονική τομογραφία (CT) όσο και οι διαφάνειες βιοψίας, ενώ για το πάγκρεας τρεις διαφορετικές απεικονιστικές μέθοδοι βασισμένες στην CT,

αντίστοιχα. Συμπερασματικά, βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των βαθμών στεάτωσης που προσδιορίστηκαν με βιοψίες ήπατος και εκείνων με CT ($p < 0,001$). Αντίθετα, δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων παγκρεατικού λίπους στην CT και εκείνων στο ήπαρ που καθορίστηκαν με βιοψία ($p > 0,05$).

Οι Naik et al. [69] ανέπτυξαν το εργαλείο “Fatquant” για τον εντοπισμό περιοχών διήθησης λίπους σε βιοψίες παγκρέατος H&E από μια δημοσίως προσβάσιμη βάση δεδομένων. Για τον διαχωρισμό των επικαλυπτόμενων λιποκυττάρων με διαγώνια γειτνίαση και την εξάλειψη των ιστολογικών τεχνουργημάτων, εφαρμόστηκε ένας πυρήνας τετραγωνικού σχήματος πεπερασμένου μεγέθους στις αρχικές εικόνες H&E. Επομένως, διατηρήθηκαν μεμονωμένες φυσαλίδες λίπους που πληρούσαν τα κριτήρια των τιμών μικρομέτρου (micron) ανά εικονοστοιχείο και διαμέτρου. Η διαδικασία κατάτμησης πραγματοποιήθηκε επίσης με την υπάρχουσα μέθοδο “Adiposoft”, η οποία δυαδικοποίησε τα δείγματα με μια τιμή κατωφλίου, αντί να λάβει υπόψη την παράμετρο του μικρόμετρου στα χρωματικά κανάλια. Για να αξιολογηθεί η ακρίβεια ανίχνευσης των αλγόριθμων ανάλυσης εικόνας, υπολογίστηκε ο λόγος τομής προς την ένωση (Intersection over Union - IoU) για να προσδιοριστεί η ομοιότητα κατάτμησης μεταξύ των αυτομάτως καθορισμένων περιοχών λίπους και των αντίστοιχων περιοχών βασικής αλήθειας από χειροκίνητες επισημειώσεις. Εν κατακλείδι, οι τιμές IoU του Fatquant κυμάνθηκαν από 0,797 έως 0,966, υποδεικνύοντας ικανοποιητικές αποδόσεις ανίχνευσης των περιοχών στεάτωσης. Αντίθετα, η μέθοδος Adiposoft είχε μειωμένη απόδοση, με τις τιμές IoU να κυμαίνονται από 0 έως 0,935, αδυνατώντας να ανιχνεύσει οποιαδήποτε δομή λίπους σε πολλά δείγματα.

2.1.3 Μεθοδολογίες ανάλυσης της νεφροκυτταρικού καρκινώματος

Ως αποτέλεσμα των εξελίξεων στην ιστολογική απεικόνιση, η εξέταση των εικόνων μικροσκοπίας έχει αναδειχθεί ως το χρυσό πρότυπο για τις κλινικές μελέτες του νεφροκυτταρικού καρκινώματος (Renal Cell Carcinoma - RCC), μειώνοντας σημαντικά τα ζητήματα που σχετίζονται με την υποκειμενικότητα στις ανθρώπινες ερμηνείες. Η υπάρχουσα βιβλιογραφία περιλαμβάνει μεθοδολογίες υπολογιστικής όρασης για τη στόχευση διάφορων υποτύπων του RCC σε δείγματα βιοψίας με ιστολογική χρώση H&E, η οποία προτιμάται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια για την παρατήρηση κυτταροπλασματικών και πυρηνικών λεπτομερειών.

Οι Waheed et al. [70] είχαν ως στόχο την ποσοτική αξιολόγηση του RCC σε 64 ιστολογικά δείγματα H&E που ελήφθησαν με ολική νεφρεκτομή. Το αναπτυσσόμενο εργαλείο επικεντρώθηκε αρχικά στην κατάτμηση ογκολογικών δομών ενδιαφέροντος χρησιμοποιώντας τεχνικές επεξεργασίας εικόνας, όπως το Γκαουσιανό φίλτρο θολώματος (Gaussian blur)

για την ενίσχυση των ακμών, η ομαδοποίηση K-means για τον διαχωρισμό των καρκινικών κυττάρων από το υπόβαθρό τους, τους μορφολογικούς τελεστές συστολής και διαστολής για την εξάλειψη ανεπιθύμητων τεχνουργημάτων και τον μετασχηματισμό λεκάνης απορροής για τον διαχωρισμό επικαλυπτόμενων κυτταρικών δομών. Ως τελικό βήμα, εφαρμόζοντας τον αλγόριθμο Naive Bayes, τα αντικείμενα κατάτμησης χωρίστηκαν σε τέσσερις υποτύπους RCC: 1) διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (clear cell Renal Cell Carcinoma - ccRCC), 2) θηλώδες νεφρικό καρκίνωμα (papillary Renal Cell Carcinoma - pRCC), 3) χρωμοφοβικό νεφρικό καρκίνωμα (chromophobe Renal Cell Carcinoma - chrRCC) και 4) νεφρικό ογκοκύττωμα (Renal Oncocytoma - ROnc). Σύμφωνα με τον χαρακτηρισμό των κατατμημένων αντικειμένων από έναν παθολόγο, η υπολογιστική μέθοδος παράγαγε ακρίβεια ταξινόμησης των υποτύπων RCC ίση με 98,4%.

Ομοίως, οι Chaudry et al. [71] επικεντρώθηκαν στην αναγνώριση των υποτύπων ccRCC, pRCC, chrRCC και ROnc του RCC σε 48 εικόνες βιοψίας H&E με συντελεστή μεγέθυνσης 200×. Για να μειωθούν πρώτα οι έντονες διακυμάνσεις στις τιμές των εικονοστοιχείων, οι έγχρωμες εικόνες μετατράπηκαν πρώτα σε αντίστοιχες κλίμακας του γκρι τεσσάρων επιπέδων. Στη συνέχεια, η ομαδοποίηση K-means βοήθησε στον διαχωρισμό των ασθενικών περιοχών ενδιαφέροντος, ώστε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω ανάλυση αυτών. Συγκεκριμένα, υπολογιστικά στοιχεία που σχετίζονται με τις μορφολογικές και υφικές ιδιότητες των ογκολογικών τμημάτων, καθώς και η αντίθεση, η ενέργεια, η ομογένεια και η εντοπία, με τη μέθοδο του πίνακα συνεμφάνισης επιπέδων του γκρι (Gray Level Co-occurrence Matrix – GLCM). Τέλος, ο διακριτός μετασχηματισμός κυματιδίων (discrete wavelet transform) τεσσάρων επιπέδων συνέβαλλε στον υπολογισμό πρόσθετων χαρακτηριστικών υφής για κάθε δομή RCC. Με βάση τις εξαγόμενες τιμές, ο υποτύπος νεφρικού καρκίνου προσδιορίστηκε από τον αλγόριθμο Naive Bayes, ο οποίος παράγαγε ακρίβεια ταξινόμησης 87,5%. Σε μια προσπάθεια βελτίωσης της μεθοδολογικής προσέγγισης [72], η κατάτμηση K-means τεσσάρων επιπέδων του γκρι ακολουθήθηκε από την εφαρμογή μορφολογικών τελεστών για το φιλτράρισμα περιοχών υψηλής πυκνότητας. Σε αντίθεση με την προηγούμενη μελέτη, εξήχθησαν μόνο χαρακτηριστικά με βάση τη GLCM, ενώ ο ταξινομητής Naive Bayes εφαρμόστηκε για τη διάκριση των καρκινικών κυττάρων από διάφορες ανατομικές δομές, όπως αδένες, κυτταρόπλασμα και ερυθρά αιμοσφαίρια. Ως αποτέλεσμα, η ακρίβεια ανίχνευσης των υποτύπων ccRCC, pRCC, chrRCC και ROnc αυξήθηκε στο 95%.

Οι Kruk et al. [73] παρουσίασαν ένα εργαλείο για τη σταδιοποίηση ογκολογικών περιοχών ccRCC με βάση το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman σε 94 δείγματα βιοψίας χρωματισμένα με H&E και ψηφιοποιημένα σε μεγέθυνση 400×. Κατά το στάδιο της προεπεξεργασίας εικόνας, εφαρμόστηκε ο μετασχηματισμός κυματιδίων για την αποθρομβοποίηση και τη ενίσχυση των ακμών στα αντικείμενα και ο μετασχηματισμός λεκάνης απορροής για τον διαχωρισμό επικαλυπτόμενων καρκινικών κυττάρων ενδιαφέροντος. Επιπρόσθετα,

εφαρμόστηκε ένα στάδιο μετα-επεξεργασίας για τη συγχώνευση υπερκατατμημένων περιοχών με χαμηλά επίπεδα αντίθεσης και την εξάλειψη μικροσκοπικών τεχνουργημάτων. Σε επόμενη φάση χρησιμοποιήθηκαν πολλαπλές τεχνικές για την εξαγωγή χαρακτηριστικών μορφομετρίας, χρώματος, υφής και ιστογράμματος, ενώ η επιλογή των πιο πληροφοριακών έγινε με τη μέθοδο του Fisher, τον Γενετικό Αλγόριθμο, τον εκτιμητή Τυχαίου Δάσους (Random Forest estimator) και τη μέθοδο φιλτραρίσματος βάσει της γρήγορης συσχέτισης (fast correlation-based filter). Προκειμένου να βελτιωθεί η ακρίβεια ταξινόμησης των ασθενικών δομών κατάτμησης, τα επιλεγμένα χαρακτηριστικά εισήχθησαν σε έναν συνδυασμό των ταξινομητών SVM και Random Forest σε ομάδα (ensemble). Συνολικά, το σύστημα αναγνώρισης βαθμού Fuhrman παρουσίασε μέση ακρίβεια 96,7%.

Στην μελέτη των Holdbrook et al. [74] αναπτύχθηκε ένα αυτοματοποιημένο σύστημα αξιολόγησης του βαθμού Fuhrman (χαμηλός = Fuhrman 1 και 2, υψηλός = Fuhrman 3 και 4) σε WSIs βιοψιών που ελήφθησαν από 59 ασθενείς με ccRCC. Για τον προσδιορισμό των συντεταγμένων οριοθέτησης των ογκολογικών δομών, εφαρμόστηκαν δύο ανιχνευτές βασισμένοι σε εκπαιδευμένα μοντέλα πολλαπλών καταρρακτών (cascades) Viola-Jones, ο ένας για εικόνες με υψηλό βαθμό ccRCC και ο άλλος για χαμηλό, αντίστοιχα. Αυτές οι συντεταγμένες επέτρεψαν την εξαγωγή επιθεμάτων εικόνας, από τα οποία ανακτήθηκαν αριθμητικά χαρακτηριστικά με βάση το ιστόγραμμα πολικής διαβάθμισης (Histogram of Polar Gradient - HPG), το ενισχυμένο ιστόγραμμα πολικής διαβάθμισης (Enhanced Histogram of Polar Gradient - EHPG), την ανάλυση αποκλειστικών συνιστωσών (Exclusive Component Analysis feature - XCA) και τις ακατέργαστες εντάσεις εικονοστοιχείων (Raw Pixel Intensities - RPI) στα πυρήνια (nucleoli) των καρκινικών κυττάρων. Χρησιμοποιώντας τα εξαγόμενα διανύσματα χαρακτηριστικών εκπαιδεύτηκαν οι αδύναμοι (weak) ταξινομητές SVM (με τιμές HPG), Logistic Regression (με RPI) και AdaBoost (με EHPG-XCA), οι οποίοι συνδυάστηκαν σε έναν ισχυρό (strong) ταξινομητή AdaBoost. Με βάση τις ετικέτες βασικής αλήθειας που καθορίστηκαν από έναν εμπειρογνώμονα παθολόγο, οι κατανομές-F (F-scores) των πρώτων 400 ταξινομημένων δομών κυμάνθηκαν μεταξύ 0,78 και 0,83.

Οι Tian et al. [75] επικεντρώθηκαν επίσης στην ταξινόμηση ιστολογικών δειγμάτων ccRCC σε δύο στάδια Fuhrman, χρησιμοποιώντας δεδομένα εικόνας από το αποθετήριο “The Cancer Genome Atlas” (TCGA), το οποίο περιέχει καρκινικά δείγματα από πολλά όργανα, συμπεριλαμβανομένων εικόνων μικροσκοπίας RCC με χρώση H&E. Για να γίνει αυτό, εξήχθησαν μικρότερες ιστολογικές τομές από WSIs και ο χρωματικός χώρος RGB μετατράπηκε σε HSV για να τονιστούν καλύτερα τα εξωτερικά όρια των ασθενικών αντικειμένων ενδιαφέροντος. Ύστερα, τα κύτταρα ccRCC κατατμήθηκαν με παραδοσιακές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας (προσαρμοστική κατωφλίωση, μορφολογική επεξεργασία, μετασχηματισμός λεκάνης απορροής κ.λ.π.). Συνεχίζοντας, χάρη στην τεχνική Παλινδρόμησης Lasso (Lasso Regression) επιλέχθηκαν τα πιο πληροφοριακά μορφολογικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά έντασης (από τα 26 συνολικά) και τροφοδοτήθηκαν ως είσοδοι σε εποπτευόμενους

αλγόριθμους, μερικοί από τους οποίους ήταν οι SVM, Random Forest και ένα Τεχνητό Νευρωνικό Δίκτυο (Artificial Neural Network - ANN). Από τα ανακτηθέντα διαγνωστικά αποτελέσματα, η μεθοδολογική προσέγγιση παρήγαγε μέγιστη ακρίβεια ταξινόμησης 83,3%, η οποία παρουσίασε καλή συμφωνία με τις ημιποσοτικές αξιολογήσεις δύο παθοανατόμων.

Στους He et al. [76] εφαρμόστηκε μια μεθοδολογία για την ανάλυση ιστολογικών ανωμαλιών σε μοριακό επίπεδο σε 77 εικόνες H&E με RCC. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, συλλέχθηκαν χαρακτηριστικά από δεδομένα σήματος φασματοσκοπίας Raman και τροφοδοτήθηκαν στους αλγόριθμους SVM, k-NN, Random Forest, AdaBoost και ANN για τον διαχωρισμό των ογκολογικών τμημάτων από τους υγιείς ιστούς και τα λιποκύτταρα. Η ερευνητική ομάδα στόχευσε επίσης στην αυτόματη αναγνώριση διάφορων υποτύπων RCC, όπως ccRCC, pRCC, chrRCC και καρκίνωμα συλλεκτικού πόρου (Collecting Duct Carcinoma - CDC), καθώς και στη βαθμολόγηση Fuhrman των κυττάρων του ccRCC, επιλύοντας ένα πρόβλημα ταξινόμησης 2-κλάσεων, όπου οι βαθμοί Fuhrman 1 και 2 συνδυάστηκαν για να υποδείξουν το αρχικό στάδιο, ενώ οι Fuhrman 3 και 4 το προχωρημένο, αντίστοιχα. Πριν από την εκπαίδευση των μοντέλων ταξινόμησης, επιλέχθηκαν τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιώντας την προσέγγιση ορίου διακύμανσης (variance threshold) για τη μείωση των δεδομένων σήματος με χαμηλή μεταβλητότητα. Ο SVM αναδείχθηκε τελικά ως ο βέλτιστος ταξινομητής, παράγοντας ακρίβεια διάκρισης 92,89%, μεταξύ των ογκολογικών αντικειμένων, υγιών ιστών και λιπιδίων. Επιπλέον, η μέθοδος απέδωσε ακρίβεια ταξινόμησης 86,79% και 89,53% για τους υποτύπους RCC και τον βαθμό Fuhrman στα κύτταρα ccRCC, αντίστοιχα.

Η πρόσφατη έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανάπτυξη ακριβέστερων μεθόδων για την ανίχνευση κακοήθων αλλοιώσεων σε ιστολογικά δείγματα νεφρών. Αυτό έχει οδηγήσει στη χρήση υπολογιστικών συστημάτων που βασίζονται σε βαθιά νευρωνικά δίκτυα, τα οποία έχουν επιδείξει βελτιωμένες αποδόσεις σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους μηχανικής μάθησης.

Οι Song et al. [77] παρουσίασαν ένα μεθοδολογικό πλαίσιο για την κατάτμηση κυττάρων και πυρηνίων σε ογκολογικά δείγματα βιοψίας διάφορων οργάνων, συμπεριλαμβανομένου ενός συνόλου δεδομένων εικόνας νεφρού από το αποθετήριο "Kidney Renal Cell Carcinoma" (KIRC). Η αυτοματοποιημένη προσέγγιση βασίστηκε στο φιλτράρισμα χαρακτηριστικών μέσω πυρήνων συνέλιξης προτού τροφοδοτηθούν σε ένα μοντέλο καταρράκτη. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, εφαρμόστηκε η τεχνική αραιής παλινδρόμησης (sparse regression) για την επαναληπτική ενημέρωση της εξίσωσης των καμπυλών B-spline, έτσι ώστε οι θέσεις των περιγραμμάτων ανίχνευσης να συγκλίνουν στα πραγματικά όρια κάθε καρκινικής δομής. Η ιδέα βασίστηκε επίσης στην τεχνική ενίσχυσης της κλίσης Δέντρων Απόφασης (Gradient Boosting Decision Trees), για τον διαχωρισμό επικαλυπτόμενων αντικειμένων με τον καθορισμό των σημείων καμπυλότητας κάθε μεμονωμένου κυττάρου. Για να αξιολογηθεί

η αποτελεσματικότητα της μεθόδου, υπολογίστηκε ο συντελεστής ομοιότητας Dice μεταξύ των κατατμημένων εικονοστοιχείων και των αντίστοιχων βασικής αλήθειας από το σύνολο δεδομένων KIRC. Τα τελικά αποτελέσματα έδειξαν πολύ καλή απόδοση με μέσο συντελεστή Dice 0,914.

Οι Tabibu et al. [78] επικεντρώθηκαν στην αναγνώριση των καρκινικών υποτύπων ccRCC, chrRCC, pRCC και στο διαχωρισμό τους από υγιή τμήματα σε εικόνες βιοψίας νεφρού από τη βάση δεδομένων TCGA. Η αυτοματοποιημένη ανάλυση βασίστηκε αρχικά στη μεταφορά μάθησης στις προ-εκπαιδευμένες αρχιτεκτονικές ResNet-18 και ResNet-34 CNN με τα νέα ιστοπαθολογικά δεδομένα. Στη συνέχεια, με την εφαρμογή μιας τιμής κατωφλίου στα εικονοστοιχεία των WSIs, εξήχθησαν οι ογκολογικές περιοχές ενδιαφέροντος με τη μορφή υποπαραθύρων εικόνας πριν τροφοδοτηθούν στο επίπεδο εισόδου των CNN. Όσον αφορά τις πρώιμες δοκιμές της μεθόδου, το βέλτιστο ResNet-18 μοντέλο παρήγαγε χαμηλή ακρίβεια ταξινόμησης 87,69%. Για να αυξηθεί η απόδοση των βαθύων ταξινομητών, το πρόβλημα αναγνώρισης πολλαπλών κλάσεων μετατράπηκε σε επιμέρους δυαδικά αντικαθιστώντας την τελική συνάρτηση softmax με πολλαπλούς ταξινομητές SVM εντός ενός κατευθυνόμενου ακυκλικού γραφήματος (Directed Acyclic Graph – DAG). Ως εκ τούτου, χάρη στην υβριδική προσέγγιση “CNN - DAG-SVM”, η ακρίβεια ταξινόμησης μεταξύ υγιών από ογκολογικών τμημάτων έφτασε το 93,39% με το ResNet-18 και το 87,34% με το ResNet-34. Επιπλέον, η ακρίβεια διαχωρισμού των τριών υποτύπων καρκίνου ήταν ίση με 94,07%.

Οι Fenstermaker et al. [79] κατασκεύασαν μια νέα τοπολογία CNN για τη διάκριση μεταξύ RCC και καλοήθων ιστολογικών δειγμάτων, καθώς και για την αναγνώριση υποτύπων RCC (ccRCC, chrRCC και pRCC) και βαθμού Fuhrman (1 - 4) του ccRCC. Προκειμένου να γενικευτεί η μέθοδος σε νέα φυσιολογικά και καρκινικά δείγματα, εικόνες από το σύνολο δεδομένων TCGA χρησιμοποιήθηκαν ως δεδομένα εκπαίδευσης και υποβλήθηκαν σε διάφορους τυχαίους γεωμετρικούς μετασχηματισμούς, όπως περιστροφή και αναστροφή στα επίπεδα συνέλιξης του βαθύ CNN. Για τη διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων αντικειμένων, εφαρμόστηκε ένα δυαδικό επίπεδο εξόδου με τη σιγμοειδή συνάρτηση ενεργοποίησης, ενώ για την ταξινόμηση του υποτύπου RCC ή του βαθμού Fuhrman ccRCC, υπολογίστηκε η κατηγορηματική ετικέτα κλάσης χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση ενεργοποίησης softmax. Το νέο μοντέλο CNN παρήγαγε ακρίβεια 99,1% κατά τη διάκριση του φυσιολογικού παρεγχύματος από τον καρκινογενή ιστό, ενώ κατά την ταξινόμηση των υποτύπων RCC και του βαθμού Fuhrman ήταν ισοδύναμη με 97,5% και 98,4%, αντίστοιχα.

Οι Lu et al. [80] πρότειναν τη μέθοδο βαθιάς μάθησης “CLAM” για την αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των καρκινικών υποτύπων ccRCC, chrRCC και pRCC στα νεφρικά κύτταρα, πέρα από τη διάκριση μεταξύ φυσιολογικού και ογκολογικού ιστού στις WSIs του συνόλου δεδομένων TCGA. Η αρχική φάση της διαδικασίας περιλάμβανε την κατάτμηση των ιστολογικών περιοχών χρησιμοποιώντας κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας,

όπως κατωφλίωση στο κανάλι κορεσμού, θόλωση με διάμεσο φίλτρο για εξομάλυνση των ακμών και πλήρωση κενών και οπών με τον μορφολογικό τελεστή κλεισίματος. Μετά την εξαγωγή της δυαδικής μάσκας η ανιχνευθείσα ιστολογική περιοχή χωρίστηκε σε επιθέματα εικόνας. Αυτά στη συνέχεια εισήχθησαν στο μοντέλο ResNet-50 CNN για την εκτέλεση κατάτμησης στιγμιότυπων (instance segmentation) και εξαγωγής χαρτών θερμοότητας για την επισήμανση μορφολογικών χαρακτηριστικών με υψηλή διαγνωστική αξία. Τέλος, ακολούθησε ομαδοποίηση των τιμών των χαρτών για τον δυαδικό διαχωρισμό υγιών και αλλοιωμένων ιστολογικών τμημάτων, αλλά και διαφορετικών υποτύπων καρκίνου. Συμπερασματικά, η μέθοδος παρήγαγε υψηλή απόδοση με ROC-AUC > 0,95 τόσο στις δυαδικές ταξινομήσεις όσο και στην ταυτοποίηση των υποτύπων του RCC.

Οι Safarpour et al. [81] παρουσίασαν επίσης μια προσέγγιση βαθιάς μάθησης για την αναγνώριση υποτύπων RCC (ccRCC, chrRCC και pRCC) στις WSIs του δημοσίως διαθέσιμου συνόλου δεδομένων TCGA. Αυτό επιτεύχθηκε εξετάζοντας πρώτα τα όρια της ιστολογικής περιοχής σε κάθε δείγμα και τροφοδοτώντας τα στην αρχιτεκτονική DenseNet-121 CNN με τη μορφή επιθεμάτων εικόνας για την ανίχνευση των κακοήθων σχηματισμών. Επιπλέον, με την κανονικοποίηση των χρωματικών διακυμάνσεων σε μεγέθυνση $2,5\times$ των δειγμάτων H&E, το μοντέλο CNN μπόρεσε να εμβαθύνει σε λεπτομέρειες τόσο σε επίπεδο δομής όσο και σε επίπεδο υψής για κάθε δομή RCC με χαμηλό υπολογιστικό κόστος. Σύμφωνα με τους εξαγόμενους χάρτες ενεργοποίησης των χαρακτηριστικών συνέλιξης (Convolution Activation Map - CAM), το βαθύ μοντέλο επικεντρώθηκε με επιτυχία στα ασθενικά μοτίβα, έχοντας ως αποτέλεσμα κατανομές-F1 $\leq 0,95$ κατά την ταξινόμηση των υποτύπων RCC στις εικόνες βιοψίας.

Ομοίως, οι Zhu et al. [82] χρησιμοποίησαν ένα βαθύ CNN για την ταξινόμηση του RCC στις κατηγορίες ccRCC, pRCC, chrRCC και ROnc σε ψηφιοποιημένες διαφάνειες βιοψίας και χειρουργικής εκτομής από το σύνολο δεδομένων TCGA. Για την αναγνώριση κάθε κακοήθους δομής, το ιστολογικό τμήμα εξήχθη από το φόντο του, χωρίστηκε σε επιθέματα εικόνας και εισήχθη στην αρχιτεκτονική ResNet-18. Για να προσδιοριστεί η ιδανική τιμή κατωφλίου για τις πιθανότητες πρόβλεψης του βαθύ μοντέλου και να απορριφθούν ταξινομήσεις με χαμηλότερες βαθμολογίες εμπιστοσύνης, εφαρμόστηκε η τεχνική βελτιστοποίησης αναζήτησης πλέγματος (Grid-search) σε στατιστικές ιδιότητες των επιθεμάτων εικόνας. Συμπερασματικά, οι μέσες τιμές ROC-AUC για την ταξινόμηση των WSIs κυμαίνονταν από 97% έως 98%.

Στους Bidgoli et al. [83] παρουσιάστηκε μια μέθοδος εξελικτικής βελτιστοποίησης σε ένα βαθύ νευρωνικό δίκτυο για τον ακριβή χαρακτηρισμό υποτύπων καρκίνου σε WSIs του αποθετηρίου TCGA, συμπεριλαμβανομένων βιοψιών νεφρού σε ccRCC, chrRCC και pRCC. Αρχικά, κάθε διαφάνεια βιοψίας προβλήθηκε σε μεγέθυνση $20\times$ και χωρίστηκε σε επιθέματα εικόνας. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε η αρχιτεκτονική KimiaNet για την εξαγωγή τιμών

χαρακτηριστικών από τα ακατέργαστα δεδομένα εικόνας. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν η πιο ιδανική επιλογή, λόγω του ότι είχε προηγουμένως εκπαιδευτεί με ιστοπαθολογικά δείγματα. Το επόμενο βήμα ήταν μια στοχαστική αναζήτηση με τον αλγόριθμο k-NN για την εύρεση μιας νέας γενιάς πιο πληροφοριακών χαρακτηριστικών. Για να αξιολογηθεί η βέλτιστη απόδοση ταξινόμησης στις WSIs με το νέο υποσύνολο, καθορίστηκε η υψηλότερη κατανομή-F1 με την τεχνική συνόρου Pareto (Pareto front). Συγκεκριμένα, η μέση κατανομή-F1 της εξελικτικής μεθόδου ήταν 93,23%, καταδεικνύοντας αύξηση της απόδοσης ταξινόμησης κατά 11,96% σε σχέση με τα αρχικά εξαγόμενα χαρακτηριστικά του μοντέλου KimiaNet.

Οι DiPalma et al. [84] πρότειναν μια μεθοδολογία βασισμένη στην απόσταξη γνώσης (knowledge distillation) για την ταξινόμηση υποτύπων καρκίνου σε εικόνες ιστολογίας, συμπεριλαμβανομένων των ccRCC, pRCC και crRCC στο σύνολο δεδομένων TCGA-RCC. Πιο συγκεκριμένα, ένα υπολειμματικό νευρωνικό δίκτυο (ResNet), ως το μοντέλο δασκάλου, εκπαιδεύτηκε με επισημειωμένες εικόνες υψηλότερης ανάλυσης και στη συνέχεια η γνώση του μεταφέρθηκε σε ένα μοντέλο μαθητή με την ίδια αρχιτεκτονική όπου εκπαιδεύτηκε ταυτόχρονα με εικόνες χαμηλότερης ανάλυσης. Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι τα δείγματα εξετάστηκαν σε χαμηλότερες μεγεθύνσεις 5x και 10x, αντί των αρχικών 20x και 40x στο TCGA, επιτρέποντας την εκπαίδευση του μοντέλου του δασκάλου σε σημαντικά μικρότερο χρονικό διάστημα (έως και 16 φορές). Το ίδιο ίσχυε και για το μοντέλο μαθητή, του οποίου ο χρόνος εκπαίδευσης ήταν 4 φορές μικρότερος από αυτόν του δασκάλου. Τα ευρήματα έδειξαν ότι η απόδοση του δασκάλου στην ταξινόμηση του υποτύπου RCC είχε τιμές ακρίβειας, κατανομής-F1, πιστότητας και ανάκλησης 90,16%, 80,09%, 78,54% και 85,19%, αντίστοιχα. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Kullback-Leibler, παρατηρήθηκε απόκλιση στα αποτελέσματα ταξινόμησης του δασκάλου και του μαθητή κατά 1%, γεγονός που απέδειξε την εγκυρότητα της μεθοδολογίας.

Στη μελέτη των Haeyeh et al. [85] εφαρμόστηκε ένα εργαλείο βαθιάς μάθησης για τη διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων περιοχών RCC, καθώς και για την ταξινόμηση του υποτύπου καρκίνου σε ccRCC και pRCC σε μικροσκοπικές εικόνες βιοψίας H&E. Το πρώτο στάδιο της μεθόδου αποσκοπούσε στη μείωση των έντονων διακυμάνσεων στα εικονοστοιχεία των WSIs με την αντιστοίχιση του ιστογράμματος RGB στον χρωματικό χώρο Lab, την κανονικοποίηση των τιμών έντασης και τη μετατροπή του στη συνέχεια σε μορφή RGB. Ακολούθως, εκπαιδεύτηκαν τρεις αρχιτεκτονικές ResNet-50 CNN με ομόκεντρα επικαλυπτόμενα επιθέματα εικόνας διαφορετικής κλίμακας, συγκεκριμένα 400 × 400, 200 × 200 και 100 × 100, ώστε να διατηρηθεί η συνδεσιμότητα των ιστολογικών τμημάτων. Στο τέλος, οι προβλέψεις των βαθέων μοντέλων συνδυάστηκαν με μια μέθοδο ψηφοφορίας για τον προσδιορισμό της κλάσης πλειονότητας για κάθε επίθεμα εικόνας. Με βάση αυτούς τους χαρακτηρισμούς, διαγνώστηκε και η παθολογική κατάσταση για κάθε διαφάνεια βιοψίας. Ως αποτέλεσμα, το νέο σύστημα είχε συνολική ακρίβεια 93% ± 4,9%, ευαισθησία

91,3% \pm 10,7% και ειδικότητα 95,6% \pm 5,2% στη διάκριση μεταξύ καλοήθων, ccRCC και pRCC ιστολογικών δειγμάτων.

Στην μελέτη των Nasir et al. [86] περιεγράφηκε ένα μεθοδολογικό πλαίσιο για την πρόβλεψη του σταδίου (1 - 3) του νεφροκυτταρικού καρκινώματος σε ιστολογικά δείγματα μικροσκοπίας, ενσωματώνοντας μοντέλα βαθιάς μάθησης και τεχνολογίες ασφάλειας Blockchain σε μια διαγνωστική πλατφόρμα βασιζόμενη στο σύννεφο. Συγκεκριμένα, η μέθοδος ανάλυσης εικόνας περιλάμβανε μεταφορά μάθησης στο μοντέλο AlexNet CNN για την προσαρμογή του στο νέο ιστοδιαγνωστικό πρόβλημα. Για την εξισορρόπηση του συνόλου εκπαίδευσης και τη βελτίωση της ακρίβειας ταξινόμησης του βαθύ CNN, τα δείγματα εικόνας υποβλήθηκαν σε τεχνικές επαύξησης (augmentation), όπως η κλιμάκωση, η αναστροφή, καθώς και η βελτίωση της αντίθεσης και της φωτεινότητας των εικονοστοιχείων. Για την εύρεση της βέλτιστης απόδοσης ταξινόμησης στα ασθενικά δεδομένα, η βαθιά αρχιτεκτονική εκπαιδεύτηκε με τους αλγόριθμους οπισθοδιάδοσης σφάλματος Adam, SGDM και RMSprop. Ως αποτέλεσμα, ο SGDM βρέθηκε να είναι ο βέλτιστος αλγόριθμος εκπαίδευσης για το AlexNet, καθώς παρήγαγε την υψηλότερη ακρίβεια δοκιμής, τόσο με επαύξηση (99,8%) όσο και χωρίς επαύξηση (99,2%) των δεδομένων εικόνας.

Οι Oner et al. [87] πρότειναν μια μέθοδο βαθιάς μάθησης για την πρόβλεψη της αναλογίας των καρκινικών κυττάρων σε αποκομμένες ιστολογικές περιοχές από WSIs διαφόρων οργάνων, συμπεριλαμβανομένων βιοψιών νεφρού από το αποθετήριο TCGA. Χωρίς τη μεσολάβηση χειροκίνητων επισημειώσεων για την εκπαίδευσή του, το μοντέλο ταξινόμησης σχεδιάστηκε για να λαμβάνει έναν σάκο (bag) με επιθέματα εικόνας από περιοχές ενδιαφέροντος και να εξάγει διανύσματα χαρακτηριστικών από αυτά. Προκειμένου να εκτιμηθεί το ποσοστό κακοήθους διήθησης σε κάθε δείγμα δοκιμής, οι χάρτες κατάτμησης των καρκινικών τμημάτων διαχωρίστηκαν από τους αντίστοιχους των υγιών με την εκτέλεση μιας ιεραρχικής ομαδοποίησης (hierarchical clustering) στα εξαγόμενα διανύσματα χαρακτηριστικών. Συνοψίζοντας, η προτεινόμενη μέθοδος διαχώρισε επιτυχώς τα ογκολογικά δείγματα από τα καλοήθη με τιμές ROC-AUC \geq 0,927. Για τις εικόνες νεφρικού καρκινώματος, η απόδοση ταξινόμησης παρήγαγε τιμή ROC-AUC 0,999 (95% CI, 0,997-1,000).

Οι Wang et al. [88] ανέπτυξαν μια νέα μεθοδολογική προσέγγιση αυτοεποπτευόμενης μάθησης (self-supervised learning), ονομαζόμενη ως σημασιολογικά-σχετική αντικρουόμενη μάθηση (Semantically-Relevant Contrastive Learning - SRCL), για την ταξινόμηση των υποτύπων του RCC (ccRCC, pRCC και crRCC) σε WSIs της βάσης δεδομένων ογκολογίας TCGA. Χαρακτηριστικό της SRCL είναι η σύγκριση δειγμάτων με παρόμοιες χωρικές αναπαραστάσεις, που οδηγεί σε αύξηση της ποικιλομορφίας τους και εξόρυξη πρόσθετων σημασιολογικών χαρακτηριστικών. Για να επιτευχθεί αυτό, κάθε WSI χωρίστηκε αρχικά σε επιθέματα εικόνας, τα οποία τροφοδοτήθηκαν στο υβριδικό βαθύ μοντέλο "CTransPath" για σκοπούς εκπαίδευσης και δοκιμής. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ένα συνελικτικό

νευρωνικό δίκτυο ενσωματώθηκε σε μια αρχιτεκτονική Swin Transformer, για την εκμάθηση ιεραρχικών χαρακτηριστικών σε αναπαραστάσεις διαφορετικής κλίμακας. Η διαδικασία εκπαίδευσης περιλάμβανε επίσης τη χρήση τεχνικών επαύξησης εικόνας, συμπεριλαμβανομένης της τυχαίας περικοπής, της Γκαουσιανής θόλωσης και της μετατόπισης των καναλιών απόχρωσης και κορεσμού στον χρωματικό χώρο HSV, για τη βελτίωση της ικανότητας του CTransPath να διακρίνει καρκινικές δομές ενδιαφέροντος. Συνοπτικά, η νέα μέθοδος υπερέβη τις αποδόσεις των σύγχρονων εργαλείων ταξινόμησης εικόνων TCGA-RCC, με ακρίβεια 0,967 και ROC-AUC 0,991.

2.2 Βάσεις Δεδομένων Ιστολογικών Εικόνων Μικροσκοπίας

Το τμήμα Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων έχει δημιουργήσει ένα διεθνές δίκτυο συνεργασιών με ιδρύματα όπως το Imperial College Healthcare NHS Trust στο Λονδίνο και το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Αυτό έχει επιτρέψει την ανάπτυξη νέων ερευνητικών ιδεών για την παρακολούθηση και τη θεραπεία ασθενειών που επηρεάζουν διάφορα όργανα. Επιπλέον, το Εργαστήριο Αλληλεπίδρασης Ανθρώπου Υπολογιστή (HCILAB) του τμήματος είναι εξοπλισμένο με τον μικροσκοπικό σαρωτή Hamamatsu NanoZoomer S210 (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Ιαπωνία), ο οποίος έχει συμβάλει σημαντικά στην ψηφιοποίηση ιστολογικών δειγμάτων βιοψίας από παθολογικές κλινικές, αυξάνοντας το διαθέσιμο σύνολο δεδομένων εικόνας για την ανάπτυξη λογισμικών διάγνωσης.

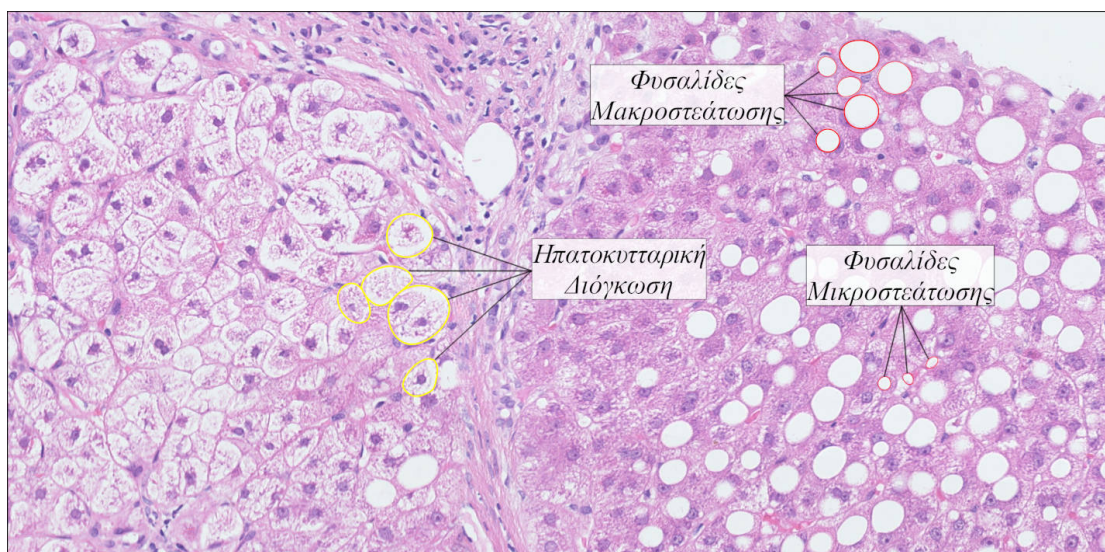
2.2.1 Βάση δεδομένων μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου

Η μη-αλκοολική λιπώδης ηπατική νόσος (NAFLD) εκτιμάται ότι είναι η πιο κοινή χρόνια ηπατική πάθηση, με το ένα τέταρτο του ενήλικου πληθυσμού να πάσχει από αυτήν [89]. Η παρουσία της χαρακτηρίζεται από σημαντικές ενδείξεις ηπατικής στεάτωσης, η οποία αφορά τη συσσώρευση καλοήθων λιποκυττάρων στον ηπατικό ιστό λόγω παραγόντων του μεταβολικού συνδρόμου, όπως η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η δυσλιπιδαιμία [90].

Σε υψηλότερους βαθμούς, η NAFLD εξελίσσεται σε μια πιο σοβαρή μορφή γνωστή ως μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα (NASH), η οποία προκαλεί μια χρόνια φλεγμονώδη διαταραχή που αυξάνει τον κίνδυνο ηπατοκυτταρικής διόγκωσης, προοδευτικής ηπατικής ίνωσης και κίρρωσης τελικού σταδίου [91]. Επιπλέον, ένα μέρος των ασθενών με NASH μπορεί να χρειαστεί μεταμόσχευση ήπατος λόγω επιπλοκών που προκαλούνται από πυλαία υπέρταση,

ηπατική ανεπάρκεια και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [92]. Ο επιπολασμός της NASH αναμένεται να επηρεάσει 18 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως έως το 2027, με τις ΗΠΑ, την Ιαπωνία και την Ευρωπαϊκή Ένωση να παρουσιάζουν τα υψηλότερα ποσοστά [93]. Η διάγνωση της NASH βασίζεται σε ελάχιστα ιστολογικά κριτήρια, όπως $\geq 5\%$ ηπατική στεάτωση, λοβιακή φλεγμονή και διόγκωση των ηπατοκυττάρων χωρίς ενδείξεις ηπατοκυτταρικής βλάβης.

Στις περιπτώσεις NAFLD-NASH, η στεάτωση είναι κυρίως μακροφουσαλιδώδης, με μεγάλα λιπιδικά ενδοκυτταροπλασματικά κενοτόπια που οδηγούν σε εκτόπιση των κυτταρικών πυρήνων. Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρηθεί μικροφουσαλιδώδης στεάτωση, καθώς και περιοχές συσσωμάτωσης μακροφουσαλιδώδους στεάτωσης (Εικόνα 2.1). Αντίθετα, η ηπατοκυτταρική διόγκωση, επίσης γνωστή ως αεροσφαιροειδής εκφύλιση ηπατοκυττάρων, χαρακτηρίζεται από διευρυμένα κύτταρα που περιβάλλονται από διαυγές και κενοτοπικό κυτταρόπλασμα [94]. Καθώς η ηπατοκυτταρική διόγκωση συνδέεται στενά με την προχωρημένη ηπατική ίνωση, έχει βρεθεί στο επίκεντρο του κλινικού ενδιαφέροντος των ερευνητών ιατρών τα τελευταία χρόνια [95, 96].



Εικόνα 2.1. Απεικόνιση των ιστολογικών αλλοιώσεων που υποδεικνύουν την ανάπτυξη της NAFLD. Οι περιοχές μικρο- και μακροστεάτωσης, οι οποίες υποδηλώνουν την εναπόθεση φυσαλίδων λίπους, επισημαίνονται με κόκκινη γραμμή περιγράμματος. Τα διογκωμένα ηπατοκύτταρα, όπου υποδηλώνουν την εξέλιξη της ηπατικής νόσου σε χρόνια NASH επισημαίνονται με κίτρινο περίγραμμα. Η χρονοβόρα και άκρως υποκειμενική φύση της χειροκίνητης συμπερίληψής τους από τους ιατρούς καταδεικνύει την ανάγκη ανάπτυξης αυτοματοποιημένων εργαλείων για την ποσοτικοποίηση του επιπολασμού τους.

Για την αυτοματοποιημένη παρακολούθηση της ηπατικής νόσου στο πλαίσιο της διδακτορικής έρευνας, χρησιμοποιείται ένας μέγιστος αριθμός 41 διαφανειών, που χορηγούνται από το θυγατρικό νοσοκομείο St. Mary του Πανεπιστημίου Imperial στο Λονδίνο. Αυτό το σύνολο διαφανειών αποτελείται από ιστολογικά δείγματα ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C, η οποία έχει οδηγήσει σε NAFLD. Η οπτική αξιολόγηση από τους κλινικούς δείχνει ότι ένα μέρος των δειγμάτων ($n = 28$) παρουσιάζει υψηλό βαθμό στεάτωσης, ενώ το υπόλοιπο ($n =$

13) υψηλότερα ποσοστά ηπατοκυτταρικής διόγκωσης, γεγονός που υποδηλώνει την εξέλιξη της νόσου σε χρόνια μορφή NASH.

Ένα βασικό χαρακτηριστικό των χορηγούμενων διαφανειών είναι η απόκτηση ενός ή περισσότερων ιστολογικών δειγμάτων με την επεμβατική μέθοδο της βελόνας βιοψίας. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η συγκεκριμένη τεχνική δειγματοληψίας θεωρείται λειτουργική, καθώς επιτρέπει την αποτελεσματική εφαρμογή μιας υπολογιστικής μεθόδου για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της εξάπλωσης των αλλοιώσεων NAFLD-NASH στην ψηφιοποιημένη ιστολογική περιοχή. Η χρώση H&E επιλέχθηκε επίσης για να αναδειχθούν οι διαφορές μεταξύ των παθολογικών ευρημάτων και των υγιών ανατομικών δομών. Τονίζεται ότι όλοι οι ασθενείς παρέιχαν γραπτή συγκατάθεση μετά από ενημέρωση για τη συμπερίληψη των δειγμάτων τους σε ερευνητικές μελέτες, οι οποίες διεξήχθησαν σύμφωνα με τους κανόνες της Διακήρυξης του Ελσίνκι (αναθεωρημένη το 2013).

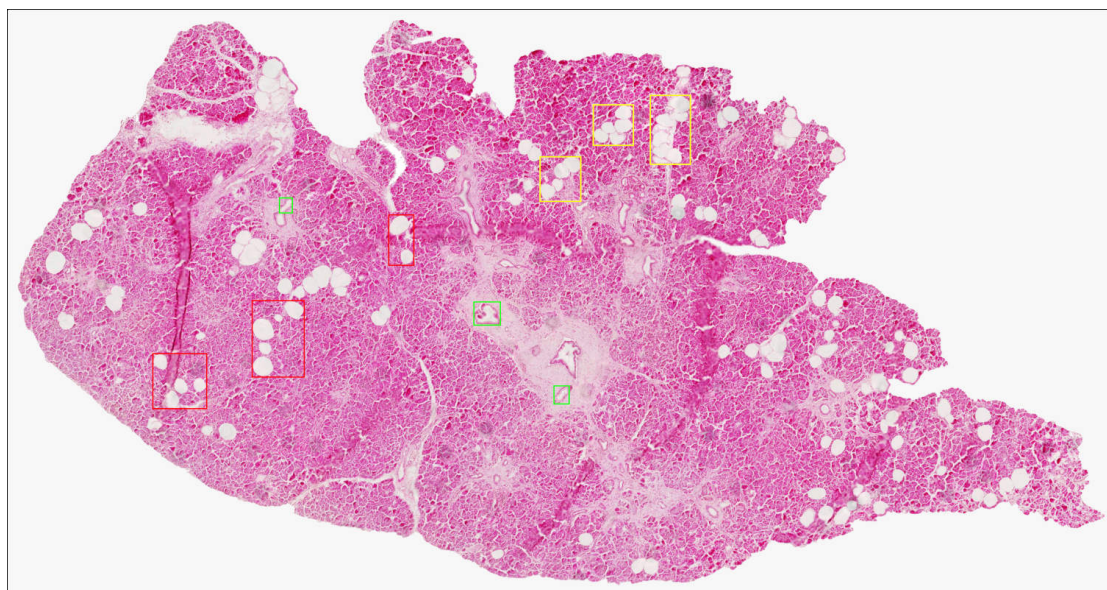
Για τη ψηφιοποίηση των διαφανειών χρησιμοποιήθηκε ένας μικροσκοπικός σαρωτής Hamamatsu, οι οποίες αρχικά είχαν διαστάσεις που ξεπερνούσαν τα 10.000×10.000 εικονοστοιχεία. Για να μειωθεί το μέγεθος αποθήκευσης και ο χρόνος φόρτωσης, χρησιμοποιήθηκαν οι μεγεθύνσεις αντικειμενικού φακού $20\times$ και $40\times$ και εφαρμόστηκε το πρότυπο απωλεστικής συμπίεσης εικόνων JPEG (Joint Photographic Experts Group). Αυτή η προσέγγιση αποδείχθηκε η πιο αποτελεσματική όσον αφορά τη διατήρηση των ανατομικών χαρακτηριστικών των ιστολογικών δομών και τη βελτιστοποίηση της επεξεργαστικής ισχύος και των πόρων μνήμης κατά την εκτέλεση του διαγνωστικού λογισμικού.

2.2.2 Βάση δεδομένων μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου

Η μη-αλκοολική λιπώδης παγκρεατική νόσος (NAFPD), όπως η επιδημιολογία της NAFLD, είναι ένα φαινόμενο που σχετίζεται έντονα με την παχυσαρκία, το μεταβολικό σύνδρομο και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Είναι ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος ιατρικός όρος που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη παγκρεατικής στεάτωσης, κατά την οποία μη-εστεροποιημένα λιπαρά οξέα διεισδύουν στον παγκρεατικό ιστό, προκαλώντας την εκτόπιση των ακινικών κυττάρων και την αντικατάστασή τους από σταγονίδια λίπους (Εικόνα 2.2) [97].

Η έγκυρη παρακολούθηση της εξέλιξης της NAFPD αποτελεί διαγνωστική πρόκληση που απασχολεί ολοένα και περισσότερο τους κλινικούς ιατρούς, δεδομένου ότι η αυξημένη συσσώρευση λίπους μπορεί να οδηγήσει σε γενικευμένη αθηροσκληρώση (ασυμπτωματική βλάβη των αρτηριών), σοβαρή οξεία παγκρεατίτιδα και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [98–100]. Μάλιστα, μελέτες που έχουν δημοσιευθεί από τις αρχές του τρέχοντος αιώνα έχουν αποκαλύψει ότι η ιστολογική φλεγμονή, ως προέκταση της NAFPD, αποτελεί το σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων και

καρκίνου του παγκρέατος, όπου ο γενετικός μηχανισμός δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί [101, 102].



Εικόνα 2.2. Απεικόνιση παραλλαγών της στεάτωσης NAFPD στον παγκρεατικό ιστό. Με κόκκινα ορθογώνια πλαίσια επισημαίνονται οι περιοχές εναπόθεσης μεμονωμένων λιποκυττάρων, μια κλινική περίπτωση κοινή με το ήπαρ, που υποδεικνύει την εστεροποίηση λιπαρών οξέων στα όργανα. Τα κίτρινα πλαίσια απεικονίζουν τη συσσωμάτωση γειτονικών φυσαλίδων λίπους, ένα σύνηθες φαινόμενο σε άτομα με προχωρημένη στεάτωση. Η ακριβής ανίχνευσή τους ως ευρήματα λίπους και ο διαχωρισμός τους από τα ιστολογικά τεχνουργήματα (πράσινα πλαίσια) με σύγχρονες μεθόδους υπολογιστικής όρασης αποτελεί ένα ύψιστης σημασίας έργο που απασχολεί σε αυξανόμενο βαθμό τους βιολόγους ιατρούς.

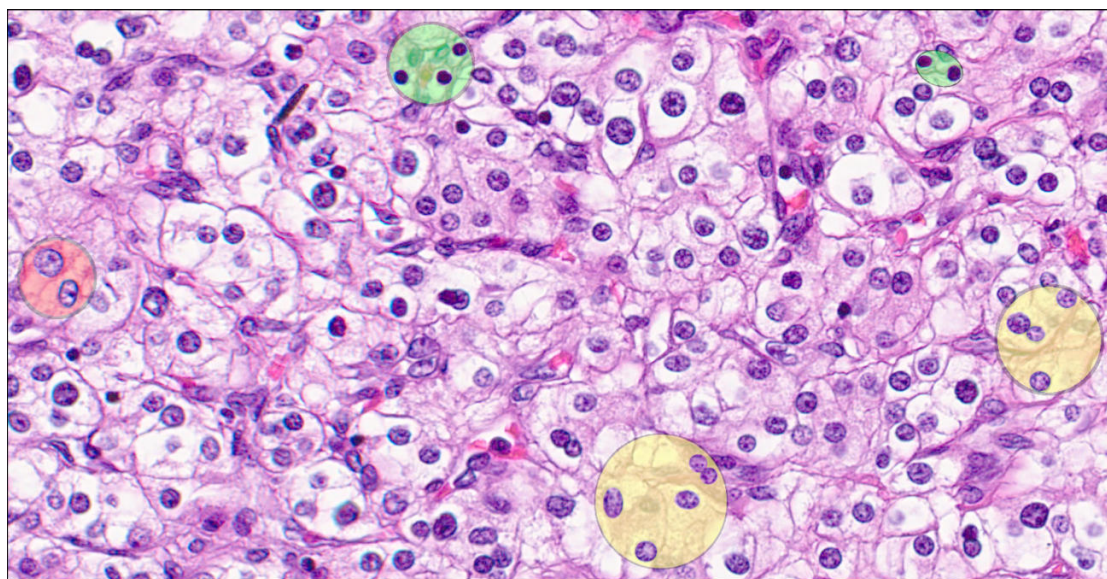
Ωστόσο, οι αυτοματοποιημένες μέθοδοι υπολογιστικής όρασης δεν έχουν ακόμη εφαρμοστεί εκτενώς σε ιστολογικές εικόνες της NAFPD. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η βιοψία παγκρέατος είναι μια αυστηρά υπεύθυνη επεμβατική διαδικασία για τους χειρουργούς, η οποία ενέχει τον κίνδυνο σοβαρών επιπλοκών, όπως η αιμορραγία και η παγκρεατική φίστουλα, ως η μη-ομαλή επικοινωνία του παγκρέατος με άλλα όργανα [103]. Ωστόσο, με τη χρήση ρομποτικών μεθόδων για τη μείωση του επεμβατικού χαρακτήρα της βιοψίας, αναμένεται ότι στο μέλλον θα αναπτυχθούν νέα υπολογιστικά εργαλεία για τη μικροσκοπική αξιολόγηση της NAFPD.

Για την ανάπτυξη μεθοδολογιών ποσοτικοποίησης της στεάτωσης NAFPD, χρησιμοποιούνται 20 δείγματα βιοψίας παγκρέατος με χρώση H&E από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Οξφόρδης. Τα εν λόγω χειρουργικά δείγματα ελήφθησαν από ασθενείς με οξεία ή χρόνια παγκρεατίτιδα και ποικίλου βαθμού στεάτωση, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση παγκρέατος. Όπως και με τα δείγματα ηπατικής νόσου, οι αντικειμενοφόρες πλάκες βιοψίας δειγματοληπτήθηκαν σε μεγέθυνση αντικειμενικού φακού 20× και εξήχθησαν σε μορφή αρχείου εικόνας JPEG.

2.2.3 Βάση δεδομένων νεφροκυτταρικού καρκινώματος

Το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (RCC) είναι μία από τις πιο διαδεδομένες κακοήθειες του ουροποιητικού συστήματος, η οποία σχετίζεται με διάφορους παράγοντες κινδύνου, όπως η παχυσαρκία, η υψηλή αρτηριακή πίεση και τα κληρονομικά σύνδρομα [104]. Το RCC ευθύνεται για περισσότερο από το 90% των κακοηθειών των νεφρών και αντιπροσωπεύει το 2% των διαγνώσεων καρκίνου και των θανάτων που σχετίζονται με τον καρκίνο παγκοσμίως [105]. Περιλαμβάνει πάνω από 10 διαφορετικούς ιστολογικούς και μοριακούς υποτύπους, με το διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (ccRCC) να είναι ο επικρατέστερος. Ακόμη πιο αξιοσημείωτο είναι ότι η πλειονότητα των θανάτων από καρκίνο του νεφρού παγκοσμίως σχετίζεται με το ccRCC και το 30% των ασθενών με ccRCC που υποβάλλονται σε νεφρεκτομή αναπτύσσουν μεταστάσεις, οι οποίες σχετίζονται με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας.

Μικροσκοπικά, το ccRCC συχνά αποτελείται από μεγάλα, ομοιόμορφα καρκινικά κύτταρα με διαυγές, πλούσιο σε γλυκογόνο και λίπος κυτταρόπλασμα και διασυνδεδεμένα με ένα ευρύ αγγειακό δίκτυο (Εικόνα 2.3). Σε ορισμένες περιπτώσεις ccRCC, ένα τμήμα καρκινικών κυττάρων με ποικίλες ποσότητες κοκκώδους ηωσινόφιλου κυτταροπλάσματος μπορεί επίσης να αποτελεί το σύνολο της μάζας του όγκου [105, 106].



Εικόνα 2.3. Ιστολογικό δείγμα νεφρού με ποικίλου βαθμού κακοήθεια ccRCC στα κύτταρα (πράσινο → Fuhrman 1, κίτρινο → Fuhrman 2, κόκκινο → Fuhrman 3). Η λεπτομερής διάκριση των πυρηνικών μεταβολών εντός των καρκινικών κυττάρων είναι ένα πρόβλημα που ταυτίζεται με το φαινόμενο της μεταβλητότητας του ενός και των πολλών παρατηρητών/ιατρών κατά την οπτική αξιολόγησή τους μέσω μικροσκοπίου. Ως εκ τούτου, η εξακρίβωση του κυρίαρχου βαθμού του ccRCC έχει συμβάλει στην ανάπτυξη μεθόδων επεξεργασίας εικόνων ιστολογίας σε συνδυασμό με αλγόριθμους μηχανικής και βαθιάς μάθησης.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η ακριβής ανίχνευση του RCC βοηθά στην αποτελεσματική αντιμετώπισή του με μερική ή ριζική νεφρεκτομή ή παραδοσιακή χημειοθεραπεία σε περιπτώσεις

μεταστατικού RCC. Επίσης, την τελευταία δεκαετία έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στη χρήση στοχευμένων αντικαρκινικών παραγόντων για τη θεραπεία του μεταστατικού RCC, γεγονός που καθιστά την έγκαιρη διάγνωση με σύγχρονα συστήματα υπολογιστικής όρασης ένα υψίστης σημασίας έργο [105].

Για την κατασκευή της διαγνωστικής μεθόδου για το ccRCC που παρουσιάζεται στην παρούσα διδακτορική διατριβή, χρησιμοποιούνται 31 ιστολογικά δείγματα νεφρών. Τα δείγματα αυτά ελήφθησαν από ανθρώπινους δότες στην Ουρολογική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων Γ. Χατζηκώστα. Αναφέρονται σε περιπτώσεις με ημιποσοτικά διαγνωσμένο Fuhrman στάδιο 1 έως 3 ccRCC, καθώς δεν υπήρχε ασθενής με Fuhrman 4 κατά την περίοδο συλλογής των δειγμάτων. Πρέπει να σημειωθεί ότι η κακοήθεια Fuhrman σταδίου 4 είναι σχετικά σπάνια, καθώς σηματοδοτεί το υψηλότερο στάδιο του ccRCC που σχετίζεται με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, ακόμη και στα πρώιμα στάδια. Υπάρχουν δείγματα για καθένα από τα τρία στάδια Fuhrman που, σύμφωνα με τις παθολογικές εξετάσεις, αποτελούν υλικό μερικής και ριζικής νεφρεκτομής. Ωστόσο, η πλειονότητα ελήφθη μέσω διαδερμικής βιοψίας και βελόνας βιοψίας. Όλοι οι ιστοί χρωματίστηκαν με H&E, το οποίο θεωρείται το χρυσό πρότυπο στην ιστοπαθολογική διάγνωση των υποτύπων RCC τα τελευταία χρόνια. Τέλος, οι διαφάνειες βιοψίας σαρώθηκαν στο εργαστήριο HCILAB με τον μικροσκοπικό σαρωτή Hamamatsu NanoZoomer S210 σε μεγέθυνση αντικειμενικού φακού 40×, ώστε να διασφαλιστεί η μέγιστη δυνατή διατήρηση των κυτταροπλασματικών και πυρηνικών λεπτομερειών στα ογκολογικά τμήματα.

Κεφάλαιο 3

Μεθοδολογίες Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται οι μεθοδολογικές διαδικασίες που αναπτύχθηκαν κατά τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής για την ανίχνευση παθολογικών ευρημάτων σε ιστολογικά δείγματα από τη βάση δεδομένων του ήπατος, του παγκρέατος και των νεφρών. Το κεφάλαιο εξετάζει τα στάδια προεπεξεργασίας και κατάτμησης εικόνας που καλύπτονται σε δύο δημοσιευμένες ερευνητικές εργασίες και σε μία εργασία που πρόκειται να υποβληθεί προς κρίση και δημοσίευση σε έγκριτο διεθνές επιστημονικό περιοδικό. Αρχικά, εξετάζονται οι τεχνικές για την ανίχνευση υποψήφιων δομών λίπους σε δείγματα μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου και μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου και στη συνέχεια για την κατάτμηση των καρκινικών κυττάρων σε δείγματα βιοψίας διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος, τα οποία συνθέτουν τα ογκολογικά δείγματα.

3.1 Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ

Όπως αναφέρθηκε στη βιβλιογραφική ανασκόπηση του προηγούμενου κεφαλαίου, τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στην ανάπτυξη συστημάτων για την ανίχνευση διαφόρων ιστολογικών ανωμαλιών, συμπεριλαμβανομένων των ηπατικών παθήσεων (βλ. Ενότητα 2.1.1). Η παρούσα μελέτη [4] αποσκοπεί στην υλοποίηση ενός αξιόπιστου εργαλείου για τον υπολογισμό της αναλογίας της εξάπλωσης λίπους σε ιστολογικά δείγματα ασθενών με μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD). Η μεθοδολογία βασίζεται αρχικά σε τεχνικές επεξεργασίας εικόνας για την κατάτμηση κυκλικών αντικειμένων ενδιαφέροντος σε εικόνες από τη βάση δεδομένων βιοψίας ήπατος (βλ. Ενότητα 2.2.1), πριν από τη διάκριση των λιποκυττάρων και τον αποκλεισμό άλλων ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων από τους υπολογισμούς του λόγου στεάτωσης. Το διάγραμμα ροής της μεθόδου ανίχνευσης ηπατικού λίπους παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.1. Αξίζει να σημειωθεί ότι όλα τα διαγράμματα της διατριβής είναι οργανωμένα με γραμμικό τρόπο για να τονιστεί η διαδοχική φύση των προτεινόμενων μεθοδολογιών.

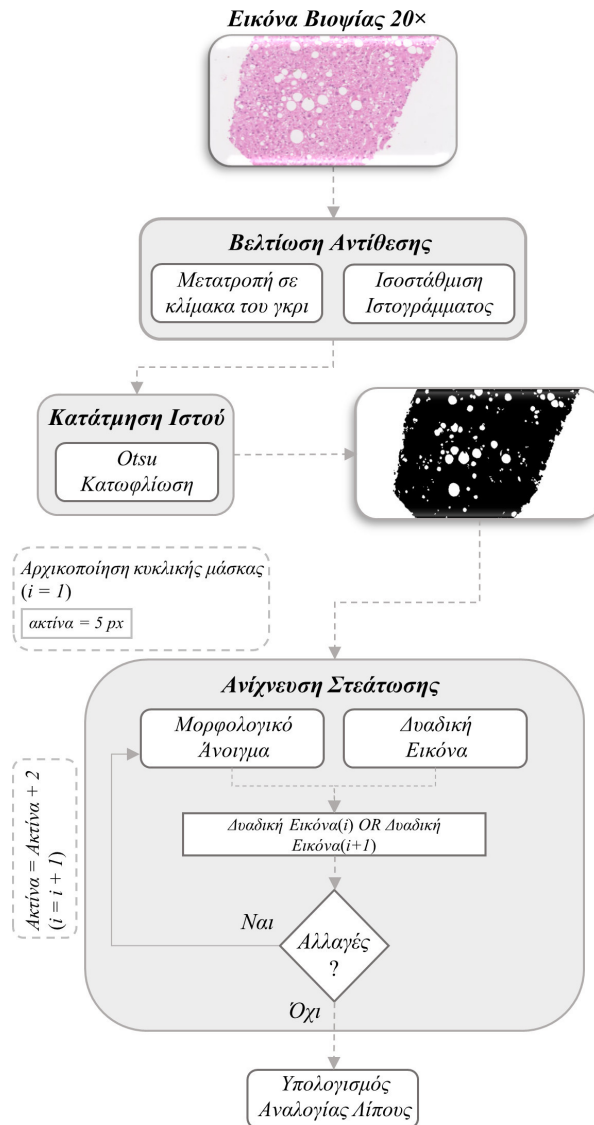
3.1.1 Υλικά και μέθοδοι

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Η μεθοδολογία δοκιμάζεται σε δύο υποσύνολα εικόνων βιοψίας ήπατος με ιστολογική χρώση Αιματοξυλίνης και Ηωσίνης (Hematoxylin and Eosin - H&E). Το πρώτο υποσύνολο περιέχει 28 ψηφιοποιημένα δείγματα ελέγχου σε μεγέθυνση 20×, όπου πραγματοποιείται η κατάτμηση υποψήφιων δομών λίπους. Όπως θα διαπιστωθεί στις παραγράφους που ακολουθούν, ο όρος “υποψήφιος” ή “πιθανός” χρησιμοποιείται για να αναφερθεί σε ιστολογικές δομές με παρόμοιες σχηματικές ιδιότητες και χαρακτηριστικά υψής με τα λιποκύτταρα, αλλά των οποίων η ταυτότητα είναι άγνωστη. Σε ένα μεταγενέστερο στάδιο της μεθόδου, ένα δεύτερο υποσύνολο 13 εικόνων με υψηλότερη μεγέθυνση 40× χρησιμοποιείται για την εκπαίδευση αλγόριθμων μηχανικής μάθησης με σκοπό την ταξινόμησή τους με μια ετικέτα λίπους και τον διαχωρισμό τους από άλλα παθολογικά και υγιή ευρήματα ηπατικής κλάσης.

Εξαγωγή ιστολογικής περιοχής

Το πρώτο βήμα της προτεινόμενης μεθοδολογίας περιλαμβάνει την εξαγωγή του ηπατικού ιστού από το λευκό φόντο στις εικόνες ελέγχου/διάγνωσης 20×. Αυτό επιτυγχάνεται με τη μετατροπή της αρχικής ιστολογικής εικόνας RGB (Εικόνα 3.2A) σε αντίστοιχη κλίμακας του γκρι (Εικόνα 3.2B). Η προκύπτουσα εικόνα επεξεργάζεται στη συνέχεια με προσαρμοστική εξίσωση-ισοστάθμιση ιστογράμματος (Adaptive Histogram Equalization - AHE) για τη μείωση της διακύμανσης των επιπέδων έντασης του γκρι και την αύξηση της αντίθεσης



Εικόνα 3.1. Διάγραμμα ροής της μεθόδου ανίχνευσης δομών ηπατικής στεάτωσης. Η μέθοδος ξεκινά με την μετατροπή της έγχρωμης εικόνας βιοψίας σε κλίμακα του γκρι, ακολουθούμενη από την εφαρμογή της προσαρμοστικής ισοστάθμισης ιστογράμματος για την ενίσχυση της αντίθεσης. Εν συνεχεία, το ιστολογικό τμήμα διαχωρίζεται από το φόντο του με κατωφλίωση Otsu της ενισχυμένης εικόνας. Αυτό επιτρέπει την κατάτμηση κυκλικών δομών λίπους μέσω επαναληπτικού μορφολογικού ανοίγματος. Κατόπιν ανίχνευσης κάθε φιλτραρισμένης δομής, υπολογίζεται ο λόγος στεάτωσης για την αξιολόγηση της δραστηριότητας της NAFLD στον ασθενή.

[107]. Εν αντιθέσει με την παραδοσιακή ισοστάθμιση, η AHE προσαρμόζεται στις τοπικές μεταβολές της αντίθεσης και της φωτεινότητας σε μικρότερες περιοχές της εικόνας και όχι σε ολόκληρο το εύρος, αποτρέποντας έτσι την υπερβελτίωση ή αλλιώς την υπερβολική σκούρυνση της λόγω δυνητικά μεγάλων μεταβολών στις αντιθέσεις της. Αυτό επιτυγχάνεται με τη δημιουργία μιας νέας συνάρτησης μετασχηματισμού, με τον υπολογισμό μιας αθροιστικής συνάρτησης κατανομής των τιμών 8-bit σε κάθε 8×8 μπλοκ εικονοστοιχείων της κλίμακας του γκρι. Η συνάρτηση αυτή κανονικοποιείται στη συνέχεια σε ένα κλειστό εύρος τιμών $[0, 1]$, με αποτέλεσμα μια πιο ομοιόμορφη κατανομή των τιμών εικονοστοιχείων (Εικόνα 3.2Γ).

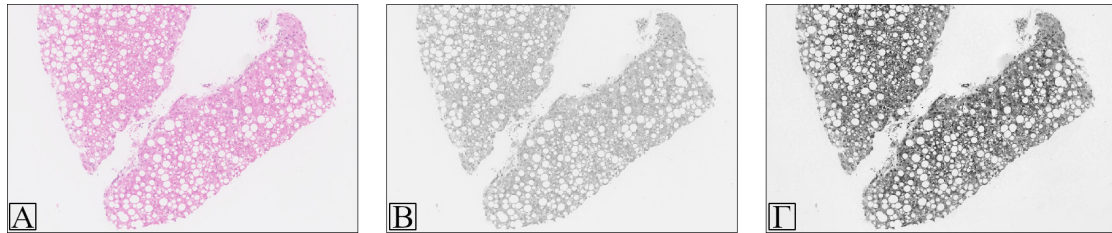
Για να αποσαφηνιστούν οι τεχνικές λεπτομέρειες των παραπάνω, έστω f ένα μπλοκ εικόνας του γκρι, το οποίο αναπαρίσταται από έναν πίνακα $m_r \times m_c$ ακέραιων εντάσεων που κυμαίνονται από 0 έως $L - 1$, όπου το L αντιπροσωπεύει τον αριθμό των πιθανών επιπέδων έντασης για μια εικόνα 8-bit, ο οποίος είναι ίσος με 256. Για τον υπολογισμό του κανονικοποιημένου ιστογράμματος p του f με μία συνιστώσα (bin) για κάθε πιθανή ένταση, χρησιμοποιείται η ακόλουθη εξίσωση:

$$p_k = \frac{n_k}{MN}, \quad k \in [0, L - 1] \quad (3.1)$$

όπου n_k είναι το πλήθος των εικονοστοιχείων με κάθε πιθανή τιμή έντασης k και MN ο συνολικός αριθμός των εικονοστοιχείων στο μπλοκ εικόνας. Το ισοσταθμισμένο ιστόγραμμα του μπλοκ g θα ισούται με:

$$g_{i,j} = \text{floor}((L - 1) \sum_{k=0}^{f_{i,j}} p_k) \quad (3.2)$$

όπου με το $\text{floor}()$ κάθε κανονικοποιημένη τιμή έντασης στρογγυλοποιείται προς τα κάτω στον πλησιέστερο ακέραιο.



Εικόνα 3.2. Απεικόνιση των βημάτων ενίσχυσης της ιστολογικής εικόνας ήπατος: (Α) αρχική ηπατική εικόνα βιοψίας H&E, (Β) μετατροπή του χρωματικού χώρου RGB σε κλίμακα του γκρι και (Γ) βελτίωση της αντίθεσης της γκριζας εικόνας με την εφαρμογή προσαρμοστικής ισοστάθμισης ιστογράμματος.

Στη συνέχεια, η μέθοδος Otsu [107, 108] χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του βέλτιστου ολικού ορίου κατωφλίου στις εντάσεις της προηγούμενως βελτιωμένης εικόνας ώστε να μεγιστοποιηθεί η διακύμανση μεταξύ δύο επιπέδων-κλάσεων. Στην περίπτωση αυτή, η μέθοδος αναζητά ένα κατώφλι δύο επιπέδων για την κατάταξη των εικονοστοιχείων είτε στο φόντο είτε στο προσκήνιο (π.χ. ιστολογικό τμήμα), με βάση το αν η τιμή του γκρι τους βρίσκεται κάτω ή πάνω από την τιμή κατωφλίου, αντίστοιχα. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι βασίζεται αποκλειστικά σε υπολογισμούς που εκτελούνται στο κανονικοποιημένο ιστόγραμμα μιας εικόνας εισόδου, καθιστώντας ευκολότερη την επιλογή του βέλτιστου ορίου κατωφλίου σε έναν άμεσα προσβάσιμο πίνακα 1D.

Έστω μια εικόνα μεγέθους $M \times N$ με L διακριτά επίπεδα έντασης του γκρι $\{0, 1, 2, \dots, L-1\}$, όπου κάθε επίπεδο έντασης i περιέχει n_i εικονοστοιχεία. Ο συνολικός αριθμός των εικονοστοιχείων θα είναι τότε ίσος με $MN = n_0 + n_1 + n_2 + \dots + n_{L-1}$. Επιπλέον, έστω ένα κατώφλι $T(k) = k$ ($0 < k < L-1$) που εφαρμόζεται για τον διαχωρισμό των εικονοστοιχείων της εικόνας σε δύο κλάσεις: c_1 με εντάσεις εικονοστοιχείων στο εύρος $[0, k]$ και c_2 με εντάσεις εικονοστοιχείων στο εύρος $[k+1, L-1]$. Χρησιμοποιώντας αυτό το κατώφλι, η πιθανότητα ταξινόμησης ενός εικονοστοιχείου είτε στο c_1 είτε στο c_2 μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$P_1(k) = \sum_{i=0}^k p_i \quad \& \quad P_2(k) = \sum_{i=k+1}^{L-1} p_i = 1 - P_1(k) \quad (3.3)$$

ενώ η μέση τιμή των εικονοστοιχείων που σχετίζονται με τις κλάσεις c_1 (φόντο) και c_2 (προσκήνιο) δίνεται από:

$$m_1(k) = \sum_{i=0}^k iP(i/c_1) \quad \& \quad m_2(k) = \sum_{i=k+1}^{L-1} iP(i/c_2) \quad (3.4)$$

Σύμφωνα με τις Εξ.3.3 και Εξ.3.4, ο συσσωρευτικός μέσος όρος ή η μέση ένταση των επιπέδων του γκρι στην εικόνα είναι ίσος με:

$$m_G = P_1 m_1 + P_2 m_2 \quad (3.5)$$

η ολική διακύμανση ή η διακύμανση της έντασης των εικονοστοιχείων στην εικόνα είναι ίση με:

$$\sigma_G^2 = \sum_{i=0}^{L-1} (i - m_G)^2 p_i \quad (3.6)$$

και η διακύμανση (variance) μεταξύ των κλάσεων με:

$$\sigma_B^2 = P_1(m_1 - m_G)^2 + P_2(m_2 - m_G)^2 = P_1 P_2 (m_1 - m_2)^2 = \frac{(m_G P_1 - m)^2}{P_1(1 - P_1)} \quad (3.7)$$

Επαναφέροντας τη μεταβλητή k , η παραπάνω συνάρτηση μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$\sigma_B^2(k) = \frac{[(m_G P_1(k) - m(k))^2]}{P_1(k)[1 - P_1(k)]} \quad (3.8)$$

Συνεπώς, η βέλτιστη τιμή κατωφλίου που μεγιστοποιεί την Εξ.3.8 θα είναι η k^* :

$$\sigma_B^2(k^*) = \max_{0 \leq k \leq L-1} \sigma_B^2(k) \quad (3.9)$$

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός της τιμής κατωφλίου Otsu καθιστά δυνατή τη μετατροπή της εικόνας κλίμακας του γκρι σε μια αντίστοιχη δυαδική (binary), όπου τα λευκά εικονοστοιχεία του ιστολογικού τμήματος (λογικό '1') διαχωρίζονται από τα μαύρα εικονοστοιχεία του φόντου (λογικό '0') (Εικόνα 3.3A).

Ωστόσο το βήμα αυτό δεν είναι επαρκές, καθώς στην πλειονότητα των περιπτώσεων κάθε μικροσκοπικό δείγμα περιλαμβάνει πολύ μικρές ιστολογικές τομές (αποτρίμματα) που αποκόπτονται κατά τη λήψη του δείγματος βιοψίας από τον ασθενή. Οι τομές αυτές θα πρέπει να αποκλείονται ως μέρος του ηπατικού ιστού, δεδομένου ότι δεν αποτελούν συστατικό του κυρίου σώματος του δείγματος που ανακτάται. Υπό το πρίσμα αυτής της διαπίστωσης, η μέθοδος κατάτμησης υπολογίζει πρώτα το εμβαδόν για κάθε δυαδική περιοχή 8-συνδεδεμένων εικονοστοιχείων (γειτονικά εικονοστοιχεία του ίδιου αντικειμένου που συνδέονται κατά μήκος της οριζόντιας, κάθετης ή διαγώνιας κατεύθυνσης). Ως εκ τούτου, οι συνδεδεμένες περιοχές εικονοστοιχείων με εμβαδόν μικρότερο από το 3% της μεγαλύτερης δυαδικής περιοχής απορρίπτονται ως μέρος του ιστολογικού τμήματος.

Για τον ακριβέστερο προσδιορισμό των εξωτερικών ορίων του δείγματος βιοψίας, εκτελείται μια εντολή πλήρωσης οπών και ρωγμών εντός της δυαδικής ιστολογικής περιοχής για την εξάλειψη τυχόν μαύρων εικονοστοιχείων και την αντικατάστασή τους με τιμές λογικού '1' (λευκό). Κατά συνέπεια, παράγεται μια βελτιωμένη δυαδική εικόνα, στην οποία εφαρμόζεται ένα μοντέλο ενεργού περιγράμματος (Active Contour Model - ACM) για την ανίχνευση των πραγματικών ορίων της περιοχής του ιστού (Εικόνα 3.3B).

Η κύρια εφαρμογή των ενεργών περιγραμμάτων στην κατάτμηση εικόνας περιλαμβάνει την κίνηση παραμετρικών καμπυλών με ευρετικό τρόπο προς τις ακμές των αντικειμένων ενδιαφέροντος για την ακριβέστερη οριοθέτησή τους. Μια παραμετρική καμπύλη αποτελείται, ειδικότερα, από ένα σύνολο σημείων $[X(s), Y(s)]$ που μεταβάλλεται ως προς το $s \in [0, 1]$. Ο βασικός στόχος είναι να βρεθεί το περίγραμμα που ελαχιστοποιεί τη συνολική ενέργεια $E = E_{internal} + E_{external}$ για να συγκλίνει στα εξωτερικά όρια των περιοχών ενδιαφέροντος [109]. Η διαδικασία ξεκινά με τον ορισμό της εσωτερικής ενέργειας που ελέγχει την ομαλότητα του περιγράμματος, ως εξής:

$$E_{internal} = \frac{1}{2} \int_0^1 \left\{ \alpha \left[\left(\frac{dX(s)}{ds} \right)^2 + \left(\frac{dY(s)}{ds} \right)^2 \right] + \beta \left[\left(\frac{d^2X(s)}{ds^2} \right)^2 + \left(\frac{d^2Y(s)}{ds^2} \right)^2 \right] \right\} ds \quad (3.10)$$

όπου τα α και β αναφέρονται σε μη-αρνητικούς συντελεστές στάθμισης που ελέγχουν το βαθμό αντίστασης στο τέντωμα και την κάμψη του περιγράμματος, αντίστοιχα, ενώ τα d και d^2 αντιπροσωπεύουν την πρώτη και τη δεύτερη παράγωγο της καμπύλης $[X(s), Y(s)]$ ως προς το s .

Επιπρόσθετα, η εξωτερική ενέργεια ορίζεται έτσι ώστε το περίγραμμα να προβεί σε αναζήτηση των ακμών της εικόνας I , με:

$$E_{external} = - \int_0^1 f(X(s), Y(s)) ds, \quad f(x, y) = |\nabla I(x, y)|^2 \quad (3.11)$$

όπου ∇ είναι ο τελεστής διαβάθμισης. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η συνολική ενέργεια E του περιγράμματος, εφαρμόζεται ο λογισμός των μεταβολών για να προκύψουν οι ακόλουθες εξισώσεις Euler:

$$-\alpha \frac{d^2 X}{ds^2} + \beta \frac{d^4 X}{ds^2} - \frac{\partial f}{\partial x} = 0 \quad \& \quad -\alpha \frac{d^2 Y}{ds^2} + \beta \frac{d^4 Y}{ds^2} - \frac{\partial f}{\partial y} = 0 \quad (3.12)$$

Για την επίλυση των θέσεων του ενεργού περιγράμματος ώστε να ικανοποιείται η Εξ.3.12, χρησιμοποιούνται μερικές διαφορικές εξισώσεις για τις οποίες τα $[X(s), Y(s)]$ αντιμετωπίζονται επίσης ως συνάρτηση του χρόνου t :

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 X}{\partial s^2} - \beta \frac{\partial^4 X}{\partial s^2} + u \quad \& \quad \frac{\partial Y}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 Y}{\partial s^2} - \beta \frac{\partial^4 Y}{\partial s^2} + v \quad (3.13)$$

όπου οι εξωτερικές δυνάμεις στο περίγραμμα $\frac{\partial f}{\partial x}$ και $\frac{\partial f}{\partial y}$ αντικαθίστανται από ένα διάνυσμα δυνάμεων (u, v) , το οποίο οδηγεί το περίγραμμα στις επιθυμητές ακμές.

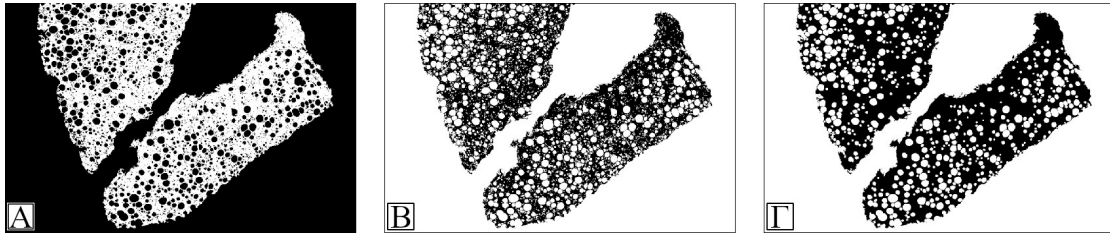
Το τελικό αποτέλεσμα κατάτμησης του ιστολογικού δείγματος απεικονίζεται στην αρχική εικόνα βιοψίας στην Εικόνα 3.3Γ με μια πράσινη γραμμή περιγράμματος.



Εικόνα 3.3. Βήματα για την κατάτμηση της ιστολογικής περιοχής του δείγματος βιοψίας ήπατος: (Α) δυαδικοποίηση εικόνας κλίμακας του γκρι μέσω κατωφλίωσης Otsu και επισήμανση των αποτρίμματων ιστού με κόκκινα κυκλικά πλαίσια, (Β) πλήρωση οπών εντός της ιστολογικής περιοχής και (Γ) ανάχνευση των εξωτερικών ορίων του ιστολογικού δείγματος με χρήση μοντέλων ενεργού περιγράμματος.

Κατάτμηση αντικειμένων ενδιαφέροντος

Η επόμενη φάση περιλαμβάνει την αντιστροφή των δυαδικών τιμών στην απαλλαγμένη από αποτρίμματα Εικόνα 3.4A σε μια προσπάθεια να ανιχνευτούν λευκές, κυκλικές περιοχές ενδιαφέροντος που θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν σταγονίδια λίπους εντός της κατατμημένης ιστολογικής περιοχής. Όπως παρατηρείται στην αντεστραμμένη δυαδική Εικόνα 3.4B, το μέγεθος τους ποικίλει, καθιστώντας αδύνατο τον εντοπισμό τους με μια μάσκα τυποποιημένου μεγέθους. Για την αντιμετώπιση αυτού του ζητήματος, εφαρμόζεται μια επαναληπτική διαδικασία μορφολογικού φιλτραρίσματος, χρησιμοποιώντας ένα κυκλικό δομικό στοιχείο με ακτίνα που αυξάνεται σε κάθε επανάληψη. Αυτή η κατηγορία επεξεργασίας βασίζεται σε μη-γραμμικούς τελεστές που χειρίζονται το σχήμα και τη μορφολογία των χαρακτηριστικών μιας εικόνας, αντί να βασίζονται στις αριθμητικές τιμές των εικονοστοιχείων. Καθίσταται επομένως κατάλληλη για την ανάλυση δυαδικών εικόνων [110].



Εικόνα 3.4. Μορφολογική επεξεργασία δυαδικής εικόνας ήπατος: (A) δυαδική εικόνα κατωφλίωσης με αφαίρεση των ιστολογικών αποτρίμματων, (B) αντιστροφή τιμών στα δυαδικά εικονοστοιχεία για μορφολογικό φιλτράρισμα κυκλικών αντικειμένων λίπους στην ιστολογική περιοχή και (Γ) αποτέλεσμα του μορφολογικού τελεστή ανοίγματος στα αντικείμενα ενδιαφέροντος.

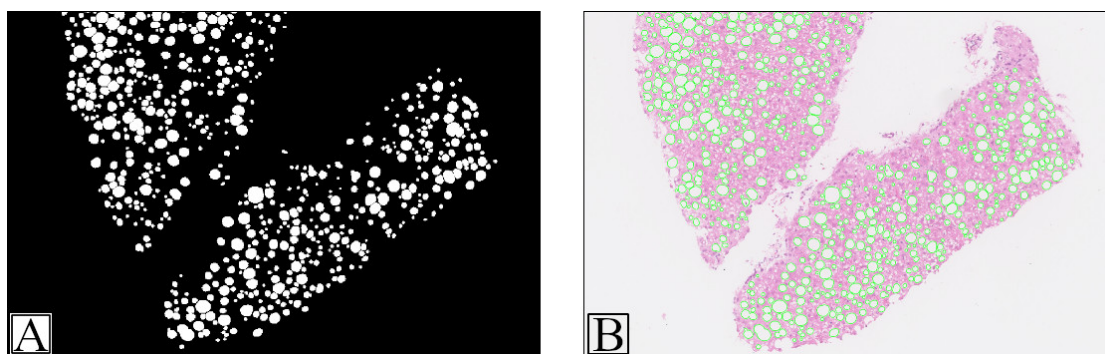
Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η δυαδική Εικόνα 3.4B χρησιμοποιείται ως βάση για την επαναληπτική διαδικασία φιλτραρίσματος και μια κυκλική μάσκα με ακτίνα 5 εικονοστοιχείων αρχικοποιείται ως δομικό στοιχείο. Ειδικότερα, εφαρμόζεται ο μορφολογικός τελεστής ανοίγματος (opening) για τη μείωση των ανεπιθύμητων ιστολογικών τεχνουργημάτων και την εξομάλυνση των ορίων κάθε φιλτραρισμένης ασθενικής δομής. Ως αποτέλεσμα, το μορφολογικό άνοιγμα μεταξύ της δυαδικής εικόνας και της κυκλικής μάσκας θα παράγει την ακόλουθη εικόνα I_{morph} :

$$I_{morph} = I_{bin} \circ M_{ci} = (I_{bin} \ominus M_{ci}) \oplus M_{ci} \quad (3.14)$$

όπου τα \ominus και \oplus αναφέρονται στους μορφολογικούς τελεστές συστολής (erosion) και διαστολής (dilation) και χρησιμοποιούνται για την ομαλοποίηση των ορίων και την αφαίρεση ιστολογικών ρωγμών με πάχος μικρότερο από τη τρέχουσα τιμή της διαμέτρου στο δομικό στοιχείο, αντίστοιχα [41, 42]. Το I_{bin} συμβολίζει την αρχική δυαδική εικόνα και το M_{ci} την κυκλική μάσκα της τρέχουσας i -οστής επανάληψης. Για να καταστεί δυνατό το φιλτράρισμα μεγαλύτερων κυκλικών δομών, η ακτίνα της M_{ci} αυξάνεται κατά 2 εικονοστοιχεία σε κάθε

επανάληψη. Η τρέχουσα εικόνα I_{morph} που παράγεται από την i -οστή επανάληψη τροφοδοτείται στη συνέχεια σε μια λογική πύλη OR . Μέσω αυτού του βήματος ελέγχου, εάν δεν παρατηρηθούν περαιτέρω αλλαγές μεταξύ των δύο τελευταίων διαδοχικών εικόνων I_{morph} , ο επαναληπτικός βρόχος τερματίζεται.

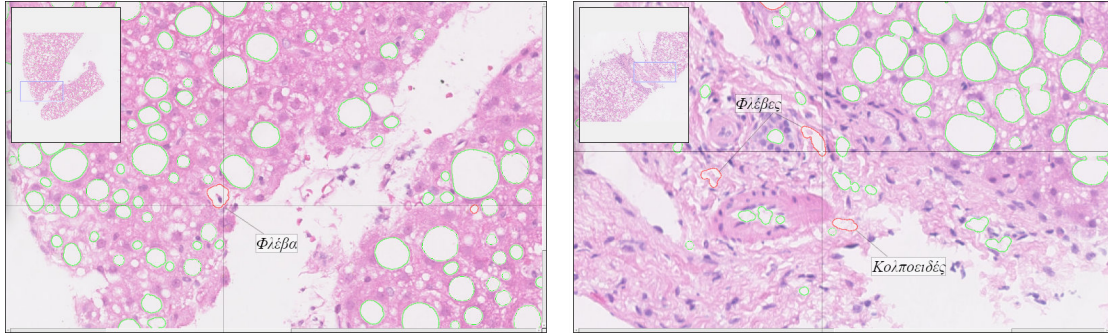
Συμπερασματικά, η προτεινόμενη προσέγγιση κατάτμησης εικόνας φιλτράρει το μέγεθος κάθε μικροσκοπικής περιοχής, αποκλείοντας εξαιρετικά μικρές και μεγάλες κυκλικές δομές από τους υπολογισμούς του λόγου στεάτωσης για κάθε εικόνα ήπατος $20\times$ (Εικόνα 3.4Γ). Παθολογοανατομικά, οι περιοχές μεγέθους ≤ 5 εικονοστοιχείων θεωρούνται θόρυβος, ενώ οι περιοχές > 1000 εικονοστοιχείων (περίπου $50 \mu m^2$) αντιστοιχούν σε υγιείς ανατομικές δομές, όπως οι κεντρικές φλέβες, οι πυλαίες φλέβες και αρτηρίες, τα κολποειδή και οι χοληφόροι πόροι. Ως εκ τούτου, περιλαμβάνονται μόνο αντικείμενα εντός του εύρους αριθμού εικονοστοιχείων και με τιμή εκκεντρότητας $\leq 0,95$ που υποδεικνύει κυκλικές φυσαλίδες στεάτωσης (Εικόνα 3.5Α). Για την ανίχνευση των ορίων των φιλτραρισμένων ηπατικών αντικειμένων απαιτείται και πάλι η χρήση μοντέλων ενεργού περιγράμματος, ενώ το αποτέλεσμα της κατάτμησης τους οπτικοποιείται στο αρχικό δείγμα βιοψίας H&E (Εικόνα 3.5B).



Εικόνα 3.5. Οπτικοποίηση της διαδικασίας κατάτμησης κυκλικών δομών ηπατικού λίπους: (Α) εξαγωγή μορφολογικά φιλτραρισμένων αντικειμένων από τον ιστό τους και (Β) ανίχνευση των ιστολογικών δομών ενδιαφέροντος με μοντέλα ενεργού περιγράμματος.

Ημιποσοτική αξιολόγηση του βαθμού ηπατικής στεάτωσης

Κατόπιν ολοκλήρωσης της διαδικασίας κατάτμησης, καθίσταται εφικτή η λήψη του ημιποσοτικού λόγου στεάτωσης για κάθε εικόνα μικροσκοπίας ήπατος. Πιο αναλυτικά, το διαγνωστικό λογισμικό παρέχει ένα διαδραστικό εργαλείο που επιτρέπει στους ιατρούς να αφαιρούν ή να αποκαθιστούν χειροκίνητα τα ενεργά περιγράμματα από τα κατατμημένα ιστολογικά αντικείμενα. Μέσω αυτής της προσέγγισης, δύο ιστοπαθολόγοι μπόρεσαν να διακρίνουν οπτικά τις φυσαλίδες στεάτωσης και να εξαλείψουν τα εσφαλμένα ανιχνεύσιμα τεχνουργήματα από τη διαδικασία ποσοτικοποίησης λίπους. Στην Εικόνα 3.6 παρουσιάζεται το εργαλείο αλληλεπίδρασης, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τον αποκλεισμό των ηπατικών φλεβών και των κολποειδών που κατατμήθηκαν εσφαλμένα ως λιπίδια απενεργοποιώντας τα ενεργά περιγράμματα, τα οποία εμφανίζονται με κόκκινο χρώμα.



Εικόνα 3.6. Παρουσίαση του διαδραστικού εργαλείου για την αλληλεπίδραση με αντικείμενα κατάτμησης ήπατος. Χάρη σε αυτή τη διεπαφή χρήστη καθίσταται δυνατός ο χειροκίνητος αποκλεισμός των εσφαλμένα ανιχνευόμενων ιστολογικών τεχνουργημάτων, όπως οι φλέβες και τα κολποειδή, επιτρέποντας την ημιποσοτική εκτίμηση του λόγου στεάτωσης από τους ιστοπαθολόγους ιατρούς.

3.1.2 Αποτελέσματα

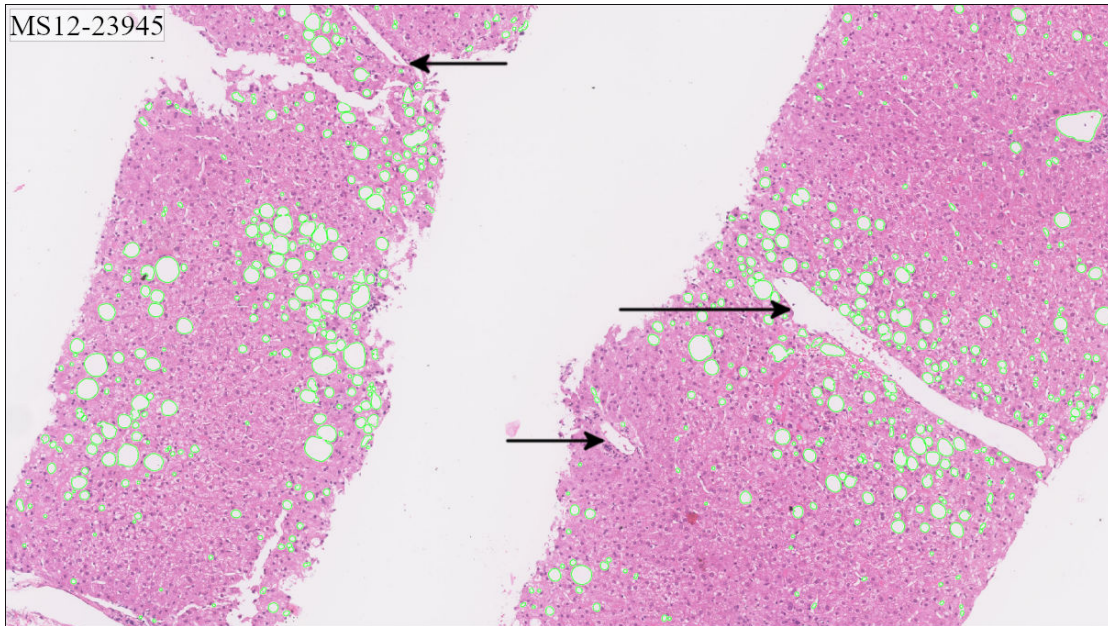
Οπτικοποίηση μεθόδου κατάτμησης εικόνας

Σε πρώτη φάση, απεικονίζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου κατάτμησης κυκλικών αντικειμένων ενδιαφέροντος. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.7, τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος, που επισημαίνονται με πράσινο χρώμα, έχουν συγκλίνει στις ακμές των λευκών περιοχών υψηλής φωτεινότητας, οι οποίες σηματοδοτούν την ανίχνευση σταγονιδίων λίπους. Η επιτυχία της προτεινόμενης διαδικασίας κατάτμησης εικόνας οφείλεται επίσης στον αποκλεισμό της πλειονότητας των μεγάλων και μη-κυκλικών λευκών ιστολογικών δομών που σχετίζονται με τις ηπατικές φλέβες και τα κολποειδή ως περιοχές συσσώρευσης λίπους.

Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της ηπατικής στεάτωσης

Σε συνέχεια των βημάτων κατάτμησης, υπολογίζεται ο λόγος επικράτησης λίπους για κάθε διαγνωστική εικόνα $20\times$ ($n = 28$). Αυτός ισούται με το άθροισμα των εικονοστοιχείων που αποτελούν τις ανιχνευόμενες κυκλικές δομές (Εικόνα 3.5A), διαιρούμενο με τη συνολική επιφάνεια της εξαχθείσας περιοχής ιστού στην πρώτη φάση της μεθοδολογίας (Εικόνα 3.3B). Βασική προϋπόθεση σε αυτό το σημείο είναι η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου ανίχνευσης φυσαλίδων λίπους. Για να επιτευχθεί αυτό, οι υπολογιζόμενοι λόγοι στεάτωσης συγκεντρώνονται στον ακόλουθο Πίνακα 3.1, συνοδευόμενοι από τους αντίστοιχους που προκύπτουν από τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις των παθοανατόμων του νοσοκομείου St. Mary. Κατά συνέπεια, η διαφορά μεταξύ αυτών των αναλογιών αντιπροσωπεύει το απόλυτο σφάλμα της υπολογιστικής διαδικασίας για κάθε κατατμημένη εικόνα βιοψίας (S_{err}), εκφραζόμενο ως ποσοστό (%):

$$S_{err} = \left| \frac{F_{Segm}}{T_{total}} - \frac{F_{Doc}}{T_{total}} \right| 100\% \quad (3.15)$$



Εικόνα 3.7. Τελικό αποτέλεσμα της ανίχνευσης υποψήφιων δομών λίπους με πράσινο χρώμα περιγράμματος και του αποκλεισμού των, επισημασμένων με βέλη, μεγάλων και μη-κυκλικών τεχνουργημάτων από τους υπολογισμούς της αναλογίας στεάτωσης.

όπου τα F_{Segm} και F_{Doc} υποδηλώνουν το ποσοστό λίπους που υπολογίζεται από το προτεινόμενο εργαλείο κατάτμησης και από τις ημιποσοτικές γνωματεύσεις των ιατρών, αντίστοιχα, ενώ το T_{total} υποδεικνύει την περιοχή του ιστού που προσδιορίζεται στο πρώτο βήμα της μεθόδου.

Η παραπάνω Εξ.3.15 οδηγεί στην τέταρτη στήλη του Πίνακα 3.1, όπου παρατίθεται το απόλυτο σφάλμα ποσοτικοποίησης λίπους για κάθε ηπατικό δείγμα $20\times$. Μεταβαίνοντας στην τελευταία γραμμή του πίνακα, οι απόλυτες τιμές οδηγούν σε ένα μέσο διαγνωστικό σφάλμα 2,08% με τυπική απόκλιση σφαλμάτων της τάξης του 1,18%, υποδεικνύοντας μια σχετικά σταθερή απόδοση της μεθόδου στην ανίχνευση κυκλικών λιποκυττάρων. Εστιάζοντας αντ' αυτού στις μέσες τιμές ποσοτικού προσδιορισμού των F_{Segm} και F_{Doc} , αυτές ανέρχονται σε 18,48% και 17,35%, αντίστοιχα. Εξετάζοντας παράλληλα την Εικόνα 3.6, συνάγεται το συμπέρασμα ότι η συμπερίληψη ορισμένων ψευδών θετικών δομών στεάτωσης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της μέσης τιμή ποσοτικοποίησης λίπους για τη μέθοδο επεξεργασίας εικόνας.

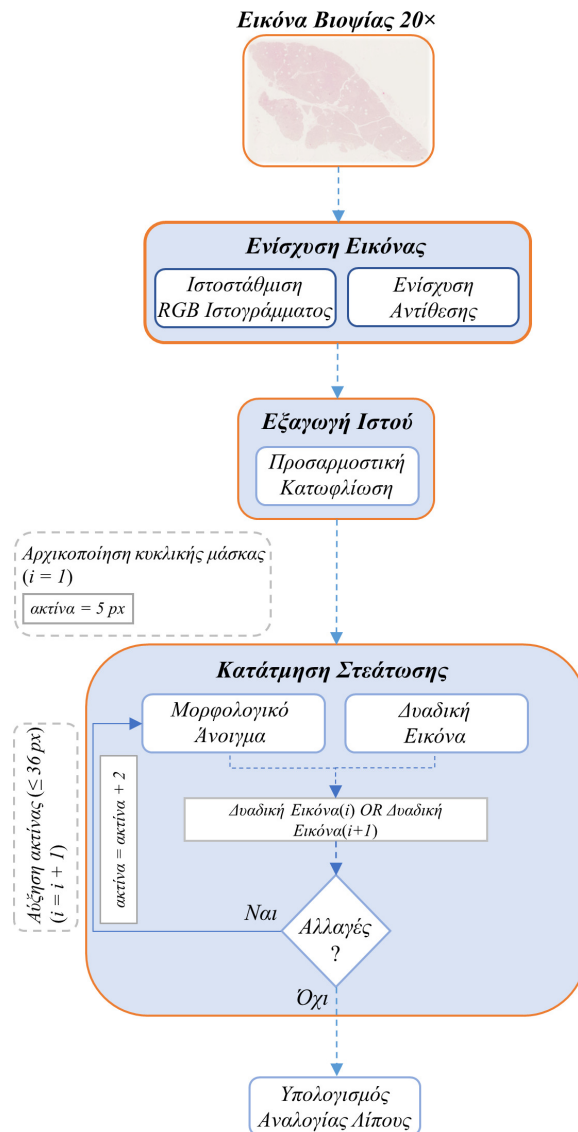
Πίνακας 3.1: Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου κατάτμησης εικόνας

	Εικόνα Ελέγχου (20×)	F_{Segm} (%)	F_{Doc} (%)	S_{err} (%)
1	MS12-23945	9,88	7,65	2,23
2	MS13-11663	5,43	3,47	1,96
3	MS13-12414	16,34	14,06	2,28
4	MS13-18536	11,76	10,64	1,12
5	MS13-9453	27,42	24,13	3,29
6	MS13-9925	25,87	23,99	1,88
7	MS14-10783	15,83	16,13	0,30
8	MS14-10801	9,99	9,82	0,18
9	MS14-11933	7,23	3,77	3,47
10	MS14-12212	26,64	26,71	0,06
11	MS14-13040	12,80	12,63	0,16
12	MS14-1559	24,32	26,85	2,53
13	MS14-2382	37,60	40,08	2,48
14	MS14-2449	12,97	14,70	1,73
15	MS14-2451	15,17	13,98	1,19
16	MS14-3215	14,32	10,84	3,48
17	MS14-3686	4,55	2,27	2,28
18	MS14-3854	27,23	24,32	2,91
19	MS14-5561	6,79	4,52	2,27
20	MS14-5898	25,66	26,41	0,75
21	MS14-6402	15,24	13,42	1,81
22	MS14-786	29,28	32,50	3,23
23	MS14-8355	42,27	44,50	2,22
24	MS14-9198	12,23	7,09	5,14
25	MS14-9711	32,20	29,79	2,41
26	MS15-2103	5,14	2,79	2,35
27	MS15-2670	30,99	29,61	1,38
28	MS15-805	12,35	9,12	3,23
	Μέση τιμή:	18,48	17,35	2,08
	Τυπική απόκλιση:	-	-	1,18

3.2 Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης, η μη-αλκοολική λιπώδης παγκρεατική νόσος (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease - NAFPD) είναι μια παθολογική κατάσταση για την οποία δεν έχουν προταθεί ευρέως υπολογιστικές

μέθοδοι βασισμένες σε εικόνες βιοψίας για τη λεπτομερή παρακολούθησή της (βλ. Ενότητα 2.1.2). Σκοπός της παρούσας μελέτης [6] είναι η εφαρμογή ενός αυτοματοποιημένου συστήματος για τον προσδιορισμό του βαθμού στεάτωσης σε μικροσκοπικά δείγματα με NAFPD από τη βάση δεδομένων εικόνων βιοψίας παγκρέατος (βλ. Ενότητα 2.2.2) και η αντιμετώπιση του προβλήματος της ημιποσοτικής αξιολόγησης στις σύγχρονες κλινικές διαγνώσεις. Σε αρχικό στάδιο, το μεθοδολογικό πλαίσιο επικεντρώνεται στην κατάτμηση λευκών αντικειμένων που αντιστοιχούν σε πιθανές εναποθέσεις μεμονωμένων στεατωτικών



Εικόνα 3.8. Διάγραμμα ροής μεθόδου κατάτμησης παγκρεατικού λίπους. Αρχικά, εφαρμόζεται η προσαρμοστική ιστοστάθμιση ιστογράμματος RGB για τη βελτίωση του χρώματος της εικόνας εισόδου και τη μετατροπή της σε κλίμακα του γκρι. Η ενίσχυση των αντιθέσεων του γκρι ωφελεί την προσαρμοστική κατωφλίωση της εικόνας για τη δυαδικοποίησή της. Το φιλτράρισμα λευκών, κυκλικών αντικείμενων λίπους με επαναληπτικό μορφολογικό άνοιγμα οδηγεί τελικά στην ανίχνευση των εξωτερικών ορίων κάθε δομής ενδιαφέροντος και στον υπολογισμό της αναλογίας λίπους στον NAFPD ιστό.

κυττάρων και σε περιοχές συσσώρευσης επικαλυπτόμενων λιπιδίων, πριν από το διαχωρισμό τους από τα ιστολογικά τεχνουργήματα. Στην Εικόνα 3.8 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής του προτεινόμενου εργαλείου ανίχνευσης παγκρεατικού λίπους.

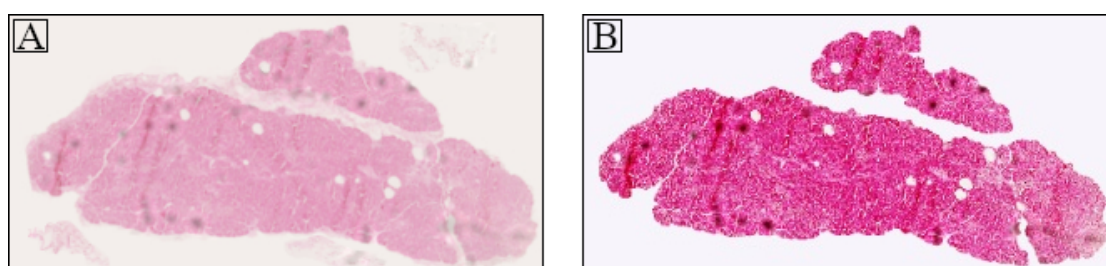
3.2.1 Υλικά και μέθοδοι

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Η προτεινόμενη μεθοδολογική προσέγγιση αξιολογείται χρησιμοποιώντας 20 δείγματα παγκρεατικής βιοψίας με διαφορετικούς βαθμούς στεάτωσης NAFPD που ελήφθησαν από ανθρώπινους δότες κατά τη διάρκεια μεταμόσχευσης στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Για τον χρωματισμό των ιστολογικών δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η χρώση H&E, η οποία έχει καταστεί το χρυσό πρότυπο στην ιστοπαθολογική διάγνωση. Μετά την ολοκλήρωση των διαδικασιών χρώσης των ιστών και παρασκευής των πλακιδίων βιοψίας, τα παγκρεατικά δείγματα ψηφιοποιήθηκαν με συντελεστή μεγέθυνσης 20x.

Εξαγωγή ιστολογικής περιοχής

Κάθε σαρωμένο δείγμα βιοψίας εισάγεται στη μέθοδο ανάλυσης εικόνας ως τρισδιάστατος πίνακας ακέραιων τιμών 8-bit σε κάθε κανάλι του χώρου RGB (Εικόνα 3.9A). Προκειμένου να τροποποιηθούν οι εντάσεις των χρωματικών καναλιών και να βελτιωθεί η συνολική αντίθεση της εικόνας, εφαρμόζεται προσαρμοστική ισοστάθμιση ιστογράμματος σε κάθε κανάλι ξεχωριστά. Αυτό ωφελεί τη διατήρηση όλων των πληροφοριών που βασίζονται στο ιστόγραμμα, αξιοποιώντας όλο το εύρος των επιπέδων έντασης σε κάθε κανάλι, με αποτέλεσμα μια πιο ομοιόμορφη κατανομή των χρωματικών τιμών. Ωστόσο, αυτό έχει επίσης αρνητικό αντίκτυπο στα εικονοστοιχεία του φόντου, όπου ενισχύεται ο θόρυβος.



Εικόνα 3.9. Ενίσχυση χρωματικών αντιθέσεων της ιστολογικής εικόνας παγκρέατος: (A) δείγμα βιοψίας εισόδου H&E, όπου ο θόρυβος κατά τη σάρωση έχει οδηγήσει σε ανισοροπίες στις τιμές έντασης, παράγοντας μια χρωματικά υποβαθμισμένη εικόνα και (B) προσαρμοστική ισοστάθμιση ιστογράμματος των καναλιών RGB για την αναπροσαρμογή των επιπέδων φωτεινότητας και αντίθεσης, σε συνδυασμό με την αφαίρεση ιστολογικών αποτριμμάτων για την παραγωγή μιας πιο οπτικά ελκυστικής και ακριβής αναπαράστασης της αρχικής χρωματικής σκηνής.

Για τη μείωση του θορύβου προτιμάται ο υπολογισμός του εμβαδού για κάθε περιοχή 8-συνδεδεμένων εικονοστοιχείων και, στη συνέχεια, οι περιοχές συνδεδεμένων εικονοστοιχείων με εμβαδόν μικρότερο από το 0,3% της μεγαλύτερης περιοχής απορρίπτονται ως μέρος του παγκρατικού δείγματος. Μετά τα βήματα ενίσχυσης της αντίθεσης και αποθορυβοποίησης της εικόνας, ένα μεγάλο μέρος της βιοψίας αντανακλά ένα φωτεινό φόντο, ενώ το ιστολογικό δείγμα H&E περιλαμβάνει πιο ευδιάκριτα και φωτεινά κόκκινα/μοβ εικονοστοιχεία (Εικόνα 3.9B).

Για την εξαγωγή της ιστολογικής περιοχής από το λευκό φόντο, η προηγουμένως ενισχυμένη έγχρωμη εικόνα μετατρέπεται σε αντίστοιχη διδιάστατη κλίμακας του γκρι (Εικόνα 3.10A). Η αντίθεση της εικόνας κλίμακας του γκρι αυξάνεται με τον κορεσμό (saturation) του κατώτερου και του ανώτερου 1% όλων των τιμών των εικονοστοιχείων, γεγονός που διευρύνει το εύρος των επιπέδων έντασης. Τα σημεία κορεσμού προσδιορίζονται με βάση μια συνάρτηση γραμμικού μετασχηματισμού, η οποία συσχετίζει δύο σημεία (r_1, s_1) και (r_2, s_2) για να διατηρηθεί η σειρά των επιπέδων έντασης. Διασφαλίζεται επίσης ότι $r_1 \leq r_2$ και $s_1 \leq s_2$ ώστε να ληφθεί μια μονότιμη και μονότονα αύξουσα συνάρτηση και να αποτραπεί η εμφάνιση ανεπιθύμητων τεχνουργημάτων στην ενισχυμένη εικόνα [107].

Δεδομένου ότι οι ενδιαμέσες τιμές των (r_1, s_1) και (r_2, s_2) δύνανται να παράγουν διάφορους βαθμούς διασποράς στα επίπεδα έντασης της εικόνας εξόδου και να μεταβάλλουν την αντίθεσή της, εφαρμόζεται ο ακόλουθος τύπος:

$$(r_1, s_1) = (r_{\min}, 0) \quad \& \quad (r_2, s_2) = (r_{\max}, L - 1) \quad (3.16)$$

όπου τα r_{\min} και r_{\max} υποδηλώνουν το χαμηλότερο και το υψηλότερο επίπεδο έντασης της εικόνας εισόδου, αντίστοιχα. Με αυτόν τον τρόπο, τα επίπεδα έντασης διευρύνονται γραμμικά σε ολόκληρο το εύρος τιμών έντασης $[0, L - 1]$.

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.10B, το προηγούμενο βήμα ενισχύει τη ζωντάνια των εντάσεων των εικονοστοιχείων της κλίμακας του γκρι, επιτρέποντας στη μέθοδο επεξεργασίας εικόνας να προσδιορίσει με μεγαλύτερη ακρίβεια τα εξωτερικά όρια της περιοχής του ιστού. Για να επιτευχθεί αυτό, εφαρμόζεται ο αλγόριθμος προσαρμοστικής κατωφλίωσης (adaptive thresholding) με βάση την τοπική μέση ένταση της γειτονιάς κάθε εικονοστοιχείου κλίμακας του γκρι, ως το στατιστικό (ροπή) πρώτης τάξης. Αυτή η τεχνική κρίθηκε ως η καταλληλότερη επιλογή για την επίλυση του προβλήματος, καθώς το σύνολο δεδομένων αποτελείται από 20 εικόνες βιοψίας με σημαντικές διακυμάνσεις στις εντάσεις των εικονοστοιχείων τους. Ο αλγόριθμος μπορεί να υπολογίζει μια διαφορετική τιμή κατωφλίου για κάθε εικονοστοιχείο της εικόνας, παρέχοντας μεγαλύτερη ανοχή στις μεταβολές της έντασης μεταξύ των ιστολογικών τμημάτων.

Αυτό επιτυγχάνεται με τον προσδιορισμό της ενσωματωμένης (integral) εικόνας $I(x, y)$, η οποία καθιστά δυνατή τη χρήση πολλαπλών επικαλυπτόμενων ορθογωνίων παραθύρων για τον υπολογισμό της μέσης έντασης για κάθε γειτονιά εικονοστοιχείων [111]. Πιο συγκεκριμένα, για κάθε όρο στην άνω-αριστερή συντεταγμένη κάθε εικονοστοιχείου (x, y) , εφαρμόζεται μια συνάρτηση $f(x, y)$ για τη μετατροπή των τιμών έντασης σε πραγματικούς αριθμούς, με:

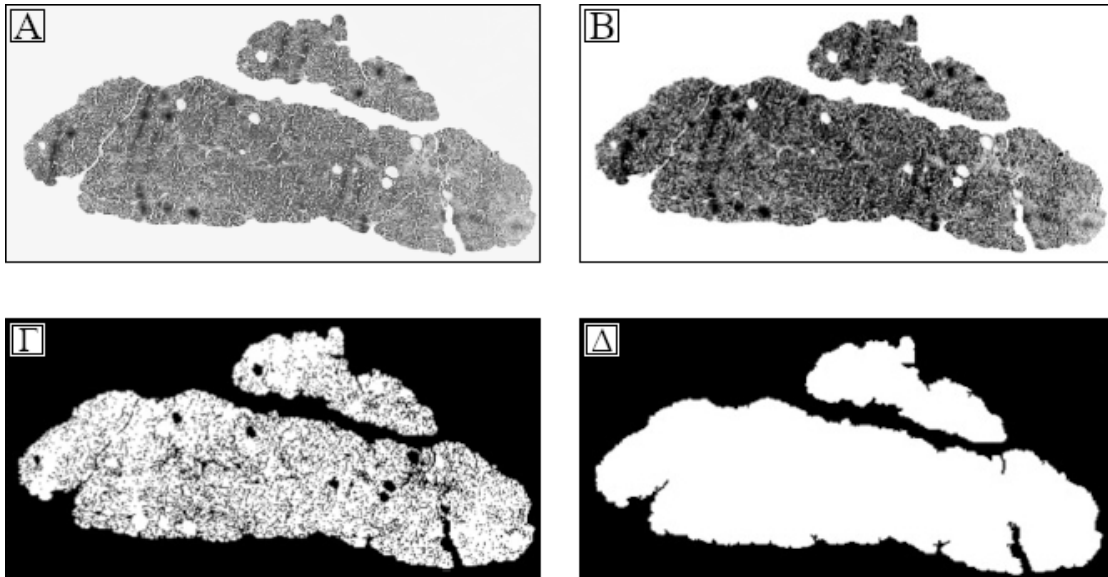
$$I(x, y) = f(x, y) + I(x - 1, y) + I(x, y - 1) - I(x - 1, y - 1) \quad (3.17)$$

Στη συνέχεια, για κάθε ορθογώνιο στην ενσωματωμένη εικόνα με άνω-αριστερή γωνία (x_1, y_1) και κάτω-δεξιά γωνία (x_2, y_2) , το άθροισμα της συνάρτησης f υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$\sum_{x=x_1}^{x_2} \sum_{y=y_1}^{y_2} f(x, y) = I(x_2, y_2) - I(x_2, y_1 - 1) - I(x_1 - 1, y_2) + I(x_1 - 1, y_1 - 1) \quad (3.18)$$

Μετά τη σύγκλιση του αλγορίθμου, ορίζεται ένα ενιαίο ολικό κατώφλι για τα εικονοστοιχεία της ενσωματωμένης εικόνας εφαρμόζοντας μια τιμή ευαισθησίας εντός του κλειστού διαστήματος $[0, 1]$, όπου μια υψηλότερη τιμή ισοδυναμεί με μεγαλύτερο αριθμό εικονοστοιχείων που προστίθενται στο προσκήνιο (περιοχή ιστού). Ωστόσο, μια υπερβολικά υψηλή τιμή ευαισθησίας μπορεί να έχει αρνητικό αποτέλεσμα, καθώς ορισμένα από τα εικονοστοιχεία του φόντου μπορεί να συμπεριληφθούν στο προσκήνιο. Λόγω του μειονεκτήματος αυτού, η τιμή ορίζεται στο 0,599 με τη μέθοδο δοκιμής-σφάλματος. Με την κατωφλίωση εικονοστοιχείων, η εικόνα κλίμακας του γκρι μετατρέπεται σε δυαδική, όπου τα μαύρα εικονοστοιχεία (λογικό '0') αντιπροσωπεύουν το υπόβαθρο και τα λευκά εικονοστοιχεία (λογικό '1') τον ιστό (Εικόνα 3.10Γ).

Σύμφωνα με την Εικόνα 3.10Γ, η μέθοδος προσαρμοστικής κατωφλίωσης έχει ως αποτέλεσμα τη συμπερίληψη αρκετών μαύρων περιοχών εντός της ιστολογικής περιοχής ως εικονοστοιχεία φόντου. Αυτό είναι ένα σύνθηρες φαινόμενο στις εικόνες βιοψίας, καθώς συχνά περιέχουν πολλές ασθενικές και υγιείς ανατομικές δομές ή εικονοστοιχεία ιστού χαμηλής αντίθεσης. Για τη σύνδεση όλων των ιστολογικών τμημάτων και την καλύτερη αναπαράσταση της περιοχής του δείγματος, εφαρμόζεται μορφολογικό κλείσιμο (closing) με ένα κυκλικό δομικό στοιχείο 3 εικονοστοιχείων, ακολουθούμενο από μια εντολή πλήρωσης οπών για την αφαίρεση των εναπομεινάντων μαύρων αντικειμένων και την αντικατάστασή τους με τιμές λογικού '1' (λευκό) (Εικόνα 3.10Δ).



Εικόνα 3.10. Βήματα για την κατάτμηση της ιστολογικής περιοχής του δείγματος βιοψίας παγκρέατος: (Α) μετατροπή του χρωματικού χώρου RGB σε κλίμακα του γκρι, (Β) κορεσμός εικονοστοιχείων για την ενίσχυση των αντιθέσεων, (Γ) δυαδική μετατροπή με εφαρμογή προσαρμοστικής κατωφλίωσης στη μέση ένταση της γειτονιάς των εικονοστοιχείων και (Δ) πλήρωση οπών και προσδιορισμός της περιοχής του ιστού.

Κατάτμηση αντικειμένων ενδιαφέροντος

Το επόμενο βήμα στη διαδικασία είναι το φιλτράρισμα των λευκών, κυκλικών αντικειμένων που υποδηλώνουν πιθανές περιοχές εναπόθεσης λιποκυττάρων εντός της κατατμημένης ιστολογικής περιοχής. Αυτό πραγματοποιείται με τη χρήση της δυαδικής Εικόνας 3.10Γ που παράγεται από τον αλγόριθμο προσαρμοστικής κατωφλίωσης, στην οποία έχουν διατηρηθεί όλα τα απαραίτητα μορφολογικά στοιχεία που μπορούν να βοηθήσουν στην κατάτμηση των υποψήφιων δομών στεάτωσης στην αρχική εικόνα H&E.

Αρχικά, οι δυαδικές τιμές αντιστρέφονται, καθιστώντας τα μαύρα κυκλικά αντικείμενα ορατά σε λευκό χρώμα εντός του παγκρεατικού δείγματος (Εικόνα 3.11Α). Συνεχίζοντας, αρχικοποιείται μια κυκλική μάσκα με ακτίνα 8 εικονοστοιχείων και εκτελείται ένας επαναληπτικός βρόχος, ο οποίος εφαρμόζει μορφολογικό άνοιγμα στις κυκλικές λευκές δομές με σταδιακά αυξανόμενη ακτίνα 2 εικονοστοιχείων σε κάθε επανάληψη. Λαμβάνοντας και πάλι την Εξ.3.14, ο βρόχος τερματίζεται είτε όταν δεν παρατηρείται καμία αλλαγή μεταξύ των τελευταίων διαδοχικών εικόνων I_{morph} είτε όταν η ακτίνα του δομικού στοιχείου φτάσει στο μέγιστο των 36 εικονοστοιχείων. Οι τιμές αυτές επιλέγονται με βάση τις γνώμες των ειδικών, καθώς τα παγκρεατικά αντικείμενα εκτός αυτού του εύρους σε εικόνες με μεγέθυνση 20× υποδεικνύουν ιστολογικά τεχνουργήματα που με τη σειρά τους υποδηλώνουν διάφορα υγιή ανατομικά χαρακτηριστικά. Ομοίως με τη μέθοδο εντοπισμού του ηπατικού λίπους (βλ. Ενότητα 3.1.1), οι φιλτραρισμένες δομές με εκκεντρότητα $> 0,95$ που παραπέμπουν σε ιστολογικές ρωγμές και αγωγούς απορρίπτονται ως υποψήφια ευρήματα στεάτωσης.

Χρησιμοποιώντας τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος, εκτιμώνται στη συνέχεια τα εξωτερικά όρια κάθε μορφολογικά φιλτραρισμένης λευκής δομής στην Εικόνα 3.11B, ενώ τα τελικά αποτελέσματα κατάτμησης λαμβάνουν χώρα στο αρχικό δείγμα H&E.

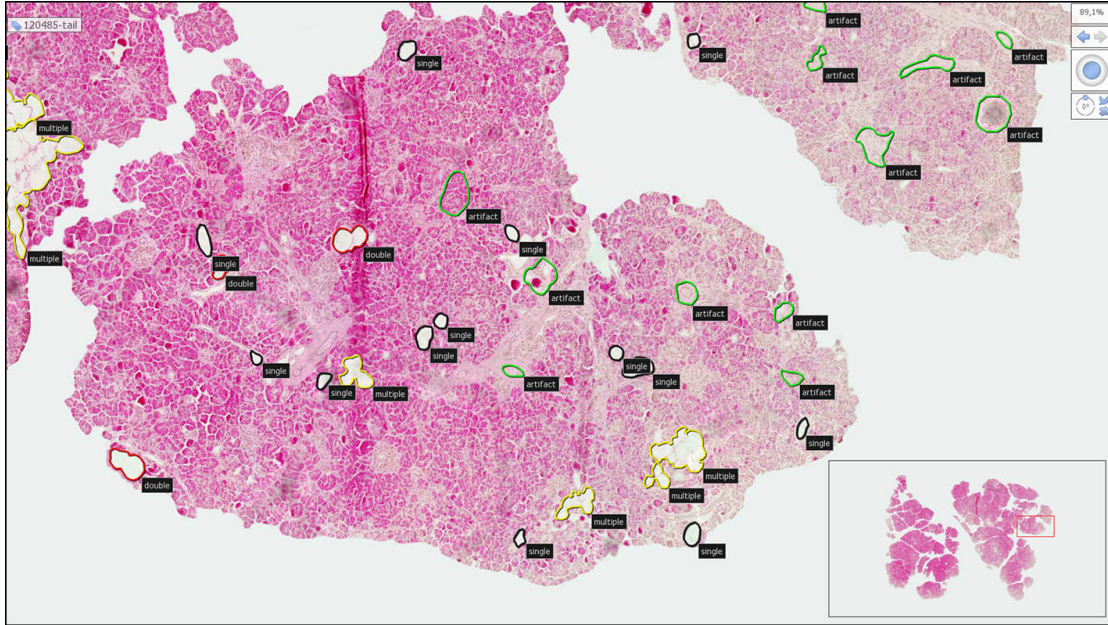


Εικόνα 3.11. Μορφολογικό φιλτράρισμα των κυκλικών δομών παγκρεατικού λίπους: (A) αποτέλεσμα του μορφολογικού ανοίγματος για τη διατήρηση των ιστολογικών αντικειμένων ενδιαφέροντος και (B) εξαγωγή πιθανών κυττάρων λίπους από τον παγκρεατικό ιστό.

Ημιποσοτική αξιολόγηση του βαθμού παγκρεατικής στεάτωσης

Στο σημείο αυτό, πραγματοποιείται ένα βήμα για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας της μεθόδου κατάτμησης εικόνας και τη μετέπειτα ενσωμάτωσής της σε δύο φάσεις εποπτευόμενης μηχανικής μάθησης για την εξάλειψη των ψευδώς θετικών δομών λίπους από τις διαδικασίες ποσοτικοποίησης της παγκρεατικής στεάτωσης. Στο πλαίσιο αυτής της προσπάθειας, ζητήθηκε η γνώμη δύο παθολόγων ιατρών για τον καθορισμό ετικετών κλάσης για τα πιο συχνά εμφανιζόμενα ιστολογικά αντικείμενα στα δείγματα βιοψίας NAFLD ($n = 20$). Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αξιολόγησης, τα ιστολογικά ευρήματα που συμφωνήθηκαν από τους δύο εμπειρογνώμονες συμπεριλήφθηκαν με την ψηφιακή μορφή της χειροκίνητης επισήμειωσης (annotation) μέσω του ιστοπαθολογικού εργαλείου NDP.view2 (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Ιαπωνία) (Εικόνα 3.12).

Οι ειδικοί ξεκίνησαν παρατηρώντας μεμονωμένες φυσαλίδες λίπους, οι οποίες διακρίνονται από το έντονο λευκό χρώμα και το στρογγυλό σχήμα τους. Στην πορεία, διέκριναν περιπτώσεις αντικειμένων με παρόμοιο κυκλικό σχήμα με τα σταγονίδια λίπους, αλλά που περιείχαν ερυθρά αιμοσφαίρια, τα οποία τελικά ταυτοποιήθηκαν ως παγκρεατικές φλέβες. Επιπλέον, παρατηρήθηκε το φαινόμενο της συσσωμάτωσης γειτονικών λιποκυττάρων, ιδίως σε άτομα με αυξημένο ποσοστό παγκρεατικής στεάτωσης. Όπως φαίνεται στη χειροκίνητα επισημειωμένη Εικόνα 3.12, οι ακμές τους συγχωνεύονται σχηματίζοντας δομές με μορφολογικά χαρακτηριστικά (π.χ. μέγεθος, έκταση, εκκεντρότητα) συγκρίσιμα με υγιή ιστολογικά αντικείμενα, όπως τα κολποειδή και οι παγκρεατικοί πόροι.



Εικόνα 3.12. Στιγμιότυπο από το περιβάλλον λογισμικού NDP.view2 που χρησιμοποιείται για την επισημείωση τεσσάρων ιστολογικών κλάσεων και την ημιποσοτική αξιολόγηση του επιπολασμού της στεάτωσης NAFLD. Για την επισημείωση των αντικειμένων ενδιαφέροντος χρησιμοποιείται το εργαλείο χειροκίνητης επιλογής (freehand) με διαφορετικά χρώματα περιγράμματος: 1) μαύρο → μονή φυσαλίδα λίπους (single), κόκκινο → διπλά-συσσωματωμένη περιοχή λίπους (double), 3) κίτρινο → πολλαπλά-συσσωματωμένη περιοχή λίπους και δ) πράσινο → ιστολογικό τεχνούργημα (artifact). Όλες οι συντεταγμένες περιγράμματος 2D και οι ετικέτες κλάσεις καταγράφονται αυτόματα σε ένα αρχείο με επέκταση .xml ανά εικόνα βιοψίας ($n = 20$). Σημειώνεται ότι οι τρεις πρώτες κλάσεις αποδίδουν την ημιποσοτική αναλογία λίπους για κάθε εικόνα, ενώ η κλάση artifact αξιοποιείται για την εκπαίδευση αλγόριθμων ταξινόμησης ώστε να εξαλειφθούν οι ψευδώς θετικές δομές στεάτωσης σε μεταγενέστερα στάδια της μεθόδου.

Με βάση αυτά τα ευρήματα, τέσσερα ιστολογικά αντικείμενα κλάσης επισημειώθηκαν χειροκίνητα για ημιποσοτικούς και αυτοματοποιημένους διαγνωστικούς σκοπούς: 1) μεμονωμένες φυσαλίδες λίπους (single), 2) διπλά-συσσωματωμένες περιοχές λίπους (double), 3) πολλαπλά-συσσωματωμένες περιοχές λίπους (multiple) και 4) ιστολογικά τεχνουργήματα (artifacts). Οι τρεις πρώτες κλάσεις περιλαμβάνουν όλους τους τύπους συσσώρευσης λίπους στον NAFLD ιστό, ενώ η κλάση ιστολογικών τεχνουργημάτων περιλαμβάνει όλες τις υγιείς δομές που πρέπει να παραλειφθούν κατά τον υπολογισμό του λόγου στεάτωσης του ασθενούς.

Με βάση τα παραπάνω, ο ημιποσοτικός λόγος στεάτωσης για κάθε δείγμα βιοψίας υπολογίζεται ως εξής:

$$F_{annot} = \frac{\sum_{i=1}^n (sgl_i \vee dbl_i \vee mul_i)}{n_t} 100\% \quad (3.19)$$

όπου ο τελεστής \vee (λογικό OR), χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του αθροίσματος των εικονοστοιχείων που αφορούν είτε μεμονωμένα σταγονίδια (sgl), είτε διπλά-συσσωματωμένα

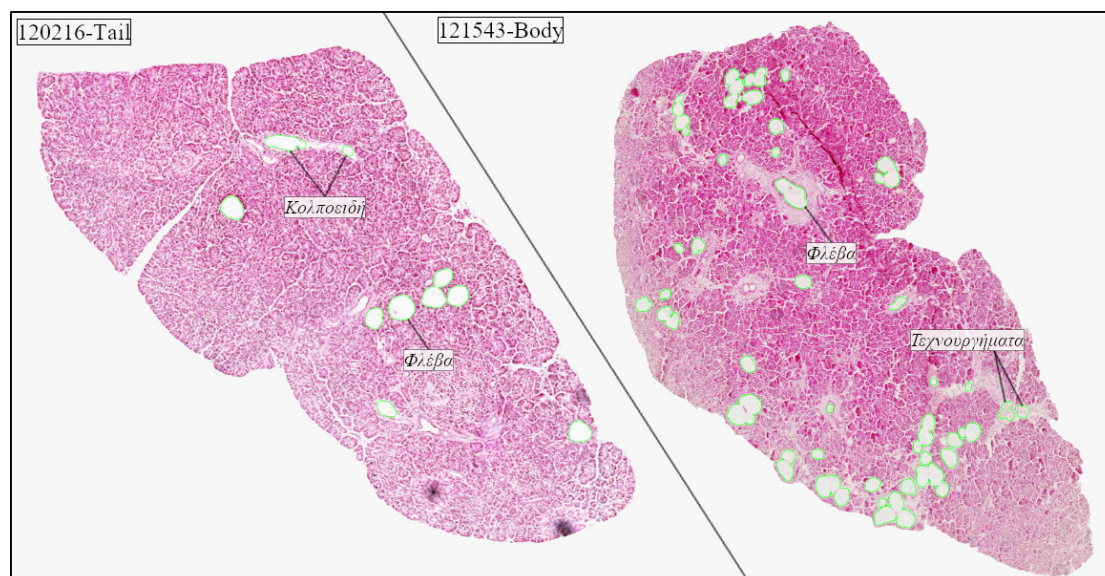
(*dbl*), είτε πολλαπλά-συσσωματωμένα αντικείμενα λίπους (*mul*), διαιρούμενα με τα εικονοστοιχεία της κατατμημένης ιστολογικής περιοχής n_i (Εικόνα 3.10Δ). Η προκύπτουσα τιμή πολλαπλασιάζεται επί 100 για να ληφθεί ο λόγος στεάτωσης ως ποσοστό (%) για κάθε ασθενή με NAFLD.

3.2.2 Αποτελέσματα

Οπτικοποίηση μεθόδου κατάτμησης εικόνας

Μετά τη μορφολογική επεξεργασία που περιγράφηκε προηγουμένως, τα κυκλικά αντικείμενα κατατμούνται στην αρχική εικόνα βιοψίας H&E και με πράσινο χρώμα για κάθε ενεργό περίγραμμα (Εικόνα 3.13). Τα αποτελέσματα της κατάτμησης των κυκλικών δομών φαίνεται να είναι επαρκή, με τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος να συγχλίνουν στα όρια όλων των ιστολογικών αντικειμένων ενδιαφέροντος.

Εντούτοις, παρατηρούνται αρκετές ψευδώς θετικές λιπώδεις δομές, οι οποίες στην πραγματικότητα είναι τεχνουργήματα που αφορούν είτε περιοχές ιστού με χαμηλές τιμές αντίθεσης είτε κυκλικές φλέβες, κυρτά κολποειδή και παγκρεατικούς πόρους. Η συμπερίληψη αυτών των ψευδώς θετικών ευρημάτων λίπους οδηγεί σε υπερεκτίμηση του επιπολασμού της παγκρεατικής στεάτωσης σε κάθε μικροσκοπικό δείγμα, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ταυτοποίηση της παθολογικής κατάστασης του ασθενούς.



Εικόνα 3.13. Τελικό αποτέλεσμα της μεθόδου ανίχνευσης υποψήφιων φυσαλίδων στεάτωσης σε αποκομμένες ιστολογικές τομές εικόνων ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) παγκρέατος. Η κατατμημένη εικόνα αποκαλύπτει τη συμπερίληψη ορισμένων ψευδώς θετικών λιποκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των κολποειδών και των παγκρεατικών φλεβών, καθώς και τεχνουργημάτων σε ιστολογικές περιοχές με χαμηλές τιμές αντίθεσης εικονοστοιχείων. Αυτές οι ανακρίβειες αυξάνουν το διαγνωστικό σφάλμα για κάθε δείγμα μικροσκοπίας 20 \times , όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.2.

Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της παγκρεατικής στεάτωσης

Στον Πίνακα 3.2 παρουσιάζονται τα ποσοστά συσσώρευσης λίπους για τις εικόνες 20× που αποκτήθηκαν από τη φάση κατάτμησης κυκλικών δομών (F_{Segm}) και την ημιποσοτική διαγνωστική διαδικασία που πραγματοποιήθηκε από τους ιατρούς (F_{Doc}) με τη χρήση του εργαλείου NDP.view2. Και στις δύο περιπτώσεις, ο λόγος της στεάτωσης υπολογίζεται διαιρώντας την αθροιστική επιφάνεια των λιποκυττάρων με την κατατμημένη περιοχή του ιστού και σύμφωνα με τον τύπο της Εξ.3.15, η διαφορά μεταξύ των δύο εκτιμήσεων αντικατοπτρίζει το διαγνωστικό σφάλμα της μεθόδου κατάτμησης λίπους για κάθε εικόνα βιοψίας.

Πίνακας 3.2: Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου κατάτμησης εικόνας

Εικόνα Ελέγχου (20×)		F_{Segm} (%)	F_{Doc} (%)	S_{err} (%)
1	120216-Head	1,96	1,84	0,12
2	120216-Tail	1,81	1,49	0,31
3	120485-Tail	2,18	1,90	0,29
4	120495-Body	2,63	1,73	0,90
5	120495-Head	1,83	1,95	0,12
6	121543-Body	6,06	5,23	0,83
7	121543-Head	6,76	5,95	0,81
8	122020-Body	0,61	0,40	0,21
9	122020-Head	1,22	0,65	0,58
10	122020-Tail	1,59	0,55	1,04
11	122088-Body	0,53	0,42	0,11
12	122088-Tail	1,44	0,78	0,66
13	122288-Body	1,83	1,38	0,44
14	122288-Tail	1,07	0,53	0,54
15	122662-Body	0,39	0,07	0,32
16	122662-Tail	1,02	0,33	0,69
17	123538-Head	3,76	2,72	1,04
18	123883-Tail	3,06	2,60	0,46
19	123948-Tail	2,09	1,56	0,53
20	HP-0937	2,59	2,39	0,20
Μέση τιμή:		2,22	1,72	0,51
Τυπική απόκλιση:		-	-	0,30

Συνολικά, η μέθοδος κατάτμησης εικόνας παρουσιάζει μέση τιμή ποσοτικοποίησης λίπους 2,22% σε σύγκριση με το 1,72% των εμπειρογνομόνων ιατρών, με τα ποσοστά στρογγυλοποιημένα για την αναπαράστασή τους σε δύο δεκαδικά ψηφία. Κατά συνέπεια, το μέσο απόλυτο σφάλμα της μεθόδου καθίσταται ίσο με 0,51% με τυπική απόκλιση σφαλμάτων 0,3%. Χαρακτηριστικό παράδειγμα υπερεκτίμησης του βαθμού στεάτωσης αποτελεί το ιστολογικό

δείγμα “121543-Body” της Εικόνας 3.13, όπου η συμπερίληψη ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων λίπους οδηγεί σε συνολικό ποσοστό στεάτωσης 6,06% για τον ασθενή NAFPD, εμφανώς υψηλότερο από το 5,23% της οπτικής εκτίμησης των ιατρών.

3.3 Μελέτη Εντοπισμού Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στους Νεφρούς

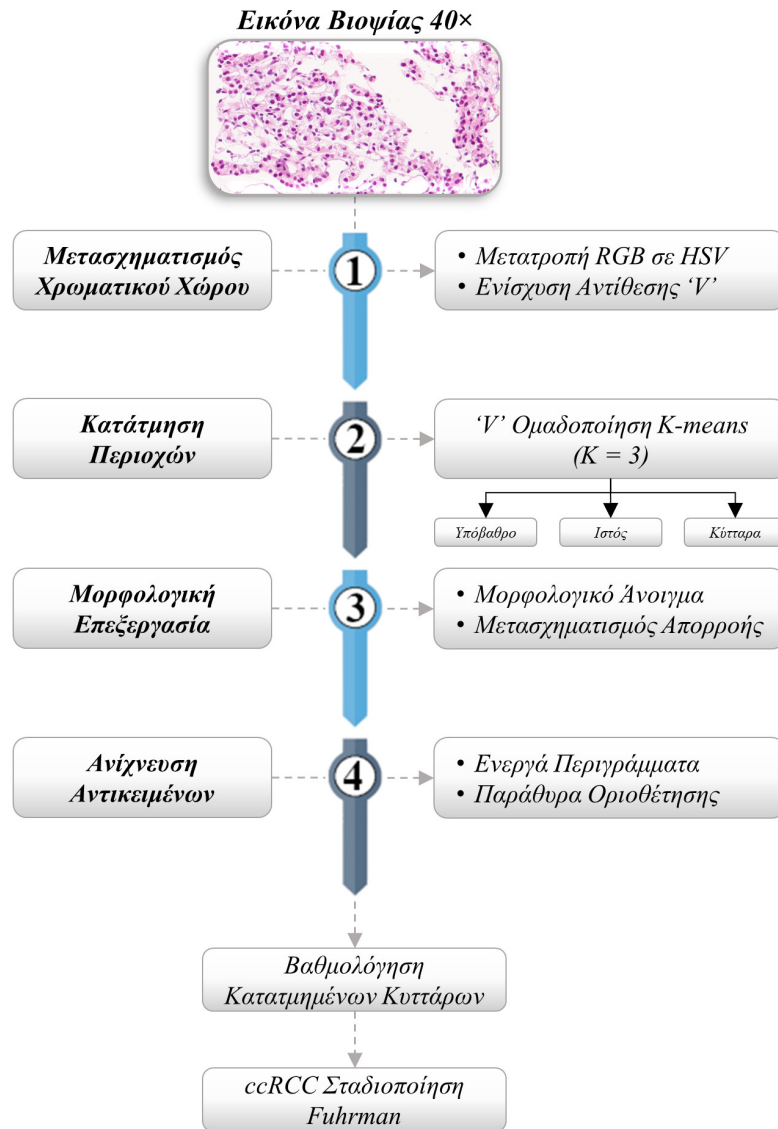
Το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (Renal Cell Carcinoma - RCC) διαγιγνώσκεται συνήθως με τη χρήση κλασικών ιατρικών απεικονιστικών μεθόδων, όπως το υπερηχογράφημα (Ultrasound - US), η υπολογιστική τομογραφία (computed tomography - CT) και η μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging - MRI). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν προταθεί πιο έγκυρα συστήματα για τη διαφοροποίηση των νεφρικών κακοηθειών με μεγαλύτερη έμφαση στην ανάλυση της πυρηνικής μορφολογίας των κυττάρων με τη χρήση δειγμάτων βελόνας βιοψίας (βλ. Ενότητα 2.1.3). Αν και η μέθοδος αυτή είναι επεμβατική για τον ασθενή, έχει καθιερωθεί ως το χρυσό πρότυπο για την ακριβή διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων μαζών μέσω της κατάταξης του όγκου σε μια διαβαθμούμενη κλίμακα.

Η παρούσα εργασία [7] επικεντρώνεται στην ανίχνευση κυτταρικών ανωμαλιών που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (clear cell Renal Cell Carcinoma - ccRCC). Συγκεκριμένα αποτελεί μέρος μιας μεθοδολογίας όπου, στο αρχικό της στάδιο, εφαρμόζονται κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας για την κατάτμηση των ογκολογικών δομών ενδιαφέροντος σε ιστολογικές τομές που προέρχονται από WSIs στη βάση δεδομένων βιοψίας νεφρού (βλ. Ενότητα 2.2.3). Στην Εικόνα 3.14 παρατίθεται το διάγραμμα ροής της προτεινόμενης διαδικασίας για την ανίχνευση των καρκινικών κυττάρων, η οποία προηγείται της ταξινόμησής τους σύμφωνα με την κλίμακα Fuhrman και την εξακρίβωση του επικρατούντος βαθμού κακοήθειας στα ιστολογικά τμήματα.

3.3.1 Υλικά και μέθοδοι

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Η προτεινόμενη αυτοματοποιημένη μέθοδος ελέγχεται σε 31 ιστολογικά δείγματα νεφρών από ανθρώπινους δότες. Πρόκειται για περιπτώσεις με ημιποσοτική διάγνωση διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (ccRCC) σταδίου 1 έως 3 κατά Fuhrman, δεδομένου ότι δεν υπήρχε ασθενής με διάγνωση Fuhrman 4 κατά τη περίοδο της συλλογής των δειγμάτων. Για τη διάγνωση των δειγμάτων βιοψίας χρησιμοποιήθηκε η χρώση H&E, καθώς έχει καταστεί το χρυσό πρότυπο για τον ιστολογικό προσδιορισμό των υποτύπων του RCC τα τελευταία χρόνια. Μετά τη χρώση των ιστών, τα πλακίδια βιοψίας ψηφιοποιήθηκαν με τον μικροσκοπικό σαρωτή Hamamatsu NanoZoomer S210 με μεγέθυνση αντικειμενικού φακού 40×,



Εικόνα 3.14. Διάγραμμα ροής της μεθόδου κατάτμησης περιοχών νεφροκυτταρικού καρκινώματος. Ο χρωματικός χώρος RGB της εικόνας εισόδου μετατρέπεται πρώτα σε HSV. Απομονώνεται το κανάλι *V*, στις τιμές του οποίου πραγματοποιείται τεμαχισμός για να αυξηθεί η αντίθεση και να διευκολυνθεί η κατάτμηση. Στη συνέχεια εφαρμόζεται ο αλγόριθμος ομαδοποίησης K-means για τη δυαδικοποίηση της ενισχυμένης εικόνας *V* και την εξαγωγή των καρκινικών σχηματισμών από τον περιβάλλοντα ιστό. Για την απαλοιφή των ιστολογικών τεχνουργημάτων, εκτελείται μορφολογικό άνοιγμα, ακολουθούμενο από τον μετασχηματισμό απορροής για τον διαχωρισμό των επικαλυπτόμενων κυκλικών κυττάρων. Η ανίχνευση των κακοήθων δομών με ενεργά περιγράμματα οδηγεί στον προσδιορισμό του παραθύρου οριοθέτησης με σκοπό τη ccRCC βαθμολόγησή τους κατά Fuhrman σε μεταγενέστερο στάδιο της μεθόδου.

παράγοντας εντέλει WSIs με μέγεθος που υπερβαίνει τα 10.000×10.000 εικονοστοιχεία. Για κάθε μία από τις WSIs ($n = 31$), εξήχθησαν πολλαπλές τομές της περιοχής του ιστού με χωρική ανάλυση 1920×1080 εικονοστοιχεία, ώστε να αυξηθεί το μέγεθος του συνόλου δεδομένων προς δοκιμή της αυτοματοποιημένης προσέγγισης σταδιοποίησης του ccRCC. Από τη διαδικασία εξαγωγής διατίθενται συνολικά 105 ιστολογικές εικόνες σε μορφή JPG.

Προεξεργασία ιστολογικής εικόνας

Κάθε ιστολογική τομή φορτώνεται στη μέθοδο ανάλυσης εικόνας ως τρισδιάστατος πίνακας ακέραιων τιμών 8-bit (0 - 255) για κάθε κανάλι RGB (Εικόνα 3.15α). Για τον αποτελεσματικότερο προσδιορισμό των εξωτερικών ορίων των κυκλικών καρκινικών σχηματισμών, προτιμάται η μετατροπή του χρωματικού χώρου RGB στον αντίστοιχο HSV (Hue = απόχρωση, Saturation = κορεσμός, Value = αξία). Αυτή η μετατροπή καταργεί τη συσχέτιση μεταξύ των συνιστωσών έντασης και χρώματος στο τμήμα H&E, παρέχοντας ανεξάρτητο έλεγχο των τιμών απόχρωσης, κορεσμού και έντασης των εικονοστοιχείων [107]. Στη συνέχεια απομονώνεται το κανάλι της αξίας (V), καθώς παρουσιάζει σαφέστερο διαχωρισμό των σκούρων κυτταρικών δομών από τον ιστό τους σε σύγκριση με τα κανάλια απόχρωσης και κορεσμού (Εικόνα 3.15β) ή την παραδοσιακή μετατροπή του χρωματικού χώρου RGB σε κλίμακα του γκρι.

Στη συνέχεια, εφαρμόζεται κορεσμός στο κατώτερο και ανώτερο 1% όλων των τιμών εικονοστοιχείων του καναλιού V για να αυξηθεί η αντίθεση στις εντάσεις του γκρι. Αυτό γίνεται με τον υπολογισμό της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης των τιμών των εικονοστοιχείων στο κανάλι V και με βάση αυτό με την εφαρμογή μιας συνάρτησης τεμαχισμού (clipping) για την προσαρμογή της ανώτερης και κατώτερης τυπικής απόκλισης αυτών των τιμών. Η συνάρτηση αυτή ορίζεται ως εξής:

$$V_{\text{enhanced}} = \begin{cases} v_{ij}, & \mu - \text{offset} \times \sigma^2 \leq v_{ij} \leq \mu + \text{offset} \times \sigma^2 \\ 0, & v_{ij} < \mu - \text{offset} \times \sigma^2 \\ 1, & v_{ij} > \mu + \text{offset} \times \sigma^2 \end{cases}, \forall \in \{0, 1\} \quad (3.20)$$

όπου v_{ij} είναι η τιμή του εικονοστοιχείου στο αρχικό κανάλι V του χώρου HSV της εικόνας, το 'offset' κυμαίνεται μεταξύ 0 και 1 και αντιπροσωπεύει την παράμετρο ελέγχου της απόστασης τεμαχισμού μεταξύ του κέντρου $\mu = \frac{1}{M \times N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M v_{ij}$, ως η μέση τιμή των εντάσεων στο κανάλι V και του κατώτερου σημείου $\sigma^2 = \frac{1}{M \times N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M (v_{ij}^2 - \mu^2)$, ως η τυπική τους απόκλιση.

Χάρη σε αυτή την τεχνική ενίσχυσης, τα εξωτερικά όρια κάθε κυττάρου γίνονται πιο ευδιάκριτα στη νέα εικόνα V_{enhanced} (Εικόνα 3.15γ). Οι ακμές των σκούρων κυκλικών αντικειμένων ενισχύονται περαιτέρω με την εφαρμογή Γκαουσιανής θόλωσης με πυρήνα 3×3 και τιμή σίγμα (sigma) 0, χωρίς να παραμορφώνονται οι υπόλοιπες ανατομικές δομές. Το συγκεκριμένο φίλτρο προτιμάται για τη γεφύρωση των από-γραμμή-σε-γραμμή ασυνεχειών στα εξωτερικά όρια ορισμένων δομών ccRCC, ως αποτέλεσμα της ετερογένειας που σχετίζεται με τη χρώση εντός των κυτταρικών χαρακτηριστικών.

Μετά την ενίσχυση της εικόνας, εφαρμόζεται ο αλγόριθμος ομαδοποίησης K-means για τη μετατροπή της σε δυαδική και την επισήμανση των κακοήθων αντικειμένων ενδιαφέροντος. Ο K-means [112] έχει αποδειχθεί ως μια αποτελεσματική τεχνική για την κατάτμηση ιστοπαθολογικών εικόνων, λαμβάνοντας υπόψη μόνο τις χρωματικές τιμές των εικονοστοιχείων ως χαρακτηριστικά. Κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος, ο K-means διαχωρίζει τα ενισχυμένα εικονοστοιχεία σε τρεις συστάδες ($K = 3$), με αποτέλεσμα την εξαγωγή μιας κατατμημένης εικόνας κλίμακας του γκρι τριών χρωμάτων: 1) χαλαρός συνδετικός ιστός (λευκό), 2) ιστολογικό τμήμα (γκρι) και 3) κακοήθη αντικείμενα ενδιαφέροντος (μαύρο) (Εικόνα 3.15γ). Η κατάτμηση των εικονοστοιχείων πραγματοποιείται σε κάθε επανάληψη ($n = 100$) του αλγόριθμου σύμφωνα με το κριτήριο ελάχιστου τετραγωνικού σφάλματος, το οποίο εκφράζεται ως εξής:

$$Err^2 = \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{N_r} \sum_{j=1}^{N_c} (I_{ijk} - C_k)^2 \quad (3.21)$$

όπου τα N_r και N_c υποδηλώνουν τον αριθμό των γραμμών και των στηλών της εικόνας, αντίστοιχα, ενώ το I_{ij} αντιπροσωπεύει το διάνυσμα χαρακτηριστικών του τρέχοντος εικονοστοιχείου, το οποίο το οποίο ισούται με την τιμή της έντασής του.

Βάσει της παραπάνω Εξ.3.21, ο υπολογισμός του κέντρου κάθε συστάδας προκύπτει από τον ακόλουθο τύπο:

$$C_k = \left(\frac{1}{N_r \times N_c} \right) \sum_{i=1}^{N_r} \sum_{j=1}^{N_c} I_{ijk}, \quad k = 1, \dots, 3 \quad (3.22)$$

με το κέντρο C_k να ενημερώνεται σε κάθε επανάληψη του K-means μέχρι τη σύγκλισή του. Κατά τη διάρκεια κάθε επανάληψης, οι εντάσεις των εικονοστοιχείων από το προηγούμενο βήμα λαμβάνονται υπόψη για τον υπολογισμό της νέας κατάτμησης και η μετρική της Ευκλείδειας απόστασης χρησιμοποιείται εξ ορισμού για τον καθορισμό της απόστασης μεταξύ των σημείων δεδομένων στις συστάδες.

Εν προκειμένω, τα τρία αντικείμενα προσδιορίζονται με βάση τα πιο απομακρυσμένα σημεία δεδομένων κάθε συστάδας και το κέντρο της συστάδας τους ως τον αριθμητικό μέσο όρο τους. Ως τελικό βήμα, λαμβάνεται υπόψη μόνο η μικρότερη τιμή από τα κέντρα των συστάδων, η οποία αντιπροσωπεύει τα εικονοστοιχεία χαμηλότερης έντασης της γκριζας εικόνας K-means που σχηματίζουν τις κακοήθεις δομές. Στη συνέχεια, κάθε ιστολογική εικόνα μετατρέπεται σε δυαδική, με τις τιμές εικονοστοιχείων που είναι μεγαλύτερες της ελάχιστης τιμής του κέντρου συστάδας να μετατρέπονται σε μαύρες (λογικό '0') και οι υπόλοιπες σε λευκές (λογικό '1') (Εικόνα 3.15δ).

Κατάτμηση αντικειμένων ενδιαφέροντος

Δεδομένου ότι η εικόνα κατωφλίωσης δεν μπορεί να οδηγήσει σε κατάλληλα αποτελέσματα κατάτμησης λόγω της συμπερίληψης διαφόρων ιστολογικών τεχνουργημάτων, τα εξωτερικά όρια των λευκών περιοχών ορίζονται μέσω μοντέλων ενεργού περιγράμματος, εντός των οποίων εφαρμόζεται μια εντολή πλημμύρισης για την πλήρωση των μικρών οπών με λευκά εικονοστοιχεία.

Όλα τα δυαδικά αντικείμενα υποβάλλονται μετέπειτα σε μορφολογική επεξεργασία για την εξάλειψη τυχόν τεχνουργημάτων από τη φάση σταδιοποίησης Fuhrman ccRCC για κάθε εικόνα 40x. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω του μορφολογικού τελεστή ανοίγματος, ο οποίος, όπως προαναφέρθηκε, ενσωματώνει τους τελεστές συστολής και διαστολής. Ως δομικό στοιχείο ορίζεται μια ελλειπτική μάσκα με τιμή διαμέτρου 10 εικονοστοιχείων στους άξονες x και y της έλλειψης, ενώ η μορφολογική διαδικασία εκτελείται για μία επανάληψη, ώστε να αποφευχθεί η διόγκωση των αντικειμένων και να συγκλίνει η διαδικασία κατάτμησης στις πραγματικές τους ακμές. Κατά συνέπεια, οι μικροσκοπικές κηλίδες και οι γραμμές με πάχος μικρότερο από αυτό της διαμέτρου του δομικού στοιχείου αφαιρούνται με τον τελεστή συστολής, όπου υποδηλώνουν αποτρίμματα ιστού και ινώδη συνδετικό ιστό αντίστοιχα. Αντίθετα, ο τελεστής διαστολής καλείται να γεμίσει τυχόν οπές και ρωγμές που διέφυγαν από την πλημμύρα, καθώς και να εξομαλύνει τις ακμές κάθε φιλτραρισμένης δομής ccRCC (Εικόνα 3.15δ).

Για τον διαχωρισμό των επικαλυπτόμενων κυττάρων στη μορφολογική εικόνα που παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.15δ, χρησιμοποιείται ο μετασχηματισμός λεκάνης απορροής ελεγχόμενος από δείκτη (marker-controlled watershed transform). Στόχος είναι να προσδιοριστούν τα φράγματα που καθορίζουν τα όρια μεταξύ των επικαλυπτόμενων καρκινικών κυττάρων και να δημιουργηθούν ξεχωριστές λευκές περιοχές για κάθε κύτταρο.

Για την κατάτμηση των περιοχών ενδιαφέροντος με τη χρήση του αλγορίθμου λεκάνης απορροής, ορίζονται πρώτα τα σύνολα M_1, M_2, \dots, M_R , τα οποία αντιπροσωπεύουν τις συνεταγμένες των σημείων στα ελάχιστα των περιοχών της δυαδικής εικόνας, τα οποία συνήθως εντοπίζονται σε μια εικόνα κλίσης (gradient). Η λεκάνη απορροής που σχετίζεται με κάθε ελάχιστο μιας περιοχής M_i θα συμβολίζεται με το σύνολο $C(M_i)$ [107]. Ωστόσο, η χρήση μόνο των τοπικών ελαχίστων ως δεικτών μπορεί να οδηγήσει σε υπερκατάτμηση της εικόνας, όπου οι περιοχές χωρίζονται σε αντίστοιχες μικρότερες που δεν αντιπροσωπεύουν τα εξεταζόμενα αντικείμενα. Για να αντιμετωπιστεί αυτό, οι δείκτες αυτοί ενσωματώνονται στη διαδικασία κατάτμησης με υψηλότερη προτεραιότητα από τα τοπικά ελάχιστα. Αυτή η ιεράρχηση εξασφαλίζει ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των ορίων κατάτμησης, ακόμη και σε περιπτώσεις όπου τα τοπικά ελάχιστα δεν είναι σαφώς καθορισμένα.

Η διαδικασία ξεκινά με τη δήλωση μιας δυαδικής εικόνας T , όπου τα μαύρα εικονοστοιχεία υποδηλώνουν το φόντο και τα λευκά το προσκήνιο και μιας εικόνας δείκτη M που εξασφαλίζει ότι η κατάτμηση θα περιορίζεται από τους δείκτες (markers) για την αποφυγή της υπερκατάτμησης. Ο αλγόριθμος λεκάνης απορροής υπολογίζει μια σειρά δυαδικών εικόνων C_n που υποδεικνύουν τις περιοχές που πλημμυρίζουν σε κάθε ακέραιο βήμα n , από $n = 1$ έως $n =$ τη μέγιστη τιμή έντασης στη δυαδική εικόνα (1 στην προκειμένη περίπτωση). Για την εξαγωγή των C_n , ο αλγόριθμος προσδιορίζει τον αριθμό των σημείων κάτω από το βάθος πλημμύρας, λαμβάνοντας τη σύζευξη (intersection) μεταξύ της εικόνας δείκτη M και της δυαδικής εικόνας T χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$C_n(M_i) = C(M_i) \cap T \quad (3.23)$$

όπου $C_n(M_i)$ είναι η δυαδική εικόνα στο επίπεδο πλημμύρας n για τον δείκτη i , $C(M_i)$ η συνδεδεμένη συνιστώσα που αντιστοιχεί στον δείκτη i και \cap ο λογικός τελεστής σύζευξης. Η προκύπτουσα δυαδική εικόνα C_n υποδεικνύει την πλημμυρισμένη περιοχή στο τρέχον επίπεδο πλημμύρας για κάθε δείκτη και χρησιμοποιείται για τον καθορισμό των ορίων μεταξύ των περιοχών στην τελική κατάτμηση.

Συνεχίζοντας, έστω $C(M_i)$ το σύνολο των συντεταγμένων για τα σημεία της λεκάνης απορροής που σχετίζονται με το ελάχιστο M_i , τα οποία πλημμυρίζουν στο στάδιο n της πλημμύρας. Με άλλα λόγια, εάν το (x, y) βρίσκεται τόσο στο $C(M_i)$ όσο και στο T , τότε $C_n(M_i) = 1$ στη θέση (x, y) , διαφορετικά $C_n(M_i) = 0$. Από γεωμετρική άποψη, κατά τη διάρκεια του σταδίου n , ο τελεστής AND χρησιμοποιείται για να απομονώσει το τμήμα της δυαδικής εικόνας στο T που συνδέεται με το τοπικό ελάχιστο M_i . Επιπρόσθετα, έστω B ο συνολικός αριθμός των πλημμυρισμένων λεκανών απορροής και $C[n]$ η ένωση αυτών των λεκανών κατά το στάδιο n της πλημμύρας, που ορίζεται ως:

$$C[n] = \bigcup_{i=1}^B C_n(M_i) \quad (3.24)$$

Τότε το $C[\max + 1]$ θα αποτελεί την ένωση όλων των λεκανών απορροής, ως εξής:

$$C[\max + 1] = \bigcup_{i=1}^B C(M_i) \quad (3.25)$$

Με βάση τα παραπάνω, αποδεικνύεται ότι τα στοιχεία στα σύνολα $C_n(M_i)$ και T δεν αντικαθίστανται ποτέ κατά την εκτέλεση του αλγορίθμου και ο αριθμός των στοιχείων σε αυτά τα δύο σύνολα είτε αυξάνεται είτε παραμένει ο ίδιος καθώς αυξάνεται το n . Επομένως, το $C[n - 1]$ είναι υποσύνολο του $C[n]$, ενώ σύμφωνα με τις Εξ.3.24 και Εξ.3.25, το $C[n]$

είναι υποσύνολο του T , οπότε προκύπτει ότι το $C[n - 1]$ είναι επίσης υποσύνολο του T . Έτσι, κάθε συνδεδεμένη συνιστώσα του $C[n - 1]$ περιέχεται σε ακριβώς μία συνδεδεμένη συνιστώσα του T .

Για την εύρεση των υδροκριτών γραμμών, ο αλγόριθμος ξεκινά με την αρχικοποίηση του $C[\text{min} + 1] = T + M$. Στη συνέχεια, το $C[n]$ υπολογίζεται αναδρομικά από το σύνολο $C[n - 1]$ με την εύρεση του συνόλου Q των συνδεδεμένων συνιστωσών στο σύνολο $T[n]$. Ακολούθως, ο αλγόριθμος ελέγχει αν μια συνδεδεμένη συνιστώσα $q \in Q[n]$ τέμνει μια συνδεδεμένη συνιστώσα του $C[n - 1]$ εξετάζοντας τις ακόλουθες τρεις πιθανότητες:

1. Το σύνολο $q \cap C[n - 1]$ είναι κενό
2. Το σύνολο $q \cap C[n - 1]$ περιέχει μόνο μία συνδεδεμένη συνιστώσα του $C[n - 1]$
3. Το σύνολο $q \cap C[n - 1]$ περιέχει περισσότερες από μία συνδεδεμένες συνιστώσες του $C[n - 1]$.

Συμπερασματικά, η κατασκευή του συνόλου $C[n]$ από το $C[n - 1]$ εξαρτάται από το ποια από τις παραπάνω συνθήκες ισχύει. Εάν το q ικανοποιεί τη συνθήκη 1 όπου συναντάται ένα νέο ελάχιστο ή τη συνθήκη 2 όπου το q βρίσκεται εντός της λεκάνης απορροής κάποιου τοπικού ελαχίστου, ενσωματώνεται στο σύνολο $C[n - 1]$ για να σχηματιστεί το σύνολο $C[n]$. Εάν το q ικανοποιεί τη συνθήκη 3, όπου όταν συναντάται ολόκληρη (ή μέρος) μιας κορυφογραμμής που χωρίζει δύο ή περισσότερες λεκάνες απορροής, ένα ή πολλά φράγματα θα πρέπει να κατασκευαστούν εντός του q για να αποφευχθεί η υπερχειλίση μεταξύ των λεκανών απορροής.

Στο πλαίσιο της μεθόδου κατάτμησης κυττάρων ccRCC, ένα κατώφλι απόστασης μεταξύ των τοπικών μεγίστων ορίζεται ως δείκτης για να διασφαλιστεί ότι αυτά διαχωρίζονται από μια ελάχιστη απόσταση (`min_distance`) ώστε να αποφευχθεί η υπερκατάτμηση. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται μια Ευκλείδεια απόσταση ($2 * \text{min_distance} + 1$) μεταξύ των τοπικών κορυφών/μέγιστων, όπου η '`min_distance`' ορίζεται ίση με 7. Αυτό σημαίνει ότι οι κορυφές των μορφολογικά φιλτραρισμένων αντικειμένων θα απέχουν μεταξύ τους μια Ευκλείδεια απόσταση τουλάχιστον 7. Χάρη σε αυτή την προσέγγιση, τα κύτταρα στη μικροσκοπική εικόνα μπορούν να κατατμηθούν και να διαχωριστούν πιο αποτελεσματικά, επιτρέποντας μια πιο ακριβή ανάλυση της μορφολογίας και του μεγέθους τους (Εικόνα 3.15δ).

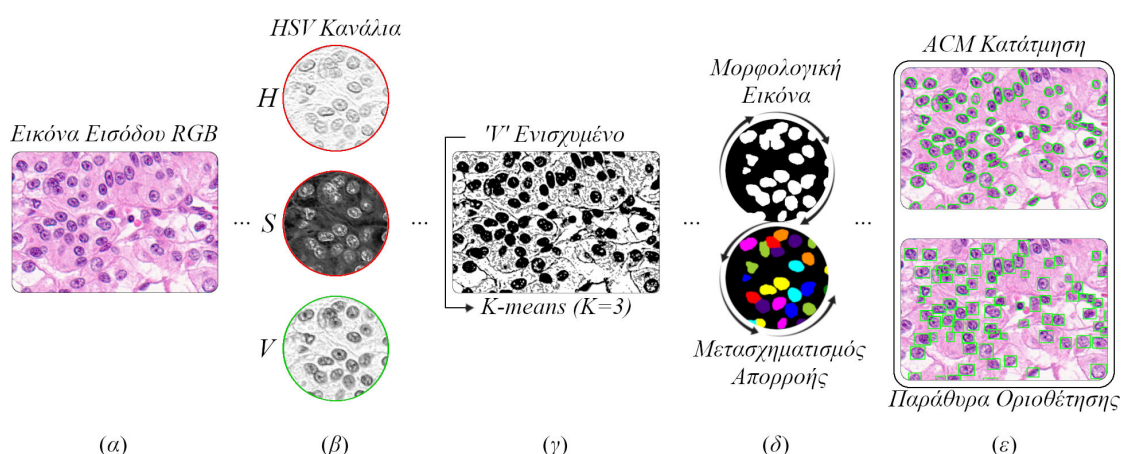
Κατόπιν, πραγματοποιείται μια μετα-ανάλυση για να συμπεριληφθούν μόνο κατατμημένα αντικείμενα με $200 < \text{εμβαδόν} < 2000$ και εκκεντρότητα $< 0,95$, προκειμένου να απορριφθούν πολύ μικρές, μεγάλες και μη-κυκλικές ανατομικές δομές που δεν αποτελούν αντικείμενα όγκου ccRCC. Το στάδιο προεπεξεργασίας και κατάτμησης εικόνας ολοκληρώνεται με την εκ νέου εφαρμογή των μοντέλων ενεργού περιγράμματος στις ακμές των φιλτραρισμένων περιοχών ενδιαφέροντος (Εικόνα 3.15ε).

3.3.2 Αποτελέσματα

Οπτικοποίηση μεθόδου κατάτμησης εικόνας

Το τελικό αποτέλεσμα κατάτμησης των ROIs λαμβάνει χώρα στην αρχική εικόνα βιοψίας RGB (Εικόνα 3.15ε) και με πράσινο χρώμα για κάθε μοντέλο ενεργού περιγράμματος (ACM). Η απεικόνιση δείχνει ικανοποιητικά αποτελέσματα ανίχνευσης, καθώς τα περιγράμματα έχουν συγκλίνει στα όρια των περισσότερων καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, η κατάτμηση των κυτταρικών δομών από μόνη της δεν μπορεί να παρέχει μια πλήρη εικόνα του σταδίου κακοήθειας του ασθενούς.

Σε αυτό το σημείο είναι απαραίτητη η εκπαίδευση εποπτευόμενων αλγορίθμων μηχανικής και βαθιάς μάθησης σε ένα επισημειωμένο σύνολο δεδομένων. Αυτοί οι αλγόριθμοι μπορούν στη συνέχεια να προβούν στο διαχωρισμό των αντικειμένων κατάτμησης σε διαφορετικές κλάσεις ανάλογα με τον βαθμό κακοήθειάς τους, επιτρέποντας την ακριβή σταδιοποίηση κάθε ιστολογικού δείγματος 40× σε μια κλίμακα ccRCC, όπως η κλίμακα Fuhrman.



Εικόνα 3.15. Τεχνικές επεξεργασίας εικόνας για την κατάτμηση καρκινικών κυττάρων σε ιστολογικές τομές ccRCC. Η εικόνα εισόδου RGB (α) μετατρέπεται πρώτα σε HSV (β). Ο τεμαχισμός των τιμών των εικονοστοιχείων οδηγεί σε ενίσχυση της αντίθεσης για το κανάλι V, ακολουθούμενος από τον αλγόριθμο K-means για την εξαγωγή των σκούρων καρκινικών δομών από τον ιστό τους (γ). Ο διαχωρισμός των επικαλυπτόμενων κυκλικών αντικειμένων επιτυγχάνεται συνδυάζοντας τον μορφολογικό τελεστή ανοίγματος με το μετασχηματισμό λεκάνης απορροής (δ). Τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος καλούνται για τον προσδιορισμό των εξωτερικών ορίων των κατατμημένων κυττάρων και για τον υπολογισμό του παραθύρου οριοθέτησης (ε) για την επακόλουθη βαθμολόγηση κατά Fuhrman μέσω ενός υβριδικού μοντέλου ταξινόμησης.

Κεφάλαιο 4

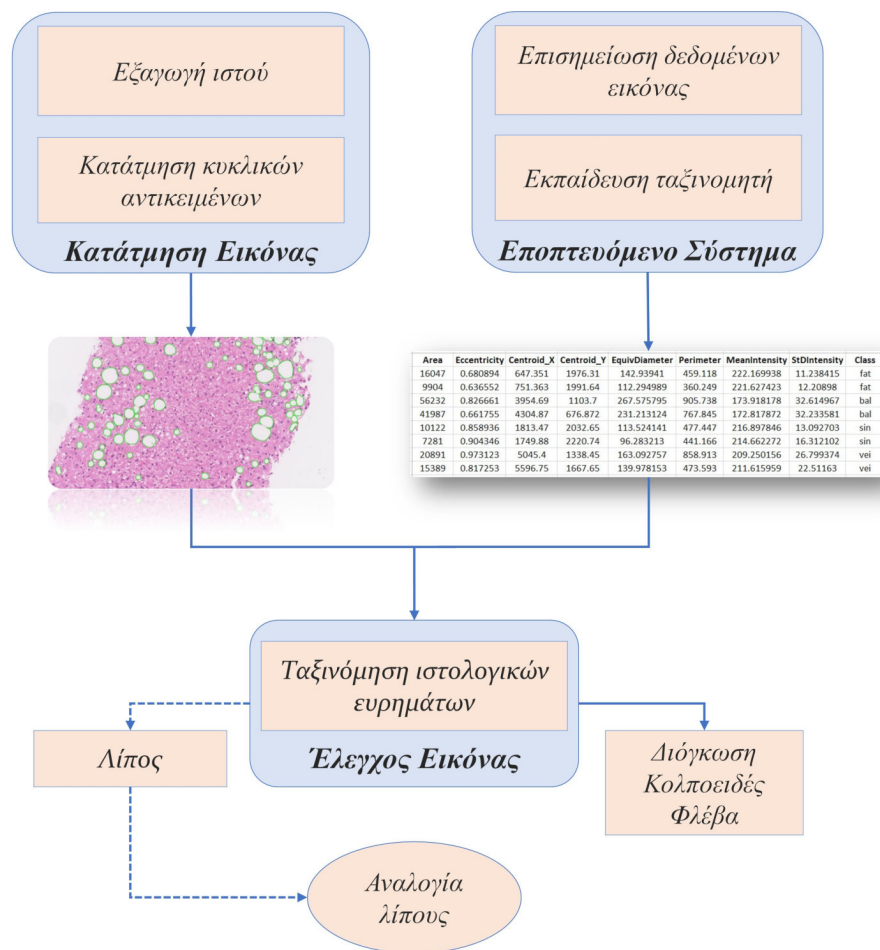
Μεθοδολογίες Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται ερευνητικές εργασίες με στόχο τη διάκριση μεταξύ ασθενικών και υγιών ιστολογικών δομών στις βάσεις δεδομένων του ήπατος και του παγκρέατος. Στις εν λόγω μελέτες, χρησιμοποιούνται συμβατικοί αλγόριθμοι μηχανικής μάθησης και μοντέλα συνελικτικών νευρωνικών δικτύων, τα ευρήματα των οποίων έχουν δημοσιευτεί στα πρακτικά τριών διεθνών συνεδρίων και σε τρία έγκριτα επιστημονικά περιοδικά. Μεταξύ αυτών των εργασιών, οι ακόλουθες ενότητες παρέχουν επίσης μια ανάλυση των σταδίων εποπτευόμενης μηχανικής και βαθιάς μάθησης που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση των κατατμημένων περιοχών του ήπατος και του παγκρέατος στις Ενότητες 3.1 και 3.2, αντίστοιχα. Στόχος αυτής της ανάλυσης είναι η μείωση των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ανίχνευσης και των διαγνωστικών σφαλμάτων για κάθε ιστολογική πάθηση.

4.1 Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ με Τεχνικές Εξελικτικής Βελτιστοποίησης

Η τρέχουσα μεθοδολογία [4] αποτελεί επέκταση του σταδίου κατάτμησης σε εικόνες βιοψίας ήπατος που περιγράφεται στην Ενότητα 3.1. Επικεντρώνεται στην επίλυση ενός προβλήματος ταυτοποίησης τεσσάρων ιστολογικών κλάσεων μέσω αλγορίθμων μηχανικής μάθησης με επίβλεψη για τη διάκριση των αληθώς θετικών λιποκυττάρων στα αντικείμενα κατάτμησης και τον αποκλεισμό λοιπών υγιών και παθολογικών ευρημάτων από τους υπολογισμούς επιπολασμού της ηπατικής στεάτωσης. Για την κατασκευή ενός ακριβούς μοντέλου ταξινόμησης, εφαρμόζεται μια εξελικτική μέθοδος βελτιστοποίησης που βασίζεται στη Γραμμική Εξέλιξη για την αντικειμενική ποσοτικοποίηση της συσσώρευσης λίπους σε ασθενείς με



Εικόνα 4.1. Διάγραμμα ροής της αυτοματοποιημένης διαγνωστικής μεθόδου, η οποία αποτελείται από τεχνικές κατάτμησης εικόνας και ταξινόμησης για τον εντοπισμό πολλαπλών αντικειμένων στον ηπατικό ιστό. Το τελικό βήμα ταξινόμησης οδηγεί στον υπολογισμό της αναλογίας λίπους σε εικόνες ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) ήπατος.

μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD). Το διάγραμμα ροής της Εικόνας 4.1 συνοψίζει τη διαδικασία που ακολουθείται για τον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση του ηπατικού λίπους.

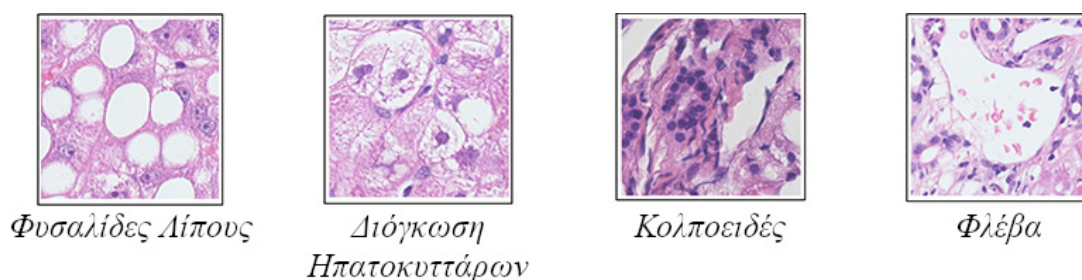
4.1.1 Υλικά και μέθοδοι

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Όπως αναφέρθηκε στην Ενότητα 2.2.1, η μέθοδος εφαρμόζεται σε δύο υποσύνολα που αποτελούν τη βάση δεδομένων βιοψιών ήπατος. Συγκεκριμένα, ένα υποσύνολο 13 εικόνων βιοψίας με συντελεστή μεγέθυνσης 40× από ασθενείς με μη-αλκοολική στεατοηπατίτιδα (Non-Alcoholic Steatohepatitis - NASH) χρησιμοποιείται για την εκπαίδευση αλγόριθμων ταξινόμησης ενόψει της εφαρμογής τους στο τελικό στάδιο ποσοτικοποίησης λίπους, όπου δοκιμάζεται σε 28 εικόνες ελέγχου με στεάτωση NAFLD και με χαμηλότερη μεγέθυνση 20×. Ως υπενθύμιση, της παρούσας μεθόδου προηγείται η κατάτμηση των υποψήφιων-πιθανών δομών στεάτωσης στο υποσύνολο 20× βάσει μιας σειράς μορφολογικών κριτηρίων και χαρακτηριστικών έντασης. Στις επόμενες παραγράφους της μελέτης περιγράφεται λεπτομερώς η διαδικασία διαχωρισμού των σταγονιδίων λίπους από άλλες ιστολογικές ανατομικές δομές με σκοπό την ακριβέστερη μέτρηση της σοβαρότητας της στεάτωσης.

Επισημείωση ιστοπαθολογικών εικόνων

Η διαδικασία εκπαίδευσης του αλγορίθμου ταξινόμησης περιλαμβάνει τον υπολογισμό ενός συνόλου χαρακτηριστικών για τέσσερις ιστολογικές δομές, όπως αυτές αναγνωρίζονται από ειδικούς ηπατολόγους στις 13 εικόνες βιοψίας 40×: οι φυσαλίδες λίπους, οι οποίες αντιπροσωπεύουν το πρωταρχικό εύρημα της στεάτωσης NAFLD και τα διογκωμένα ηπατοκύτταρα, καθώς επίσης τα κολποειδή και οι ηπατικές φλέβες, οι οποίες περιστασιακά φέρουν μορφολογικές και σχηματικές ομοιότητες με τις κυκλικές λιπώδεις δομές (Εικόνα 4.2), οδηγώντας σε εσφαλμένες κατατμήσεις κατά το στάδιο της προεπεξεργασίας εικόνας. Κάθε εικόνα στο σύνολο δεδομένων περιέχει εκατοντάδες περιοχές ενδιαφέροντος, παρέχοντας έτσι άφθονους



Εικόνα 4.2. Ταυτοποίηση ιστολογικών δομών και ηπατικών αλλοιώσεων, οι οποίες είναι οι: α) σταγονίδια λίπους (fat droplets), β) διογκώσεις ηπατοκυττάρων (hepatocellular ballooning), γ) κολποειδή (sinusoid) και δ) φλέβες (veins).

πόρους για τη δημιουργία ενός κατάλληλου συνόλου εκπαίδευσης. Αυτό το σύνολο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό των λιποκυττάρων από τις άλλες ηπατικές δομές και την ακριβέστερη ποσοτικοποίηση της στεάτωσης.

Στην Εικόνα 4.3α, απεικονίζεται η επισημείωση των τεσσάρων αντικειμένων ηπατικής κλάσης μέσω του λογισμικού NDP.view2 της Hamamatsu, με διαφορετικά χρώματα περιγράμματος: κόκκινο για τις φυσαλίδες λίπους, κίτρινο για τα διογκωμένα ηπατοκύτταρα, πράσινο για τα κολποειδή και μπλε για τις ηπατικές φλέβες. Το λογισμικό εξάγει τις επισημειωμένες περιοχές σε ένα αρχείο XML, συμπεριλαμβανομένων των 2D καρτεσιανών συντεταγμένων (x, y) της θέσης κάθε αντικειμένου στην ιστολογική εικόνα 40 \times και των ετικετών κλάσης που αποδίδονται από τους ιατρούς: α) λίπος \rightarrow 'fat', β) διογκωση \rightarrow 'ballooning', γ) κολποειδές \rightarrow 'sinusoid' και δ) φλέβα \rightarrow 'vein'.



Εικόνα 4.3. (α) Επισημείωση ιστολογικών δειγμάτων εκπαίδευσης με το λογισμικό NDP.view2 και ενός εργαλείου χειροκίνητης επιλογής (freehand), με κάθε ηπατική κλάση να επισημαίνεται με ξεχωριστό χρώμα περιγράμματος. Οι συντεταγμένες των ορίων των επιλεγμένων περιοχών καταγράφονται στη συνέχεια σε ένα αρχείο XML και (β) απεικόνιση των ορίων και των τιμών εκκεντρότητας για κάθε επισημειωμένο δείγμα σε μια εικόνα κλίμακας του γκρι. Κάθε σημείο εκκεντρότητας επισημαίνεται με κουκκίδες που χρωματίζονται σύμφωνα με το χρώμα του περιγράμματος της ετικέτας κλάσης, με αποτέλεσμα μια σαφή και οπτικά αντιπροσωπευτική απεικόνιση των επισημειωμένων δεδομένων.

Για να αναδειχθούν οι διαφορές μεταξύ των τεσσάρων ηπατικών κλάσεων, εξάγεται ένα διάγραμμα χαρακτηριστικών 1D από τα αρχεία XML με τη χρήση ενός αναλυτή (parser), όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.3α. Τα χαρακτηριστικά υπολογίζονται με βάση τις εξής ιδιότητες εικόνας:

- Εμβαδόν (area): ο αριθμός των εικονοστοιχείων που αποτελούν την επισημειωμένη περιοχή ενδιαφέροντος.
- Κεντροειδές (centroid): επιστρεφόμενο ως ένα 1-προς- Q διάνυσμα που καθορίζεται από την οριζόντια συντεταγμένη (x -άξονας) και την κατακόρυφη συντεταγμένη (y -άξονας) του κέντρου της μάζας της επισημειωμένης περιοχής.

- Μήκος μείζονος άξονα (major axis length): το μήκος των εικονοστοιχείων που ορίζουν τη μεγαλύτερη διάμετρο στους δύο άξονες συμμετρίας μιας έλλειψης.
- Μήκος δευτερεύοντος άξονα (minor axis length): το μήκος των εικονοστοιχείων που ορίζουν τη μικρότερη διάμετρο στους δύο άξονες συμμετρίας μιας έλλειψης.
- Εκκεντρότητα (eccentricity): ο βαθμός κυκλικότητας ή γραμμικότητας μιας δομής, ίσος με τον λόγο της απόστασης μεταξύ των εστιών της έλλειψης και του μήκους του μείζονος άξονα.
- Περίμετρος (perimeter): η απόσταση μεταξύ κάθε γειτονικού ζεύγους εικονοστοιχείων, γύρω από τα όρια της επισημειωμένης περιοχής.
- Διάμετρος (diameter): ο λόγος της περιφέρειας ενός κυκλικού αντικειμένου προς τη διάμετρό του.
- Έκταση (extent): ο λόγος των εικονοστοιχείων μιας δομής προς το εμβαδόν του 4-σημείων παραθύρου οριοθέτησής του.
- Μέση ένταση: η μέση τιμή των εικονοστοιχείων σε μια περιοχή ενδιαφέροντος.
- Τυπική απόκλιση: ο βαθμός μεταβολής των εντάσεων των εικονοστοιχείων εντός ενός αντικειμένου κλάσης.
- Στερεότητα (solidity): ο λόγος των εικονοστοιχείων ενός κυρτού πολυγώνου που βρίσκεται εντός του εμβαδού κάθε επισημειωμένης περιοχής.

Πίνακας 4.1: Εξαγωγή χαρακτηριστικών από επισημειώσεις ιστολογικών περιοχών

	Κατηγορία Χαρακτηριστικών	Περιγραφή
1	Σχήμα	Εκκεντρότητα, Μήκος μείζονος άξονα, Μήκος δευτερεύοντος άξονα, Έκταση
2	Μέγεθος	Εμβαδόν, Διάμετρος, Περίμετρος
3	Θέση	Κεντροειδές (συντεταγμένες x, y)
4	Υφή	Μέση ένταση, Τυπική απόκλιση, Στερεότητα

Οι τιμές των χαρακτηριστικών (Πίνακας 4.1) υπολογίζονται στο πράσινο κανάλι του χρωματικού χώρου RGB της αρχικής εικόνας βιοψίας. Αυτό το κανάλι επιλέγεται επειδή οι μεταβολές στη φωτεινότητα και την υφή είναι πιο ευδιάκριτες τόσο για τα παθολογικά όσο και για τα υγιή ιστολογικά αντικείμενα σε σύγκριση με τα άλλα δύο χρωματικά κανάλια (κόκκινο και μπλε). Για την επαλήθευση της διαδικασίας υπολογισμού των τιμών των χαρακτηριστικών, η Εικόνα 4.3β απεικονίζει το τελικό αποτέλεσμα της επισημείωσης σε μια εικόνα κλίμακας του γκρι, η οποία φέρει τις ίδιες διαστάσεις με το αρχικό ιστολογικό δείγμα RGB. Κάθε αντικείμενο ηπατικής κλάσης εμφανίζεται με ξεχωριστή τιμή κλίμακας

του γκρι, ενώ οι χρωματιστές κουκκίδες υποδεικνύουν τα αντίστοιχα υπολογισμένα σημεία εκκεντρότητας.

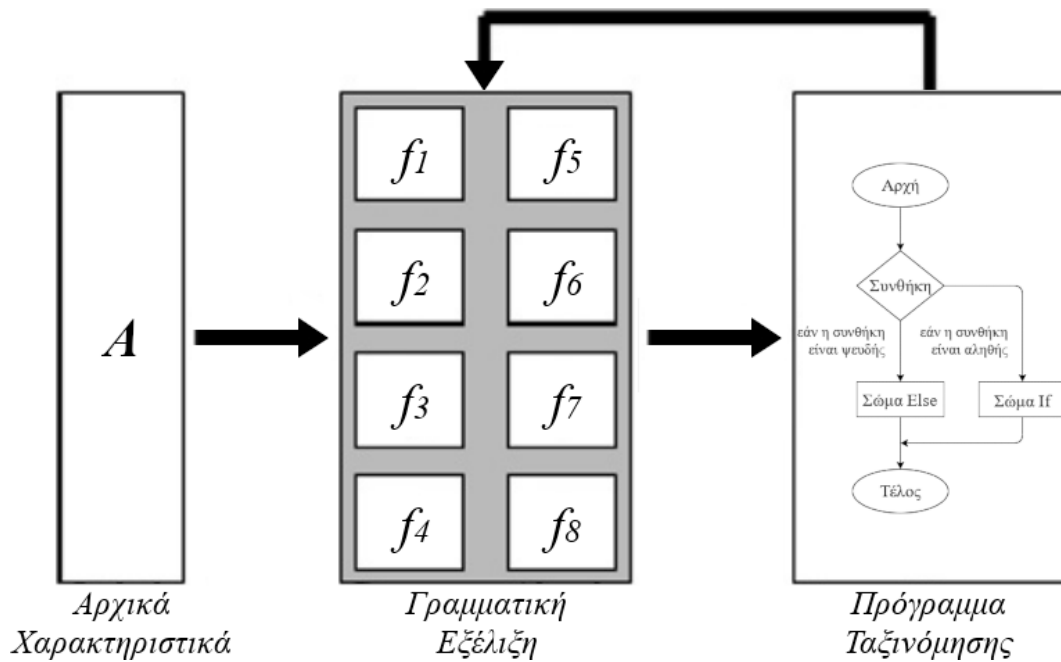
Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας επισημείωσης, λαμβάνονται συνολικά 7.305 δείγματα εκπαίδευσης. Τα δείγματα αυτά περιλαμβάνουν 4.023 λιποκύτταρα, 3.064 περιοχές διόγκωσης, 165 κολποειδή και 53 φλέβες, με τα λιποκύτταρα και τις περιοχές διόγκωσης να αποτελούν την πλειονότητα των αντικειμένων επισημείωσης. Ωστόσο, αυτή η κατανομή οδηγεί σε ένα μη-ισορροπημένο σύνολο δεδομένων, το οποίο συχνά οδηγεί σε μειωμένη απόδοση σε εργασίες ταξινόμησης. Για τον μετριασμό αυτού του ζητήματος, το σύνολο εκπαίδευσης αναπροσαρμόζεται ώστε να περιλαμβάνει 390 τυχαία επιλεγμένα λιποκύτταρα και 390 τυχαία επιλεγμένες περιοχές διόγκωσης, ενώ διατηρούνται όλα τα 165 κολποειδή και οι 53 φλέβες.

Με βάση τον Πίνακα 4.1, η μεθοδολογία προχωρά στην εκπαίδευση ενός εποπτευόμενου ταξινομητή $D = (x_i, y_i)_{i=1}^N$, όπου το $x = \{\text{Εκκεντρότητα, Μήκος μείζονος άξονα, Μήκος δευτερεύοντος άξονα, Έκταση, Εμβαδόν, Διάμετρος, Περίμετρος, Κεντροειδές, Μέση ένταση, Τυπική απόκλιση, Στερεότητα}\}$ υποδηλώνει το διάνυσμα χαρακτηριστικών εισόδου, το $y \in \{\text{'fat', 'ballooning', 'sinusoid', 'vein'}\}$ τις ετικέτες εξόδου, ενώ $i = 1, \dots, N$ τα δείγματα εκπαίδευσης και τις αντίστοιχες κλάσεις τους.

Μέθοδος ταξινόμησης

Στο στάδιο της ταξινόμησης, χρησιμοποιείται η βασιζόμενη στη Γραμματική Εξέλιξη (Grammatical Evolution - GE) μέθοδος “GenClass” [113]. Η προσέγγιση αυτή αναφέρεται σε ένα εξελιγμένο εργαλείο Γενετικού Προγραμματισμού (Genetic Programming - GP) το οποίο, με βάση τα παραδείγματα εκπαίδευσης, κατασκευάζει προγράμματα ταξινόμησης σε μια γλώσσα προγραμματισμού τύπου C προκειμένου να ταξινομήσει τα δεδομένα εισόδου, παράγοντας απλούς κανόνες if-else (Εικόνα 4.4).

Σε γενικές γραμμές, η GE μιμείται τη βιολογική διαδικασία σύνθεσης πρωτεϊνών με τη χρήση γενετικού υλικού μέσω μιας επαναληπτικής εξελικτικής προσέγγισης. Η διαδικασία ξεκινά με το γονιδίωμα (genome), το οποίο αποτελείται από αλληλουχίες DNA που συντίθενται από μια σειρά υποστοιχείων. Αυτά τα υποστοιχεία μεταγράφονται σε κωδικόνια (codons) RNA, τα οποία στη συνέχεια μεταφράζονται σε αλληλουχίες αμινοξέων που αποτελούν τα δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες που δημιουργούνται από αυτή την εξελικτική διαδικασία στο αντίστοιχο περιβάλλον τους αποτελούν τους φαινότυπους (phenotypes) του προγράμματος [114].



Εικόνα 4.4. Προσέγγιση Γραμματικής Εξέλιξης που περιλαμβάνει τη διαδικασία κατασκευής ενός προγράμματος ταξινόμησης ηπατικών δομών με βάση τα χαρακτηριστικά εισόδου.

Η GE αποτελεί υποσύνολο των εξελικτικών αλγορίθμων (evolutionary algorithms) που εφαρμόζει την εξελικτική διαδικασία σε δυαδικές συμβολοσειρές μεταβλητού μήκους για να αναπαραστήσει τη γενετική πληροφορία ή το γονιδίωμα των ατόμων ενός πληθυσμού [115]. Αυτές οι δυαδικές συμβολοσειρές αντιστοιχίζονται σε μια καλά δομημένη συμβολική μορφή, γνωστή ως γραμματική χωρίς συμφραζόμενα (Context-Free Grammar - CFG). Η CFG αναπαριστά προγράμματα που εκτελούνται ή ερμηνεύονται για να εκτελέσουν μια συγκεκριμένη εργασία. Η απόδοση ή η έξοδος αυτών των προγραμμάτων αξιολογείται στη συνέχεια από μια συνάρτηση καταλληλότητας (fitness function). Η CFG ορίζεται ως ένα σύνολο κανόνων παραγωγής που περιέχουν τερματικά και μη-τερματικά σύμβολα. Τα μη-τερματικά αναφέρονται σε αφηρημένα σύμβολα που μπορούν να αντικατασταθούν από σύνολα τερματικών συμβόλων σύμφωνα με τους κανόνες παραγωγής του προγράμματος, ενώ τα τερματικά σύμβολα αντιπροσωπεύουν συγκεκριμένα λεξιλογικά στοιχεία. Το πρόγραμμα που προκύπτει από το γονιδίωμα αναφέρεται ως φαινότυπος του προγράμματος και καθορίζει τη συμπεριφορά ή τη λειτουργικότητα του αναπτυσσόμενου προγράμματος στην επίτευξη της επιθυμητής ταξινόμησης [114].

Για τη δημιουργία των μελών του πληθυσμού στη διαδικασία GE, οι δυαδικές συμβολοσειρές χρησιμοποιούνται πρώτα σε υποσυμβολική μορφή και υποβάλλονται σε μια επαναληπτική διαδικασία βελτιστοποίησης, η οποία περιλαμβάνει την αποκωδικοποίηση των μπλοκ δεδομένων 8-bit από το γονιδίωμα των υποψήφιων λύσεων σε ακέραιες τιμές. Αυτές οι ακέραιες τιμές ερμηνεύονται στη συνέχεια ως δυαδικοί αριθμοί, επιτρέποντας την αναπαράσταση ενός ευρέος φάσματος τιμών.

Στην υλοποίηση της εξελικτικής διαδικασίας της GenClass, η CFG της γλώσσας-στόχου ορίζεται σε μορφή Backus-Naur (Backus-Naur Form - BNF)⁶. Η γραμματική CFG εκφράζεται ως $G = (N, T, S, P)$, όπου N είναι ένα σύνολο μη-τερματικών συμβόλων, T ένα πεπερασμένο σύνολο τερματικών συμβόλων που ικανοποιούν τον περιορισμό $N \cap T = \emptyset$, S το σύμβολο έναρξης της γραμματικής και P το σύνολο των κανόνων παραγωγής. Οι κανόνες παραγωγής είναι της μορφής $A \rightarrow a$ ή $A \rightarrow aB$, $A, B \in N$, $a \in T$, όπου A και B είναι τα μη-τερματικά και το a ένα τερματικό σύμβολο. Αυτοί οι κανόνες παραγωγής χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία μιας συντακτικά έγκυρης έκφρασης. Επιπλέον, ορίζεται μια σχετική συνάρτηση καταλληλότητας για την αξιολόγηση της απόδοσης των προγραμμάτων που παράγονται χρησιμοποιώντας τη γραμματική CFG (Εικόνα 4.5).

```

S ::= <expr> (0)
<expr> ::= ( <expr> <op> <expr> ) (0)
          | <func> ( <expr> ) (1)
          | <terminal> (2)
<op> ::= + (0)
          | - (1)
          | * (2)
          | / (3)
<func> ::= sin (0)
          | cos (1)
          | exp (2)
          | log (3)
<terminal> ::= <xlist> (0)
              | <digitlist>.<digitlist> (1)
<xlist> ::= x1 (0)
           | x2 (1)
           | .....
           | xN (N-1)
<digitlist> ::= <digit> (0)
              | <digit><digitlist> (1)
<digit> ::= 0 (0) | 1 (1) | 2 (2) .... | 9 (9)

```

Εικόνα 4.5. Παρουσίαση της CFG της προτεινόμενης μεθόδου Γραμματικής Εξέλιξης, η οποία περιλαμβάνει αλγεβρικές εκφράσεις που διευκολύνουν την εξέλιξη προγραμμάτων ή λύσεων που βασίζονται στη μοντελοποίηση μαθηματικών σχέσεων. Με την ενσωμάτωση αυτών των εκφράσεων στην CFG, η GE αποκτά την ευελιξία να αναπαριστά και να παράγει λύσεις που τηρούν μια μαθηματική λογική.

Στη GE, τα χρωμοσώματα/άτομα αναπαρίστανται ως διανύσματα ακέραιων αριθμών, όπου κάθε στοιχείο του διανύσματος αντιστοιχεί σε έναν κανόνα παραγωγής (production rule) από τη γραμματική BNF (Εικόνα 4.6). Η διαδικασία επιλογής του κανόνα παραγωγής ακολουθεί μια προσέγγιση δύο βημάτων. Στο πρώτο βήμα, προσδιορίζεται το επόμενο στοιχείο του διανύσματος (που αναπαρίστανται από το σύμβολο V) που θα υποστεί την

⁶ Η BNF είναι μια μετα-γλώσσα (μια γλώσσα που μπορεί να περιγράψει συντακτικά μια γλώσσα προγραμματισμού) που μπορεί να καθορίσει τις ακολουθίες συμβόλων για τη δημιουργία ενός ενός συντακτικά έγκυρου προγράμματος [116]

πράξη αντικατάστασης. Στο δεύτερο βήμα, ο επιλεγμένος κανόνας παραγωγής καθορίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο ($Rule = V \bmod R$), όπου το R αντιπροσωπεύει τον αριθμό των κανόνων παραγωγής που είναι διαθέσιμοι για το τρέχον μη-τερματικό σύμβολο. Αυτός ο τύπος αντιστοιχεί την τιμή του V σε έναν συγκεκριμένο κανόνα παραγωγής από τη γραμματική BNF, συμβάλλοντας στην εξελικτική πρόοδο του προγράμματος ταξινόμησης.

Συμβολοσειρά	Χρωμόσωμα	Πράξη
<expr>	9,8,6,4,16,10,17,23,8,14	$9 \bmod 3=0$
(<expr><op><expr>)	8,6,4,16,10,17,23,8,14	$8 \bmod 3=2$
(<terminal><op><expr>)	6,4,16,10,17,23,8,14	$6 \bmod 2=0$
(<xlist><op><expr>)	4,16,10,17,23,8,14	$4 \bmod 3=1$
(x2<op><expr>)	16,10,17,23,8,14	$16 \bmod 4=0$
(x2+<expr>)	10,17,23,8,14	$10 \bmod 3=1$
(x2+<func>(<expr>))	17,23,8,14	$17 \bmod 4=1$
(x2+cos(<expr>))	23,8,14	$23 \bmod 3=2$
(x2+cos(<terminal>))	8,14	$8 \bmod 2=0$
(x2+cos(<xlist>))	14	$14 \bmod 3=2$
(x2+cos(x3))		

Εικόνα 4.6. Διαδικασία κατασκευής προγράμματος ταξινόμησης, όπου μια έγκυρη συνάρτηση f παράγεται με βάση το χρωμόσωμα $x = (9, 8, 6, 4, 16, 10, 17, 23, 8, 14)$. Η κατασκευή ξεκινά με το μη-τερματικό σύμβολο <expr>. Επιλέγεται ο επόμενος ακέραιος αριθμός 9 και το σύμβολο <expr> συνδέεται με 3 κανόνες. Συνεπώς, επιλέγεται ο κανόνας με αριθμό 3 ($9 \bmod 3 = 0$), γεγονός που οδηγεί στην εφαρμογή του αντίστοιχου κανόνα $\langle \text{expr} \rangle ::= (\langle \text{exp} \rangle \langle \text{op} \rangle \langle \text{expr} \rangle)$.

Αυτή η διαδικασία συνεχίζεται επαναληπτικά με τη χρήση γενετικών τελεστών εντός του Αλγόριθμου 1 μέχρι να παραχθεί μια έγκυρη έκφραση ή να φτάσει στο τέλος του ατόμου. Σε περίπτωση που ένα άτομο είναι μη-έγκυρο, του αποδίδεται μια υψηλότερη τιμή καταλληλότητας από εκείνη των έγκυρων και επιθυμητών ατόμων, ως ποινή, για να αποθαρρύνει τον αλγόριθμο από το να επιλέξει ή να χρησιμοποιήσει το εν λόγω άτομο στην επόμενη γενιά.

Στο επόμενο βήμα, η απόδοση ταξινόμησης της μεθόδου GenClass συγκρίνεται με εκείνη τεσσάρων ευρέως χρησιμοποιούμενων εποπτευόμενων αλγορίθμων μηχανικής μάθησης. Πρόκειται για τους αλγόριθμους Naive Bayes, k-Πλησιέστερων Γειτόνων (k-Nearest Neighbors - k-NN), το C4.5 Δέντρο Απόφασης (Decision Tree - DT) και η Μηχανή Διανυσματικής Υποστήριξης (Support Vector Machine - SVM), οι οποίοι ομοίως στοχεύουν στο διαχωρισμό των λιπωδών δομών από τις άλλες τρεις ιστολογικές κλάσεις ύστερα από το στάδιο κατάτμησης εικόνας.

4.1.2 Αποτελέσματα

Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης της ηπατικής στεάτωσης με ταξινόμηση

Αφού ολοκληρωθεί η εκπαίδευση των αλγορίθμων ταξινόμησης, το επόμενο βήμα είναι να

Αλγόριθμος 1 : GenClass

```
1: Begin Αρχικοποίηση
2:   Φόρτωσε τα δεδομένα εκπαίδευσης
3:   Όρισε τον μέγιστο αριθμό γενεών ( $N_G$ )
4:   Όρισε τον αριθμό των ατόμων που αποτελούν τον πληθυσμό ( $N_C$ )
5:   Όρισε το ποσοστό επιλογής ( $P_S$ )
6:   Όρισε το ποσοστό μετάλλαξης ( $P_M$ )
7:   Αρχικοποίησε τα μέλη του πληθυσμού ( $P_M$ )
8: End
9: Begin Εξέλιξη
10:  For  $i = 1, \dots, N_G$  do
11:    Δημιούργησε ένα πρόγραμμα ταξινόμησης για κάθε άτομο
12:    Υπολόγισε την καταλληλότητα για όλα τα άτομα
13:    Εφάρμοσε τον τελεστή επιλογής των καλύτερων ατόμων
14:    Εφάρμοσε τον τελεστή μετάλλαξης για την εισαγωγή παραλλαγών
15:  End
16: End
17: Begin Αξιολόγηση
18:  Δημιούργησε ένα πρόγραμμα ταξινόμησης για το επιλεγμένο καλύτερο
    άτομο από τον πληθυσμό
19:  Εφάρμοσε το πρόγραμμα στο σύνολο δοκιμής και επέστρεψε το αποτέλεσμα
20: End
```

χαρακτηριστούν οι άγνωστες δομές κατάτμησης ώστε να συμπεριληφθούν μόνο τα λιποκύτταρα στην ποσοτικοποίηση της στεάτωσης στις 28 εικόνες ελέγχου. Αυτό περιλαμβάνει τον υπολογισμό του ίδιου διανύσματος χαρακτηριστικών (Πίνακας 4.1) και στο πράσινο χρωματικό κανάλι για τις εικόνες διάγνωσης. Καθώς το υποσύνολο εκπαίδευσης περιλαμβάνει μικροσκοπικά δείγματα σαρωμένα σε μεγέθυνση $40\times$ και το υποσύνολο ελέγχου σε μικρότερη μεγέθυνση $20\times$, το λογισμικό θα πρέπει να είναι σε θέση να αναλύει και να αναγνωρίζει διαφορετικά ιστολογικά ευρήματα σε διαφορετικές κλίμακες. Για να επιτευχθεί αυτό, οι τιμές των χαρακτηριστικών κανονικοποιούνται σε ένα κλειστό διάστημα $[0, 1]$, το οποίο αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ορθή εφαρμογή της μεθόδου ταξινόμησης και στους δύο συντελεστές μεγέθυνσης.

Με βάση την επέκταση της μεθοδολογίας που αξιοποιεί το στάδιο της ταξινόμησης, δίνεται έμφαση στους τελικούς διαγνωστικούς πίνακες (Πίνακας 4.2 και Πίνακας 4.3). Ειδικότερα, η τρίτη στήλη του Πίνακα 4.2 δείχνει ότι και στα 28 δείγματα βιοψίας, η μέθοδος GenClass-GE (F_{GE}) αποδίδει χαμηλότερα ποσοστά στεάτωσης από εκείνα του σταδίου κατάτμησης εικόνας F_{Segm} . Τονίζεται ότι η προτεινόμενη μέθοδος GE μειώνει το μέσο ποσοστό λίπους έως και 0,27%, δηλαδή στο 18,21% σε σύγκριση με το 18,48% της F_{Segm} . Η μειωμένη μέση τιμή προέρχεται από το γεγονός ότι έχουν περιοριστεί τα ιστολογικά ευρήματα που σχετίζονται με τις διογκώσεις ηπατοκυττάρων, τα κολποειδή και τις φλέβες, τα οποία στο στάδιο της κατάτμησης εικόνας έχουν συμπεριληφθεί στον ποσοτικό προσδιορισμό του λόγου στεάτωσης. Ομοίως, οι αλγόριθμοι Naive Bayes, k-NN, C4.5 Δέντρο Απόφασης

και SVM οδηγούν σε μειωμένες μέσες αναλογίες λίπους της τάξης του 17,3%, 16,76%, 17,62% και 17,34%, αντίστοιχα.

Πίνακας 4.2: Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου ταξινόμησης

Εικόνα Ελέγχου (20×)	Αναλογία Λίπους με Κατάτμηση (%)	Αναλογία Λίπους με Ταξινόμηση (%)					Αναλογία Λίπους με Ημιποσοτική Αξιολόγηση (%)	
		F_{Segm}	F_{GE}	F_{NB}	F_{k-NN}	$F_{C4.5}$	F_{SVM}	F_{Doc}
1	MS12-23945	9,88	8,18	9,34	9,09	9,41	9,30	7,65
2	MS13-11663	5,43	5,25	5,01	5,01	5,14	5,01	3,47
3	MS13-12414	16,34	16,09	15,38	14,03	15,64	15,31	14,06
4	MS13-18536	11,76	11,62	11,27	11,02	11,44	11,30	10,64
5	MS13-9453	27,42	27,24	25,76	25,66	25,68	25,95	24,13
6	MS13-9925	25,87	25,60	24,98	24,54	25,54	25,10	23,99
7	MS14-10783	15,83	15,62	14,76	14,64	15,13	14,94	16,13
8	MS14-10801	9,99	9,75	9,00	9,34	9,72	9,04	9,82
9	MS14-11933	7,23	7,03	6,73	6,76	6,89	6,68	3,77
10	MS14-12212	26,64	26,42	23,81	23,28	24,94	23,94	26,71
11	MS14-13040	12,80	12,52	12,26	12,15	12,40	12,31	12,63
12	MS14-1559	24,32	24,13	23,34	22,64	23,39	23,40	26,85
13	MS14-2382	37,60	37,45	35,42	33,83	35,22	35,01	40,08
14	MS14-2449	12,97	12,81	12,05	11,34	12,40	12,17	14,70
15	MS14-2451	15,17	14,93	14,91	14,25	14,97	14,91	13,98
16	MS14-3215	14,32	14,14	12,57	11,52	13,52	12,42	10,84
17	MS14-3686	4,55	4,39	4,38	4,38	4,44	4,43	2,27
18	MS14-3854	27,23	26,88	23,61	22,60	25,09	24,03	24,32
19	MS14-5561	6,79	6,67	5,94	5,78	6,27	6,04	4,52
20	MS14-5898	25,66	25,41	23,25	21,35	23,62	23,09	26,41
21	MS14-6402	15,24	14,88	14,58	14,23	14,81	14,71	13,42
22	MS14-786	29,28	29,04	28,02	27,58	28,51	28,29	32,50
23	MS14-8355	42,27	42,18	41,07	39,53	40,71	40,89	44,50
24	MS14-9198	12,23	11,68	11,78	11,75	11,98	11,83	7,09
25	MS14-9711	32,20	31,99	29,08	28,26	30,08	29,36	29,79
26	MS15-2103	5,14	4,90	4,80	4,42	4,88	4,75	2,79
27	MS15-2670	30,99	30,83	29,47	28,71	29,72	29,61	29,61
28	MS15-805	12,35	12,10	11,77	11,55	11,89	11,64	9,12
Μέση τιμή:		18,48	18,21	17,30	16,76	17,62	17,34	17,35

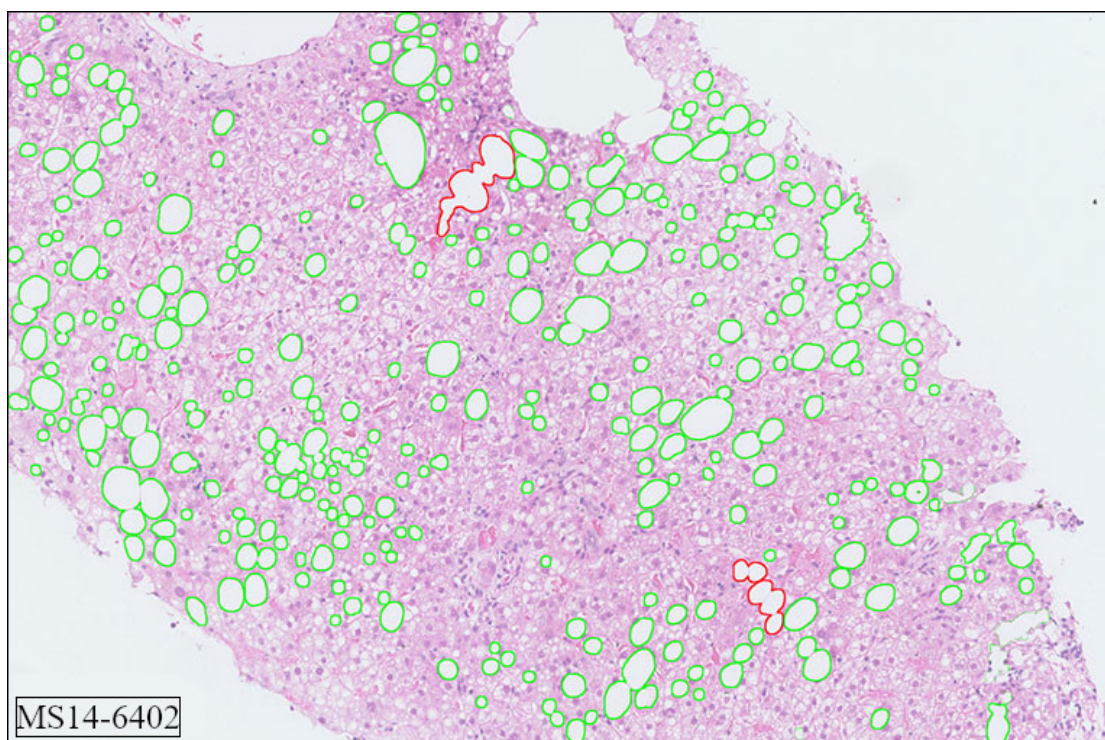
Προχωρώντας, στην τελευταία στήλη του Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται τα ποσοστά επικράτησης λίπους σύμφωνα με την ημιποσοτική αξιολόγηση των ιατρών του St. Mary (F_{Doc}). Αυτές οι οπτικές ερμηνείες οδηγούν τελικά στον Πίνακα 4.3, όπου υπολογίζεται το απόλυτο σφάλμα για την κατάτμηση των κυκλικών δομών και την ταξινόμησή τους ως φυσαλίδες

λίπους, αντίστοιχα, για κάθε εικόνα βιοψίας ήπατος 20×. Αρχικά, προσδιορίζεται το μέσο διαγνωστικό σφάλμα της μεθόδου ταξινόμησης (GE_{err}) και συγκρίνεται επίσης με αυτό που παράγεται από τις εκτιμήσεις του σταδίου κατάτμησης εικόνας (S_{err}). Βάσει αυτού, συνάγεται το συμπέρασμα ότι ο αλγόριθμος GenClass-GE έχει μέσο απόλυτο σφάλμα 1,93% και λιγότερο από το 2,08% της κατάτμησης πιθανών λιποκυττάρων.

Πίνακας 4.3: Σφάλμα ποσοτικοποίησης ηπατικού λίπους μέσω του σταδίου ταξινόμησης

Εικόνα Ελέγχου (20×)	Σφάλμα Κατάτμησης Εικόνας (%)		Σφάλμα Ταξινόμησης (%)				
	S_{err}	GE_{err}	NB_{err}	$k-NN_{err}$	$C4.5_{err}$	SVM_{err}	
1	MS12-23945	2,23	0,54	1,69	1,44	1,76	1,65
2	MS13-11663	1,96	1,78	1,54	1,54	1,67	1,54
3	MS13-12414	2,28	2,03	1,32	0,03	1,58	1,25
4	MS13-18536	1,12	0,98	0,63	0,38	0,80	0,65
5	MS13-9453	3,29	3,11	1,63	1,53	1,55	1,82
6	MS13-9925	1,88	1,61	0,99	0,55	1,55	1,10
7	MS14-10783	0,30	0,51	1,37	1,49	1,00	1,19
8	MS14-10801	0,18	0,07	0,82	0,48	0,10	0,78
9	MS14-11933	3,47	3,26	2,96	2,99	3,13	2,91
10	MS14-12212	0,06	0,29	2,89	3,43	1,77	2,77
11	MS14-13040	0,16	0,11	0,37	0,49	0,23	0,32
12	MS14-1559	2,53	2,72	3,51	4,21	3,46	3,45
13	MS14-2382	2,48	2,62	4,66	6,24	4,86	5,06
14	MS14-2449	1,73	1,89	2,65	3,36	2,30	2,53
15	MS14-2451	1,19	0,95	0,93	0,27	0,99	0,93
16	MS14-3215	3,48	3,30	1,74	0,68	2,69	1,58
17	MS14-3686	2,28	2,12	2,11	2,10	2,17	2,16
18	MS14-3854	2,91	2,56	0,71	1,72	0,77	0,28
19	MS14-5561	2,27	2,15	1,42	1,26	1,74	1,52
20	MS14-5898	0,75	1,00	3,16	5,05	2,79	3,32
21	MS14-6402	1,81	1,46	1,16	0,81	1,39	1,28
22	MS14-786	3,23	3,46	4,49	4,93	4,00	4,21
23	MS14-8355	2,22	2,31	3,43	4,97	3,79	3,60
24	MS14-9198	5,14	4,59	4,69	4,66	4,89	4,74
25	MS14-9711	2,41	2,20	0,71	1,53	0,29	0,43
26	MS15-2103	2,35	2,11	2,01	1,63	2,09	1,96
27	MS15-2670	1,38	1,21	0,14	0,91	0,11	0,00
28	MS15-805	3,23	2,98	2,66	2,44	2,78	2,53
Μέση τιμή:		2,08	1,93	2,01	2,18	2,01	1,99
Τυπική απόκλιση:		1,18	1,13	1,31	1,76	1,34	1,36

Ταυτόχρονα, εξετάζεται η οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων κατάτμησης, η οποία αποτελεί σημαντικό βήμα για την επαλήθευση της ακρίβειας ενός εργαλείου εντοπισμού και ταξινόμησης ιστολογικών δομών σε εικόνες βιοψίας. Σύμφωνα με την Εικόνα 4.7, το στάδιο ανίχνευσης κυκλικών αντικειμένων της παρούσας μεθόδου αδυνατεί ορισμένες φορές ως προς τη διαφοροποίηση μεταξύ γειτονικών σταγονιδίων λίπους, με αποτέλεσμα τον ατελή διαχωρισμό των ορίων. Αυτό πιθανώς οφείλεται στη χαμηλή μεγέθυνση των εικόνων ($20\times$), η οποία προκαλεί υψηλό λόγο συμπίεσης στις εικόνες μικροσκοπίας. Σε συνδυασμό με τα υψηλά ποσοστά στεάτωσης σε ορισμένα δείγματα, αυτό οδηγεί στην επικάλυψη παρακείμενων λιποκυττάρων, όπως απεικονίζεται από τις κόκκινες γραμμές περιγράμματος στην εικόνα. Αυτό το μοτίβο συσσωμάτωσης παράγει τιμές χαρακτηριστικών που δεν ταυτίζονται με τα επισημειωμένα δείγματα λίπους, επηρεάζοντας τελικά την απόδοση ταξινόμησης της μεθόδου GenClass. Ως αποτέλεσμα, ο ταξινομητής ενδέχεται να μην είναι σε θέση να αναγνωρίσει όλες τις λιπώδεις δομές, οδηγώντας σε υποεκτίμηση του λόγου στεάτωσης σε ορισμένες περιπτώσεις.

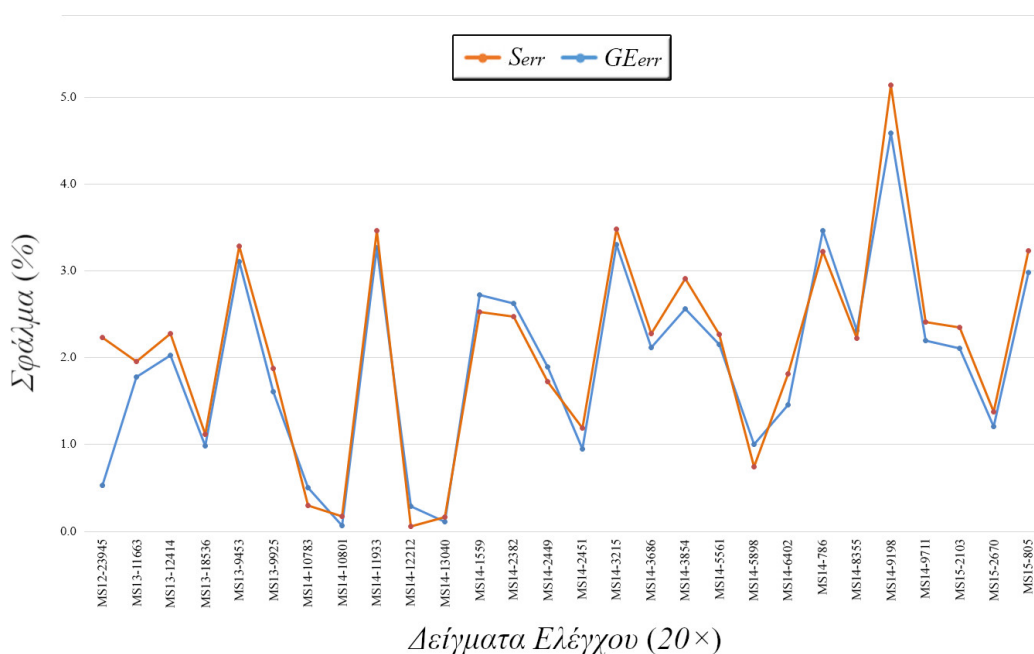


Εικόνα 4.7. Οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης ηπατικού λίπους, η οποία καταδεικνύει την ακριβή αναγνώριση των κυκλικών σταγονιδίων λίπους με πράσινες γραμμές περιγράμματος. Ωστόσο, υφίστανται επίσης περιοχές συσσωμάτωσης λίπους, οι οποίες επισημαίνονται με κόκκινες γραμμές περιγράμματος υποδεικνύοντας επικαλυπτόμενα σταγονίδια λίπους. Αυτό το φαινόμενο συσσωμάτωσης μπορεί να επηρεάσει τον προσδιορισμό των ορίων κάθε κυκλικού αντικειμένου και συνεπώς την απόδοση του βήματος ταξινόμησης.

Επιστρέφοντας στον Πίνακα 4.3, η επικάλυψη των σταγονιδίων λίπους έχει ως αποτέλεσμα η μέθοδος GE να παράγει υψηλότερα σφάλματα ποσοτικοποίησης λίπους (GE_{err}) από

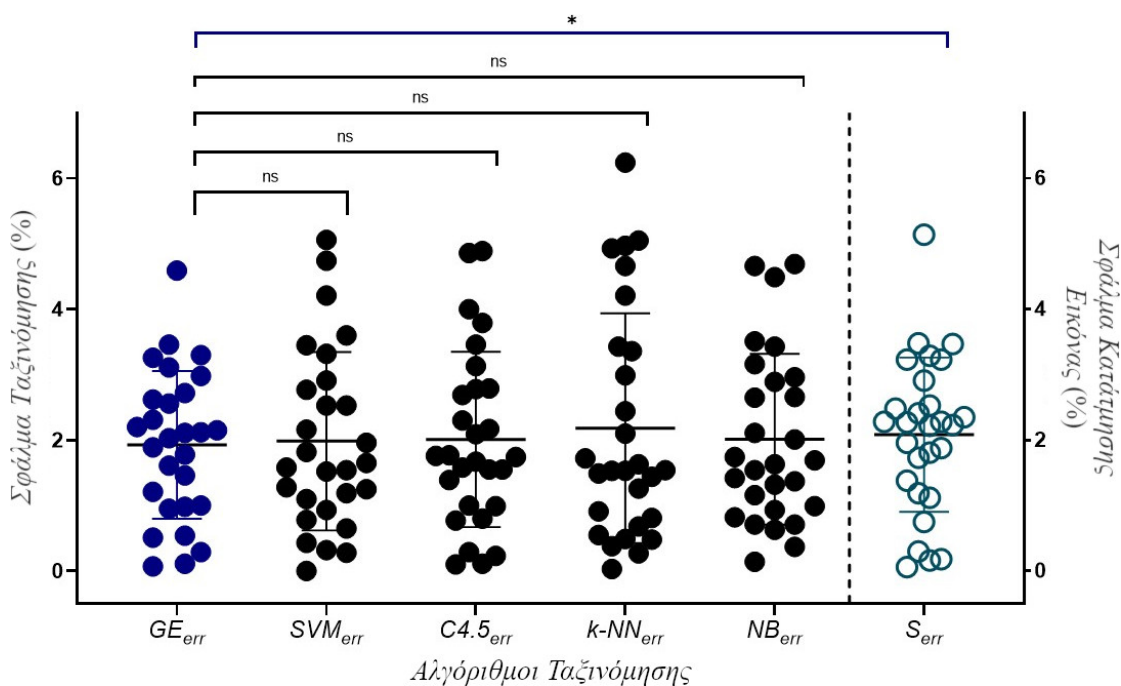
τα αντίστοιχα της κατάτμησης εικόνας (S_{err}) σε 8 εικόνες ελέγχου: #7 - MS14-10783 (0,51% > 0,30%), #10 - MS14-12212 (0,29% > 0,06%), #12 - MS14-1559 (2,72% > 2,53%), #13 - MS14-2382 (2,62% > 2,48%), #14 - MS14-2449 (1,89% > 1,73%), #20 - MS14-5898 (1% > 0,75%), #22 - MS14-786 (3,46% > 3,23%) και #23 - MS14-8355 (2,31% > 2,22%). Παρόλα αυτά, το εκπαιδευμένο σύστημα παράγει χαμηλότερες τιμές διαγνωστικού σφάλματος σε 20 εικόνες (από τις 28 συνολικά), καθώς και μειωμένο μέσο απόλυτο σφάλμα έως και 0,15% από το στάδιο κατάτμησης εικόνας. Μια γραφική αναπαράσταση αυτών των αποτελεσμάτων απεικονίζεται στην Εικόνα 4.8 με τη χρήση γραμμών πλέγματος.

Επιπλέον, σύμφωνα με τον Πίνακα 4.3, το εργαλείο GenClass εμφανίζει το μικρότερο μέσο σφάλμα ποσοτικοποίησης λίπους ($GE_{err} = 1,93\%$) σε σύγκριση με τους αλγορίθμους Naive Bayes ($NB_{err} = 2,01\%$), k-NN ($k - NN_{err} = 2,18\%$), C4.5 Δέντρου Απόφασης ($C4.5_{err} = 2,01\%$) και SVM ($SVM_{err} = 1,99\%$). Υπογραμμίζεται ότι ο k-NN είναι ο μόνος ταξινομητής που παράγει μεγαλύτερο μέσο απόλυτο σφάλμα σε σύγκριση με τη μέθοδο κατάτμησης εικόνας ($S_{err} = 2,08\%$).



Εικόνα 4.8. Γραφική αναπαράσταση του σφάλματος ποσοτικοποίησης λίπους στην προτεινόμενη μεθοδολογία. Οι γραμμές πλέγματος υποδεικνύουν 20 χαμηλότερες τιμές απόλυτου σφάλματος που προκύπτουν από το στάδιο ταξινόμησης GenClass-GE (GE_{err}) σε σχέση με το στάδιο κατάτμησης εικόνας (S_{err}), από ένα σύνολο 28 εικόνων ελέγχου. Το απόλυτο σφάλμα για κάθε στάδιο αντικατοπτρίζει την απόκλιση από τις ημιποσοτικές ερμηνείες των ιατρών για κάθε εικόνα. Παρατηρείται επίσης ότι λόγω της μεγέθυνσης $20\times$, οι περιοχές συσσωμάτωσης λίπους οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα σφάλματος (> 2%), τόσο στη μέθοδο κατάτμησης εικόνας F_{segm} όσο και στην ταξινόμηση F_{GE} .

Για τη σύγκριση του ποσοστού σφάλματος ταξινόμησης της μεθόδου GE_{err} με εκείνο της κατάτμησης εικόνας και των τεσσάρων προαναφερθέντων εποπτευόμενων αλγορίθμων (NB_{err} , $k - NN_{err}$, $C4.5_{err}$ και SVM_{err}), χρησιμοποιείται το κατά ζεύγη t-test δύο δειγμάτων/πληθυσμών. Το αποτέλεσμα που προκύπτει από τον στατιστικό έλεγχο μεταξύ του σφάλματος της ταξινόμησης GenClass-GE (GE_{err} : μέση τιμή = 1,93%, τυπική απόκλιση = 1,13%) και της κατάτμησης εικόνας (S_{err} : μέση τιμή = 2,08%, τυπική απόκλιση = 1,18%) παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.9 και δείχνει ότι αυτή η διαφορά του 0,15%, (95% CI [0,15, 0,29]) είναι στατιστικά σημαντική ($t(27) = 2,272$, $p = 0,032$). Όσον αφορά τους υπόλοιπους ελέγχους σχετικά με τα σφάλματα μεταξύ των συνολικά πέντε ταξινομητών, δεν διαπιστώνονται στατιστικά σημαντικές διαφορές.



Εικόνα 4.9. Απεικόνιση του διαγράμματος διασποράς και των αποτελεσμάτων των t-test κατά ζεύγη δύο δειγμάτων που συγκρίνουν τις επιδόσεις ποσοτικοποίησης λίπους για καθέναν από τους τέσσερις αλγορίθμους ταξινόμησης (SVM_{err} , $C4.5_{err}$, $k - NN_{err}$ και NB_{err}) με τη μέθοδο GE_{err} . Ο αστερίσκος (*) υποδεικνύει σημαντικά διαφορετικές τιμές $p < 0,05$, ενώ το ns μη-σημαντικά διαφορετικές τιμές.

4.2 Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Ήπαρ με Τεχνικές Βαθιάς Μάθησης

Στην παρούσα εργασία εισάγεται μια νέα μεθοδολογία [1] και η επέκτασή της [2] που αξιοποιεί τα συνελκτικά νευρωνικά δίκτυα (Convolutional Neural Networks - CNNs) για την ταξινόμηση διαφόρων δομών του ήπατος σε εικόνες βιοψίας. Στην ανάλυση ιατρικών εικόνων, οι αρχιτεκτονικές CNN με τις κατάλληλες παραμέτρους εκπαίδευσης έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στην αυτόματη εξαγωγή των κατάλληλων χαρακτηριστικών, ξεπερνώντας

τους περιορισμούς των προκαθορισμένων διανυσμάτων χαρακτηριστικών στις παραδοσιακές τεχνικές μηχανικής μάθησης. Το προτεινόμενο βαθύ δίκτυο αποσκοπεί στην επίλυση ενός προβλήματος ταξινόμησης τεσσάρων ιστολογικών ευρημάτων, όπου οι ασθενικές κλάσεις είναι τα διογκωμένα ηπατοκύτταρα και τα σταγονίδια λίπους, ενώ τα κολποειδή και οι φλέβες είναι οι αντίστοιχες υγιείς. Η μέθοδος ταξινόμησης θα μπορούσε ενδεχομένως να ενσωματωθεί σε μια ολοκληρωμένη μεθοδολογία για τον υπολογισμό των αναλογιών λίπους και κυτταρικής διόγκωσης, προσφέροντας μια εκτεταμένη αξιολόγηση της κλινικής κατάστασης NAFLD-NASH ενός ασθενούς.

4.2.1 Υλικά και μέθοδοι

Η τρέχουσα μελέτη προτείνει μια μέθοδο δύο σταδίων για τον αυτόματο χαρακτηρισμό των τεσσάρων προαναφερθέντων ιστολογικών αντικειμένων:

1. Αποκοπή ενός επαρκούς αριθμού δειγμάτων εκπαίδευσης από ψηφιοποιημένες WSIs βιοψίας ήπατος που υποδεικνύουν κυτταρικές διογκώσεις, φυσαλίδες λίπους, κολποειδή και φλέβες.
2. Εκπαίδευση δύο συνελικτικών νευρωνικών δικτύων με την ίδια αρχιτεκτονική αλλά με διαφορετικούς αλγορίθμους οπισθοδιάδοσης σφάλματος και αξιολόγηση των επιδόσεων ταξινόμησής τους σε πολλαπλές εικόνες δοκιμής-ελέγχου. Επίσης, γίνεται εφαρμογή της μεταφοράς μάθησης (transfer learning) σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN και σύγκριση της απόδοσης ταξινόμησής τους με αυτήν της νέας τοπολογίας CNN. Τέλος, η απόδοση της προτεινόμενης αρχιτεκτονικής συγκρίνεται με την αντίστοιχη ενός συμβατικού τεχνητού νευρωνικού δικτύου.

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Για την εκπαίδευση των βαθιών ταξινομητών, μεμονωμένα ιστολογικά δείγματα εξάγονται από τις εικόνες 20× και 40× της βάσης δεδομένων βιοψίας ήπατος (βλ. Ενότητα 2.2.1) χρησιμοποιώντας ένα εργαλείο αποκοπής (cropping tool). Εξάγονται συνολικά 720 υγιείς και ασθενικές δομές, σχηματίζοντας ένα ισορροπημένο σύνολο επιθεμάτων εικόνας (image patches) με 180 δείγματα ανά ηπατική κλάση, καθεμία από τις οποίες αποθηκεύεται σε ξεχωριστό φάκελο. Σύμφωνα με αυτό, σε κάθε εξαχθείσα μικροσκοπική δομή αποδίδεται μια ετικέτα αναγνώρισης: α) διογκωμένο ηπατοκύτταρο → ‘ballooning’, β) λίπος → ‘fat’, γ) κολποειδές → ‘sinusoid’ και δ) φλέβα → ‘vein’. Στη συνέχεια, το σύνολο δεδομένων χωρίζεται περαιτέρω σε υποσύνολα εκπαίδευσης (training)/επικύρωσης (validation)/δοκιμής (testing), αποτελούμενα από 620, 60 και 40 δομές, αντίστοιχα, ώστε να καταστεί δυνατή η αποτελεσματική εκπαίδευση και αξιολόγηση κάθε βαθύ μοντέλου.

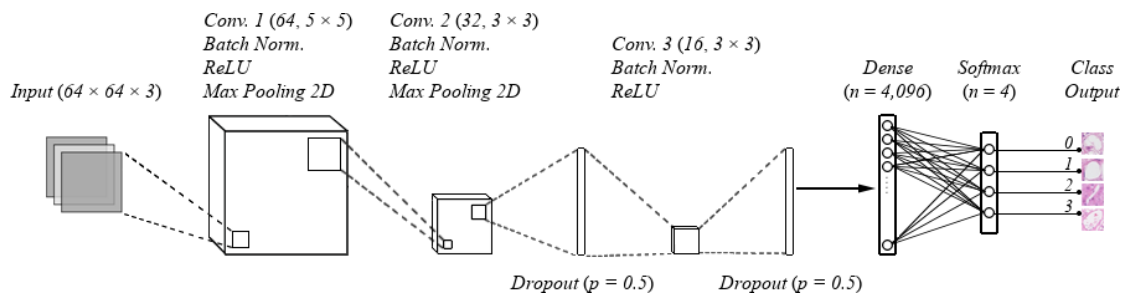
Κατασκευή μοντέλου συνελικτικού νευρωνικού δικτύου

Σε αυτό το σημείο, ορίζεται μια αρχιτεκτονική CNN για την εξαγωγή των πιο πληροφοριακών χαρακτηριστικών από τις ιστολογικές δομές βιοψίας. Οι υπολογισμοί συνέλιξης επιταχύνονται με τη χρήση μιας NVIDIA GeForce GTX 1050 Ti GPU, μιας δημοφιλούς τεχνικής καταναμημένου υπολογισμού που επιτρέπει τη γρήγορη εκπαίδευση βαθέων νευρωνικών δικτύων. Η Εικόνα 4.10 απεικονίζει τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε κάθε επίπεδο της προτεινόμενης αρχιτεκτονικής CNN.

Αρχικά, στο επίπεδο εισόδου, κάθε επίθεμα εικόνας αλλάζει σε μέγεθος $64 \times 64 \times 3$ εικονοστοιχείων (πλάτος, ύψος, βάθος) με τη μέθοδο της δικυβικής παρεμβολής (bicubic interpolation). Δεδομένου ότι αυτό δημιουργεί έναν μεγάλο αριθμό συνδέσεων με βάρη ($n = 12.288$) για τη μοντελοποίηση των δεδομένων εικόνας, χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές μείωσης της διαστασιμότητας στα επόμενα επίπεδα συνέλιξης:

1. Στο πρώτο επίπεδο συνέλιξης, ορίζονται 64 φίλτρα με μέγεθος πυρήνα 5×5 για την ανίχνευση χαρακτηριστικών “χαμηλού επιπέδου”, όπως οι ακμές, από τα ακατέργαστα δεδομένα της εικόνας. Για παράδειγμα, μπορεί αρχικά να προσδιοριστεί η ποσότητα των καθαρών λευκών εικονοστοιχείων που χαρακτηρίζουν είτε κυκλικά λιποκύτταρα είτε ακανόνιστου σχήματος κολποειδή. Σε κάθε πράξη συνέλιξης χρησιμοποιείται η μηδενική συμπλήρωση (zero-padding) για να διατηρηθεί ένα μέγεθος εξόδου ίσο με την είσοδο κάθε πυρήνα φίλτρου [117]. Στη συνέχεια εφαρμόζεται κανονικοποίηση παρτίδας (batch normalization) για την ομαλοποίηση των τιμών της συνέλιξης, μαζί με τη συνάρτηση διορθωμένης γραμμικής μονάδας ReLU, μια μη-γραμμική συνάρτηση ενεργοποίησης, η οποία θεωρείται ιδανική για την ελαχιστοποίηση του προβλήματος εξαφάνισης της κατάβασης κλίσης [118]. Ωστόσο, οι ReLU μπορούν να προκαλέσουν υπερμοντελοποίηση (overfitting) λόγω του άπειρου ορίου τους στη θετική πλευρά $f(x) = \max(0, x)$. Για τον μετριασμό αυτού του προβλήματος, χρησιμοποιείται η τεχνική της μέγιστης συγκέντρωσης (max-pooling) με βήμα 2 για την επιστροφή της μέγιστης τιμής σε ένα πλέγμα 2×2 εικονοστοιχείων και τη μείωση του χωρικού μεγέθους της αναπαράστασης των δεδομένων της εικόνας [119].
2. Στο δεύτερο επίπεδο συνέλιξης, χρησιμοποιούνται 32 φίλτρα με μέγεθος πυρήνα 3×3 για την ανίχνευση χαρακτηριστικών “υψηλότερου επιπέδου” σε κάθε ιστολογικό αντικείμενο ήπατος, όπως διογκωμένα ηπατοκύτταρα και πολλαπλά εικονοστοιχεία που υποδεικνύουν ερυθρά αιμοσφαίρια στις ηπατικές φλέβες. Η ομαδοποίηση παρτίδας, η ενεργοποίηση ReLU και η μέγιστη συγκέντρωση εφαρμόζονται όπως και προηγουμένως, ενώ η συνάρτηση dropout με πιθανότητα 0,5 χρησιμοποιείται για την αποφυγή της υπερμοντελοποίησης απενεργοποιώντας τις μισές ενεργοποιήσεις των νευρώνων στο τρέχον επίπεδο συνέλιξης [120].

3. Στο τρίτο επίπεδο συνέλιξης, ο στόχος είναι να αναδειχθούν τα διασυνδεδεμένα ει-
κονοστοιχεία που μπορούν να βοηθήσουν στη διάκριση των χαρακτηριστικών υφής
μεταξύ των τεσσάρων ιστολογικών δομών που μελετώνται. Για να επιτευχθεί αυτό,
χρησιμοποιούνται 16 φίλτρα με μέγεθος πυρήνα 3×3 . Σε αντίθεση με το προηγ-
ούμενο επίπεδο, δεν εφαρμόζεται η μέγιστη συγκέντρωση, παρά μόνο η dropout και η
διαδικασία εκπαίδευσης προχωρά στο πλήρως συνδεδεμένο επίπεδο (fully-connected
layer).
4. Το πλήρως συνδεδεμένο επίπεδο αποτελείται από ένα πυκνό (dense) επίπεδο με 4096
πεπλατυσμένες (flattened) μονάδες/νευρώνες που συγκεντρώνουν τα φιλτραρισμένα
ανατομικά χαρακτηριστικά που λαμβάνονται από τα τρία διαδοχικά (sequential) ε-
πίπεδα συνέλιξης. Αυτοί οι νευρώνες συνδέονται στη συνέχεια με το τελικό επίπεδο
softmax. Οι συνδέσεις του πυκνού επιπέδου και του επιπέδου softmax δρουν παρόμοια
με ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο Πολυεπίδου Αντίληπτρου (Multilayer Perceptron
- MLP), με τη συνάρτηση softmax να χρησιμοποιείται για την λήψη κατανομών πιθα-
νότητας κατά την πρόβλεψη των τεσσάρων ηπατικών κλάσεων [121].



Εικόνα 4.10. Σχεδιασμός μιας νέας/προσαρμοσμένης (custom) αρχιτεκτονικής CNN για την ταξινόμηση μικροσκοπικών δομών ήπατος, η οποία περιλαμβάνει ένα επίπεδο εισόδου (input) επιθεμάτων εικόνας μεγέθους $64 \times 64 \times 3$, τρία επίπεδα συνέλιξης (convolution) και ένα πλήρως συνδεδεμένο επίπεδο αποτελούμενο από ένα πυκνό επίπεδο (dense) 4096 μονάδων/νευρώνων. Η συνάρτηση ενεργοποίησης softmax χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την εξαγωγή πιθανοτήτων ταξινόμησης για καθεμία από τις τέσσερις ηπατικές κλάσεις (0 → ‘ballooning’, 1 → ‘fat’, 2 → ‘sinusoid’, 3 → ‘vein’).

Εφαρμοσμένοι αλγόριθμοι βελτιστοποίησης

Σε αυτή την ενότητα, συζητούνται εν συντομία διάφορες τιμές παραμέτρων που ορίζονται σε δύο σύγχρονους αλγορίθμους οπισθοδιάδοσης σφάλματος (backpropagation) για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας εκπαίδευσης. Ο πρώτος εφαρμοζόμενος βελτιστοποιητής είναι ο αλγόριθμος προσαρμοστικής εκτίμησης ροπής (Adaptive moment estimation - Adam), ο οποίος προσεγγίζει την πρώτη (μέση τιμή) και τη δεύτερη (μη-επικεντρωμένη διακύμανση) ροπή των κλίσεων (gradients) για τον υπολογισμό προσαρμοστικών ρυθμών μάθησης (learning rates) ανά παράμετρο εκπαίδευσης [122]. Οι ενημερωμένες παράμετροι του CNN μοντέλου υπολογίζονται ως εξής:

$$\theta \leftarrow \theta - \frac{\varepsilon}{\sqrt{\hat{r}} + \delta} \hat{s} \quad (4.1)$$

όπου θ είναι οι παράμετροι του μοντέλου, ε ο αρχικός ρυθμός μάθησης που έχει οριστεί στο $1e-3$ (0,001), \hat{s} και \hat{r} οι εκτιμήσεις της πρώτης και δεύτερης ροπής των κλίσεων, αντίστοιχα και δ μια μικρή σταθερά που ορίζεται στο 10^{-8} για να αποφευχθεί η διαίρεση με το μηδέν. Η εκτίμηση της δεύτερης ροπής \hat{r} είναι ένας εκθετικός κινούμενος μέσος όρος των τετραγωνικών κλίσεων με ρυθμό διάσπασης 0,99. Αυτό βοηθά στην επιβολή κυρώσεων στα μεγάλα βάρη και στη σταθεροποίηση των ενημερώσεων [123].

Γενικά, ο αλγόριθμος Adam παρέχει μια αποτελεσματική μέθοδο βελτιστοποίησης που μπορεί να χειριστεί αραιές κλίσεις. Ρυθμίζοντας προσαρμοστικά τους ρυθμούς μάθησης για κάθε παράμετρο, επιτρέπει ταχύτερη σύγκλιση προς το ολικό ελάχιστο της συνάρτησης απώλειας με χαμηλές απαιτήσεις μνήμης.

Η δεύτερη λύση βελτιστοποίησης είναι ο αλγόριθμος στοχαστικής κατάβασης κλίσης με ορμή (Stochastic Gradient Descent with Momentum - SGDM), ο οποίος συσσωρεύει έναν εκθετικά σταθμισμένο μέσο όρο των προηγούμενων κλίσεων για να διατηρήσει την κατευθυντικότητα κατά τη διάρκεια των ενημερώσεων [123]. Ο γενικός κανόνας ενημέρωσης έχει ως εξής:

$$\begin{aligned} m &\leftarrow \beta m + \varepsilon \nabla_{\theta} J(\theta) \\ \theta &\leftarrow \theta - m \end{aligned} \quad (4.2)$$

όπου m είναι η συσσωρευμένη ορμή και β μια υπερπαράμετρος $[0, 1]$ που ορίζεται στο 0,9 για να αποτρέψει την ορμή από το να κινηθεί πολύ γρήγορα και να υπερβεί το ελάχιστο της συνάρτησης απώλειας. Τα ενημερωμένα βάρη του δικτύου, που συμβολίζονται με θ , λαμβάνονται στη συνέχεια αφαιρώντας την κλίση της συνάρτησης απώλειας $J(\theta)$ ως προς τα βάρη, που συμβολίζονται με $\nabla_{\theta} J(\theta)$, πολλαπλασιασμένη με ένα σταθερό ρυθμό μάθησης ε που ορίζεται στο 0,001 [117].

4.2.2 Αποτελέσματα

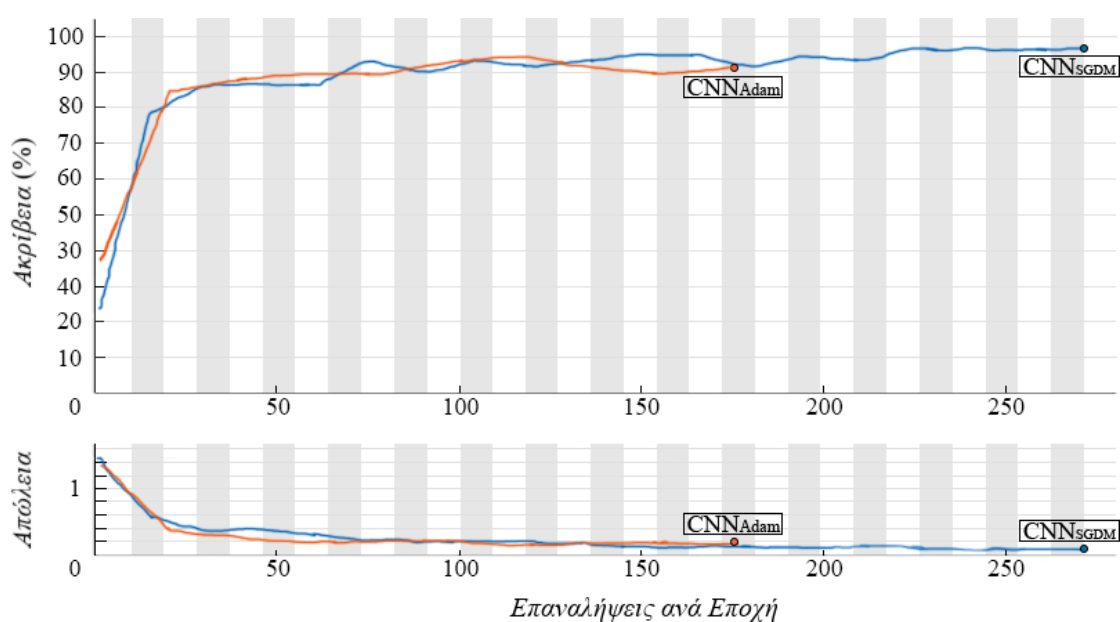
Το προτεινόμενο μοντέλο CNN εκπαιδεύεται χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικούς βελτιστοποιητές, τον Adam για την πρώτη διαδικασία και τον SGDM για τη δεύτερη. Στην παρούσα ενότητα αξιολογείται η απόδοση του νέου μοντέλου στο σύνολο επικύρωσης ($n = 60$) και η ακρίβεια ταξινόμησής του στο σύνολο δοκιμής ($n = 40$). Διερευνάται επίσης η επίδραση των δύο αλγορίθμων βελτιστοποίησης στην απόδοση του βαθύ ταξινομητή και προσδιορίζεται ο

βέλτιστος. Σε μεταγενέστερο στάδιο, η απόδοση του προσαρμοσμένου δικτύου συγκρίνεται με εκείνη γνωστών προ-εκπαιδευμένων αρχιτεκτονικών CNN με τη χρήση της μεταφοράς μάθησης, καθώς και με την αντίστοιχη ενός συμβατικού νευρωνικού δικτύου MLP.

Αποτελέσματα εκπαίδευσης και επικύρωσης

Μετά τον ορισμό της νέας τοπολογίας CNN, η προσοχή στρέφεται στη διαδικασία εκπαίδευσης, η οποία έχει οριστεί να διαρκέσει 30 εποχές (epochs). Κάθε εποχή περιλαμβάνει έναν πλήρη κύκλο σε ολόκληρο το σύνολο εκπαίδευσης, το οποίο αποτελείται από 620 δείγματα. Επίσης, για να εισαχθεί κάποια μεταβλητότητα και να αποφευχθεί η υπερμοντελοποίηση, εφαρμόζεται μια ανακατάταξη των δεδομένων εκπαίδευσης στην αρχή κάθε εποχής.

Στην Εικόνα 4.11 παρουσιάζεται μια σύγκριση των γραφημάτων επικύρωσης που λαμβάνονται κατά τη διαδικασία εκπαίδευσης με τους δύο βελτιστοποιητές που αναλύθηκαν. Η εκπαίδευση εκτελείται για έναν μέγιστο αριθμό 270 επαναλήψεων, κατά τη διάρκεια των οποίων υπολογίζεται η ακρίβεια των δεδομένων επικύρωσης. Τονίζεται ότι αυτό το υποσύνολο δεδομένων δεν χρησιμοποιείται για την ενημέρωση των βαρών του δικτύου, αλλά για να εκτιμηθεί εάν το μοντέλο πάσχει είτε από υπερμοντελοποίηση είτε από υπομοντελοποίηση (underfitting). Τέλος, τίθεται μια τιμή υπομονής επικύρωσης (validation patience) ίση με 3 για να διακοπεί η διαδικασία εκπαίδευσης εάν παραχθεί η ίδια τιμή ακρίβειας τουλάχιστον τρεις φορές, υποδεικνύοντας ότι το CNN έχει μάθει επαρκώς από τα δεδομένα εικόνας.



Εικόνα 4.11. Γραφήματα επικύρωσης κατά την εκπαίδευση του προσαρμοσμένου μοντέλου CNN. Ο βελτιστοποιητής SGDM παράγει μια πιο βέλτιστη ακρίβεια επικύρωσης (96,5%) σε σύγκριση με τον Adam (91,7%). Οι συνοδευτικές γραμμές κάτω από κάθε γράφημα δείχνουν την υπολογιζόμενη απώλεια, η οποία αντιστοιχεί στη συνάρτηση απώλειας που χρησιμοποιείται κατά την εκπαίδευση.

Σύμφωνα με την Εικόνα 4.11, το γράφημα επικύρωσης του CNN_{Adam} δείχνει ότι η διαδικασία εκπαίδευσης του νευρωνικού δικτύου συγκλίνει στην 162η επανάληψη, η οποία αποτελεί ένα συνδυαστικό αποτέλεσμα της υπερμοντελοποίησης και της παραγωγής τριών παρόμοιων τιμών επικύρωσης της τάξης του 91,7%. Αντίθετα, το γράφημα του CNN_{SGDM} δείχνει ότι ο βελτιστοποιητής SGDM αποδίδει καλύτερα, καθώς ο βαθύς ταξινομητής ολοκληρώνει τη διαδικασία μάθησης και για τις 30 εποχές και παράγει υψηλότερη τιμή επικύρωσης 96,7%.

Αν και το CNN_{Adam} αποδίδει καλύτερα από το CNN_{SGDM} στο πρώτο βήμα επικύρωσης (CNN_{Adam} : 85%, CNN_{SGDM} : 78%), είναι κατώτερο στις επόμενες επικυρώσεις λόγω υπερμοντελοποίησης στα δεδομένα εκπαίδευσης. Τα ευρήματα αυτά συνάδουν με άλλα δημοσιευμένα συμπεράσματα [124, 125], τα οποία δείχνουν ότι οι προσαρμοστικοί αλγόριθμοι μπορούν να επιταχύνουν τους CNN υπολογισμούς χρησιμοποιώντας ένα διάνυσμα μεταβαλλόμενων ρυθμών μάθησης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκπαίδευσης, ενώ οι βελτιστοποιητές SGD βασίζονται σε έναν σταθερό ρυθμό μάθησης [125]. Αυτές οι μελέτες υπογραμμίζουν ότι ακόμη και με μικρό αριθμό παρτίδων (64 επιθέματα εικόνας στη παρούσα μελέτη), ο Adam δεν βρίσκει λύσεις των οποίων η απόδοση ανταποκρίνεται στην τελευταία λέξη της τεχνολογίας (State-of-the-Art), ιδίως όταν το σύνολο δεδομένων είναι σχετικά μικρό και το μοντέλο δεν είναι πολύ βαθύ.

Έχει αποδειχθεί επίσης ότι οι προσαρμοστικοί ρυθμοί μάθησης του Adam μπορεί μερικές φορές να οδηγήσουν σε υπερευαισθησία σε θορυβώδεις κλίσεις και στη προκειμένη περίπτωση σε μη-βέλτιστη σύγκλιση. Επιπλέον, η εκτίμηση της δεύτερης ροπής του Adam μπορεί να προκαλέσει μεροληψία (bias) προς μικρότερες ενημερώσεις, η οποία μπορεί να μην είναι ιδανική για ορισμένα μοντέλα ή σύνολα δεδομένων. Από την άλλη πλευρά, οι βελτιστοποιητές τύπου SGD είναι πιο αποτελεσματικοί στο να αποτρέπουν την εμπλοκή του μοντέλου σε τοπικά ελάχιστα. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα κατάλληλοι για συστήματα με επαρκείς υπολογιστικούς πόρους, καθώς τείνουν να παρέχουν καλύτερες επιδόσεις σε σενάρια που περιλαμβάνουν μεγάλα ή πολύπλοκα σύνολα δεδομένων και μοντέλα με μεγάλο αριθμό παραμέτρων.

Αποτελέσματα δοκιμής

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας, η απόδοση των δύο εκπαιδευμένων μοντέλων CNN_{Adam} και CNN_{SGDM} αξιολογείται σε 40 ηπατικές δομές (10 ανά κλάση) από το σύνολο δοκιμής. Για την ταξινόμηση μιας εικόνας εισόδου που αναπαρίσταται από ένα διάνυσμα x σε μια κλάση $y \in \{\text{'ballooning'}, \text{'fat'}, \text{'sinusoid'}, \text{'vein'}\}$ χρησιμοποιείται η συνάρτηση softmax [123], η οποία εξάγει μια κατανομή πιθανότητας στις κλάσεις εντός ενός διαστήματος εμπιστοσύνης $[0, 1]$, όπως ορίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{softmax}(x)_i = \frac{\exp(x_i)}{\sum_{j=1}^n \exp(x_j)} = P(y = i|x) \quad (4.3)$$

Η συνάρτηση softmax, συνοδεύεται συνήθως από τη συνάρτηση απώλειας διασταυρωμένης εντροπίας (cross-entropy), η οποία μετρά τη διαφορά μεταξύ των προβλεπόμενων πιθανοτήτων και των πραγματικών ετικετών κλάσης χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$L_i = - \sum_{j=1}^n y_{ij} \log(\text{softmax}(x_i)_j) \quad (4.4)$$

όπου y_{ij} είναι μια δυαδική μεταβλητή δείκτη που είναι 1 εάν η παρατήρηση i ανήκει στην κλάση j και 0 διαφορετικά. Με την συνάρτηση απώλειας διασταυρούμενης εντροπίας το μοντέλο τιμωρείται αυστηρότερα για εσφαλμένες αναθέσεις κλάσεων, ενθαρρύνοντάς το να αποδίδει υψηλότερες πιθανότητες στις σωστές κλάσεις.

Στο τέλος της διαδικασίας δοκιμής, υπολογίζεται η ακρίβεια ταξινόμησης για κάθε μεμονωμένη ηπατική κλάση, καθώς και άλλες στατιστικές μετρήσεις από την έκθεση ταξινόμησης, όπως η μέση ακρίβεια (accuracy), η πιστότητα (precision), η ανάκληση/ευαισθησία (recall/sensitivity) και η κατανομή-F1. Λεπτομέρειες σχετικά με αυτές τις μετρήσεις παρέχονται στον Πίνακα 4.4.

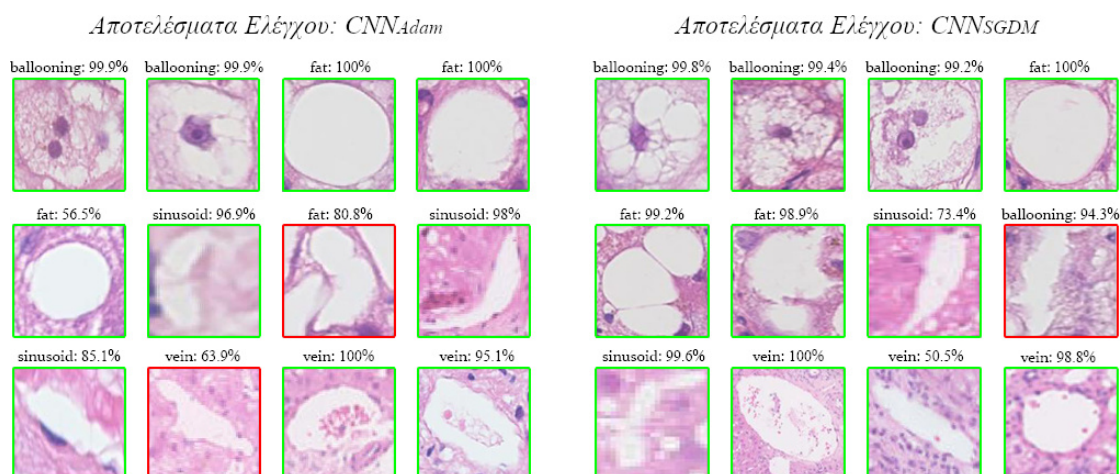
Πίνακας 4.4: Έκθεση ταξινόμησης δομών ήπατος για το προσαρμοσμένο μοντέλο CNN

Βαθύ Μοντέλο	Ακρίβεια Ηπατικής Κλάσης (%)				Μέσες Μετρήσεις Απόδοσης (%) ¹			
	Ballooning	Fat	Sinusoid	Vein	Ακρίβεια	Πιστότητα	Ανάκληση	Κατανομή-F1
CNN _{Adam}	100	100	70	100	92,5	93,6	92,5	93
CNN _{SGDM}	90	100	90	100	95	95	95	95

¹ Μέσες τιμές ταξινόμησης για τα CNN_{Adam} και CNN_{SGDM} μοντέλα

Παραδείγματα αποτελεσμάτων δοκιμής σε επιθέματα εικόνας παρουσιάζονται στην Εικόνα 4.12 με την εκτιμώμενη πιθανότητα ταξινόμησης για κάθε ιστολογική κλάση. Στις περισσότερες περιπτώσεις παρουσιάζονται ακριβή αποτελέσματα διάκρισης για τα τέσσερα αντικείμενα ηπατικού ιστού, με λανθασμένες ταξινομήσεις να παρατηρούνται για ορισμένα κολποειδή. Ωστόσο, και τα δύο νευρωνικά δίκτυα αναγνωρίζουν με επιτυχία τα διογκωμένα ηπατοκύτταρα και τα σταγονίδια λίπους, που χαρακτηρίζουν δύο από τις πιο διαδεδομένες ηπατικές παθήσεις, με υψηλά επίπεδα εμπιστοσύνης. Αυτό επαληθεύεται από τον Πίνακα 4.4 που δείχνει ότι οι ταξινομητές είναι πιο σταθεροί στον χαρακτηρισμό των διογκωμένων ηπατοκυττάρων, ενώ διακρίνουν με επιτυχία κυκλικές δομές που δεν αναφέρονται πάντα σε στεατωτικά λιποκύτταρα, αλλά σε ηπατικές φλέβες λόγω της παρουσίας ερυθρών αιμοσφαιρίων.

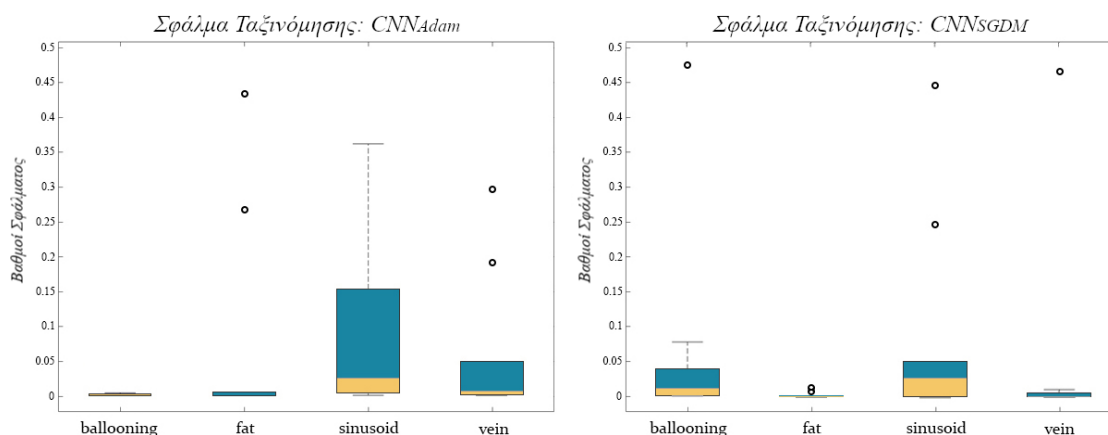
Ο Πίνακας 4.4 παρέχει πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τις επιδόσεις των δύο ταξινομητών, συμπεριλαμβανομένων των μέσων τιμών πιστότητας και ανάκλησης. Το CNN_{Adam} έχει χαμηλότερη τιμή ανάκλησης (92,5%) αλλά υψηλότερη πιστότητα (93,6%), γεγονός που υποδηλώνει ότι αποτυγχάνει σε ορισμένα αληθώς θετικά δείγματα και παράγει περισσότερα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Η Εικόνα 4.12 παρουσιάζει παραδείγματα εσφαλμένων ταξινομήσεων από το CNN_{Adam}, συμπεριλαμβανομένων δύο εσφαλμένων χαρακτηρισμών κολποειδών. Αντίθετα, το CNN_{SGDM} επιτυγχάνει ισορροπημένα ποσοστά πιστότητας και ανάκλησης (95%), με αποτέλεσμα περισσότερες αληθώς θετικές προβλέψεις. Η τιμή κατανομής-F1, που αντιπροσωπεύει τον αρμονικό μέσο όρο της πιστότητας και της ανάκλησης, χρησιμοποιείται για σκοπούς επαλήθευσης. Παρέχει στα μοντέλα ταξινόμησης μια καταλληλότερη βαθμολογία από ό,τι ένας κοινός αριθμητικός μέσος όρος, καθώς συγκλίνει πιο κοντά στον μικρότερο αριθμό εάν μια μετρική φέρει χαμηλότερη τιμή. Το CNN_{Adam} σημειώνει 93% στην κατανομή-F1, ενώ το CNN_{SGDM} λαμβάνει υψηλότερη βαθμολογία 95% λόγω της πλήρως ισορροπημένης απόδοσής του.



Εικόνα 4.12. Προβλέψεις του προσαρμοσμένου μοντέλου CNN σε διάφορες ηπατικές δομές. Οι ταξινομήσεις γίνονται σε τυχαία επιθέματα εικόνας και συνοδεύονται από την εκτιμώμενη τιμή της κατανομής πιθανότητας softmax (%). Όλες οι εσφαλμένες ταξινομήσεις επισημαίνονται με κόκκινο χρώμα και αφορούν τα κολποειδή. Αυτές οι πολύπλοκες ιστολογικές δομές θα πρέπει να αποκλείονται ως ασθενικά ευρήματα σε μελλοντικές μεθοδολογίες εντοπισμού ιστολογικών αντικειμένων.

Το θηκόγραμμα (boxplot) έχει καταστεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την γρήγορη ανάλυση της απόδοσης των μοντέλων ταξινόμησης με την εμφάνιση μια σύνοψης 5 αριθμών (ελάχιστη και μέγιστη τιμή εύρους, άνω και κάτω τεταρτημόριο και διάμεσος) [126]. Η Εικόνα 4.13 δείχνει ότι στην κλάση των κολποειδών, τόσο το νευρωνικό δίκτυο CNN_{Adam} όσο και το CNN_{SGDM} παρουσιάζουν συγκριτικά μεγαλύτερο ενδοτεταρτημοριακό εύρος (Inter-Quartile Range - IQR), γεγονός που οδηγεί σε υψηλότερες τιμές σφάλματος που προκύπτουν από το $Q3 + 1,5 * IQR$ σε σύγκριση με άλλες δομές του ηπατικού ιστού. Επιπροσθέτως, δύο ψευδώς θετικές ταξινομήσεις κολποειδών στο CNN_{Adam} ως ηπατικές φλέβες

οδηγούν σε υψηλότερη μεταβλητότητα σφάλματος για την αντίστοιχη κλάση φλεβών. Ομοίως, το διάγραμμα του μοντέλου CNN_{SGDM} απεικονίζει μία εσφαλμένη ταξινόμηση ενός διογκωμένου ηπατοκυττάρου ως κολποειδές (ψευδώς θετικό) και μία άλλη όπου ένα κολποειδές ταξινομείται εσφαλμένα ως περιοχή διόγκωσης (ψευδώς αρνητικό), αυξάνοντας έτσι το ενδοτεταρτημοριακό εύρος για τις δύο κλάσεις.



Εικόνα 4.13. Οπτικοποίηση του σφάλματος πρόβλεψης για κάθε ηπατική κλάση που παράγεται από τα βαθιά μοντέλα CNN_{Adam} και CNN_{SGDM} με θηκογράμματα. Τα δύο διαγράμματα αποκαλύπτουν ότι οι κλάσεις με υψηλότερη ακρίβεια έχουν μέσο σφάλμα πρόβλεψης κοντά στο μηδέν και μικρότερη διακύμανση, όπως φαίνεται στο δεύτερο τεταρτημόριο που βρίσκεται στο όριο μεταξύ των δύο χρωμάτων. Οι ακραίες τιμές (outliers) επισημαίνονται με μαύρους κύκλους, υποδεικνύοντας μεγαλύτερες από το κανονικό τιμές σφάλματος που ενδέχεται να επηρεάσουν τη συνολική παρατήρηση των δεδομένων.

Σύγκριση απόδοσης με προ-εκπαιδευμένα CNN μοντέλα

Στο επόμενο βήμα, η απόδοση του βέλτιστου ταξινομητή CNN_{SGDM} συγκρίνεται με δύο ευρέως χρησιμοποιούμενα προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN. Αυτά αφορούν το 8-επιπέδων AlexNet [127] και το βαθύτερο 16-επιπέδων VGG-16 [128], τα οποία έχουν επιδείξει υψηλή ικανότητα ταξινόμησης τα τελευταία χρόνια. Για την προσαρμογή τους στο τρέχον πρόβλημα της ταξινόμησης τεσσάρων ιστολογικών αλλοιώσεων, εφαρμόζεται η μεταφορά μάρτησης για την ενημέρωση των βαρών σε όλα τα επίπεδα των μοντέλων. Για το AlexNet, το μέγεθος των επιθεμάτων εικόνας βιοψίας αλλάζει σε $227 \times 227 \times 3$ εικονοστοιχεία και το επίπεδο εξόδου μεταβάλλεται για την εξαγωγή των softmax πιθανοτήτων για τις τέσσερις ιστολογικές δομές. Ομοίως, τα δείγματα εισόδου του VGG-16 αλλάζουν σε μέγεθος $224 \times 224 \times 3$ εικονοστοιχεία και το επίπεδο εξόδου τροποποιείται ανάλογα.

Οι δύο ταξινομητές εκπαιδεύονται για το πολύ 10 εποχές με ρυθμό μάθησης $1e-4$ (0,0001) χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο SGDM για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας εκπαίδευσης. Η υπομονής επικύρωσης ορίζεται σε 3 και τα δίκτυα ολοκληρώνουν την εκπαίδευσή τους σε λιγότερο από 10 εποχές. Ο Πίνακας 4.5 παρουσιάζει μια σύγκριση των ποσοστών ακρίβειας, πιστότητας (θετική προγνωστική αξία - PPV), ανάκλησης και ειδικότητας (αναλογία αληθώς αρνητικών - TNR) που λαμβάνονται από το AlexNet, το VGG-16 και την

εκπαιδευμένη από την αρχή (from scratch) αρχιτεκτονική CNN_{SGDM}. Τα ποσοστά στον πίνακα καταδεικνύουν ότι η αρχιτεκτονική CNN_{SGDM} επιτυγχάνει καλύτερες επιδόσεις ταξινόμησης (ακρίβεια: 95%, πιστότητα: 95%, ανάκληση: 95%, ειδικότητα: 98,3%) από το VGG-16 (ακρίβεια: 94%, πιστότητα: 94,1%, ανάκληση: 94%, ειδικότητα: 98%). Ωστόσο, το AlexNet αναδεικνύεται ως ο βέλτιστος ταξινομητής (ακρίβεια: 97%, πιστότητα: 97%, ανάκληση: 97%, ειδικότητα: 99%).

Σύγκριση απόδοσης με συμβατικό νευρωνικό δίκτυο

Στη συνέχεια, διερευνάται η απόδοση ενός συμβατικού αλγορίθμου τεχνητού νευρωνικού δικτύου, συγκεκριμένα ενός Πολυεπίδεδου Αντίληπτρου (MLP-ANN) με 2 κρυφά επίπεδα, το καθένα με 6 κόμβους. Αυτός ο αλγόριθμος εκπαιδεύεται και δοκιμάζεται στα χαρακτηριστικά του Πίνακα 4.1 που εξάγονται από προεπεξεργασμένες εικόνες του ίδιου συνόλου δεδομένων βιοψίας. Για ακόμη μία φορά, η έξοδος αποτελείται από 4 κόμβους που υποδεικνύουν το πρόβλημα πρόβλεψης των τεσσάρων ιστολογικών δομών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα στον Πίνακα 4.5, το MLP παράγει χαμηλότερα ποσοστά ταξινόμησης από το μοντέλο CNN_{SGDM}, με ακρίβεια, πιστότητα και ανάκληση 90,3% και ειδικότητα: 96,8%.

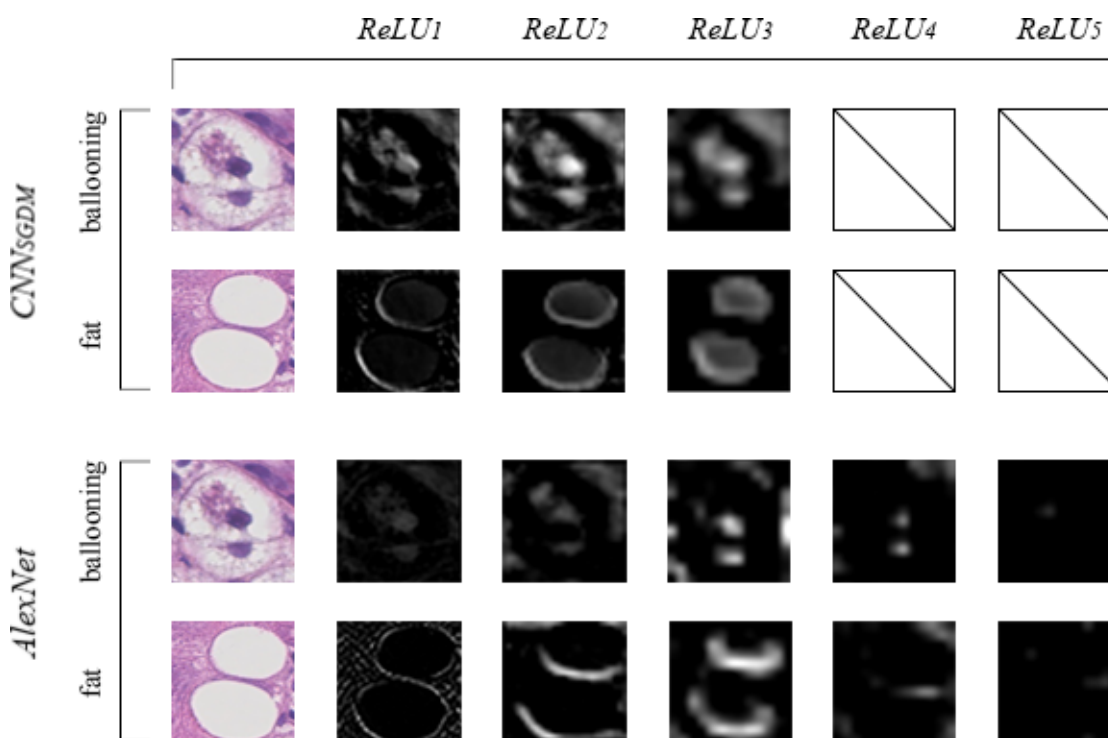
Πίνακας 4.5: Σύγκριση της CNN_{SGDM} απόδοσης με α) προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN και β) έναν συμβατικό ταξινομητή νευρωνικού δικτύου MLP

Βαθύ Μοντέλο	Ακρίβεια	Πιστότητα (PPV)	Ανάκληση (Ευαισθησία)	Ειδικότητα (TNR)
CNN _{SGDM}	95	95	95	98,3
AlexNet	97	97	97	99
VGG-16	94	94,1	94	98
Συμβατικό Μοντέλο	Ακρίβεια	Πιστότητα (PPV)	Ανάκληση (Ευαισθησία)	Ειδικότητα (TNR)
MLP-ANN	90,3	90,3	90,3	96,8

Οπτικοποίηση φιλτραρισμένων ανατομικών χαρακτηριστικών

Αυτή η υποενοότητα αποσκοπεί στη διερεύνηση των προτύπων ενεργοποίησης για τα χαρακτηριστικά των διογκωμένων ηπατοκυττάρων και των σταγονιδίων λίπους στα επίπεδα συνέλιξης των μοντέλων CNN_{SGDM} και AlexNet (Εικόνα 4.14). Ένα βασικό χαρακτηριστικό κάθε φίλτρου συνέλιξης είναι ότι αποσυνθέτει κάθε ιστολογικό δείγμα σε ανεξάρτητους 2D χάρτες χαρακτηριστικών που μοιάζουν με το ίδιο το φίλτρο [117]. Αυτοί οι χάρτες χαρακτηριστικών ελέγχονται στη συνέχεια με τη συνάρτηση ReLU, διασφαλίζοντας ότι φέρουν πάντα θετικές τιμές ενεργοποίησης. Για να βελτιωθεί περαιτέρω η οπτική αναπαράσταση των ενεργοποιήσεων, προτείνεται στη συνάρτηση ReLU μια διαίρεση του τανυστή κλίσης της συνάρτησης απώλειας με την L2 νόρμα του. Αυτό το βήμα κανονικοποιεί το μέγεθος της εξόδου σε ένα κλειστό διάστημα [0, 1], με αποτέλεσμα το μέγεθος όλων των ενεργοποιήσεων να βρίσκεται πάντα στο ίδιο εύρος με κάθε προηγούμενως συνελιγμένη εικόνα [129].

Ως εκ τούτου, οι τελικές αναπαραστάσεις είναι οπτικά πιο ευκρινείς, όπου τα φωτεινά λευκά εικονοστοιχεία αντιπροσωπεύουν ισχυρές θετικές ενεργοποιήσεις και τα καθαρά μαύρα εικονοστοιχεία ισχυρές αρνητικές, αντίστοιχα.



Εικόνα 4.14. Οπτικοποίηση των συναρτήσεων ενεργοποίησης ReLU στα μοντέλα CNN_{SGDM} και AlexNet, τα οποία αποτελούνται από 3 και 5 επίπεδα συνέλιξης, αντίστοιχα. Η απεικόνιση επικεντρώνεται στις ίδιες δομές διόγκωσης ηπατοκυττάρων και σταγονιδίων λίπους για να εξεταστεί η συμπεριφορά των δύο μοντέλων κατά το φιλτράρισμα των δειγμάτων εικόνας. Τα φωτεινότερα εικονοστοιχεία υποδηλώνουν ισχυρότερες ενεργοποιήσεις, αναδεικνύοντας τα πιο πληροφοριακά ανατομικά χαρακτηριστικά.

Η Εικόνα 4.14 δείχνει ότι τόσο το CNN_{SGDM} όσο και το AlexNet ενεργοποιούν αρχικά τις ακμές στη $ReLU_1$ που αποτελούν τη βασική δομή των διογκωμένων ηπατοκυττάρων και των σταγονιδίων λίπους. Και τα δύο δίκτυα εφαρμόζουν την τεχνική μέγιστης συγκέντρωσης στα επίπεδα συνέλιξής τους (CNN_{SGDM} : επίπεδα 1, 2, AlexNet: επίπεδα 1, 2, 5), με το AlexNet να χρησιμοποιεί ένα μέγιστο φίλτρο 3×3 σε όλες τις περιπτώσεις, προκαλώντας μεγαλύτερη θόλωση αλλά μειώνοντας επιπλέον την υπερμοντελοποίηση. Η $ReLU_2$ αναγκάζει και τα δύο δίκτυα να φιλτράρουν χαρακτηριστικά υψηλότερου επιπέδου, βελτιώνοντας τη γενίκευση. Στη $ReLU_3$, οι μη-πληροφοριακές ενεργοποιήσεις εικονοστοιχείων μειώνονται σημαντικά και στα δύο μοντέλα, με το AlexNet να επιδεικνύει υψηλότερη επιλεκτικότητα στο φιλτράρισμα των καμπυλών που περιγράφουν δομές διόγκωσης. Επιτυγχάνει επίσης καλύτερη ταξινόμηση των περιοχών διόγκωσης λόγω των δύο πρόσθετων επιπέδων συνέλιξης και μιας πιο επιλεκτικής ενεργοποίησης των πιο σημαντικών εικονοστοιχείων.

Ενώ τα τρία πρώτα επίπεδα συνέλιξης στο CNN_{SGDM} φαίνεται να φιλτράρουν αποτελεσματικά τα απαραίτητα ιστολογικά χαρακτηριστικά, ο καθορισμός των βέλτιστων παραμέτρων του

μοντέλου παραμένει απαραίτητη προϋπόθεση για την επίτευξη καλύτερης απόδοσης. Αυτό περιλαμβάνει συχνά τη χρήση ευρετικών μεθόδων για τη μείωση της υπερμοντελοποίησης στα δεδομένα εκπαίδευσης, η οποία πραγματοποιείται σε επόμενη εργασία (βλ. Ενότητα 5.2).

4.3 Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας με Τεχνικές Μηχανικής Μάθησης

Σε συνέχεια του σταδίου κατάτμησης εικόνων βιοψίας παγκρέατος που αναλύεται στην Ενότητα 3.2, η παρούσα φάση επικεντρώνεται στην ενίσχυση της ικανότητας ανίχνευσης παγκρεατικού λίπους μέσω της χρήσης τεχνικών προεπεξεργασίας δεδομένων και εποπτευόμενων αλγορίθμων μηχανικής μάθησης [5]. Τα εκπαιδευμένα μοντέλα έχουν ως στόχο την αναγνώριση τεσσάρων ιστολογικών αλλοιώσεων, συγκεκριμένα: 1) μεμονωμένο σταγονίδιο λίπους (single), 2) διπλά-συσσωματωμένο λίπος (double), 3) πολλαπλά-συσσωματωμένο λίπος (multiple) και 4) ιστολογικό τεχνούργημα (artifact). Η Εικόνα 4.15 απεικονίζει τα μεθοδολογικά βήματα που ακολουθούνται για τον αποκλεισμό τυχόν λανθασμένα εντοπιζόμενων υγιών ανατομικών δομών, οι οποίες έχουν συμπεριληφθεί εσφαλμένα ως περιοχές λίπους, από τον υπολογισμό του λόγου στεάτωσης σε μικροσκοπικά δείγματα μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease - NAFPD).

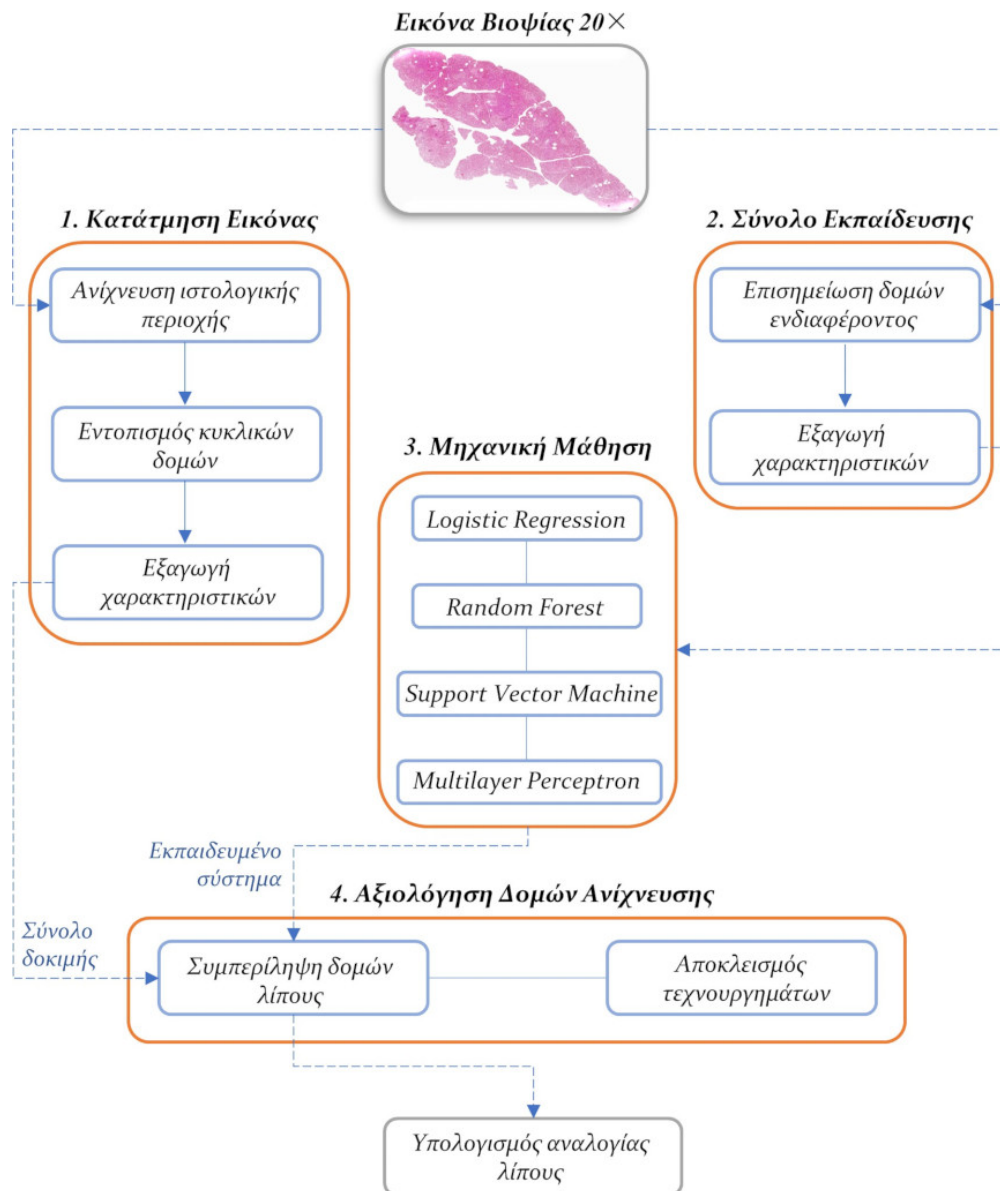
4.3.1 Υλικά και μέθοδοι

Η προτεινόμενη μεθοδολογία χρησιμοποιεί 20 ιστολογικά δείγματα που προέρχονται από τη βάση βιοψίας παγκρέατος (βλ. Ενότητα 2.2.2) ασθενών με οξεία ή χρόνια παγκρεατίτιδα και με διαφορετικούς βαθμούς στεάτωσης. Τα δείγματα συλλέχθηκαν στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Οξφόρδης (Οξφόρδη, Ηνωμένο Βασίλειο) και χρωματίστηκαν ιστολογικά με H&E. Όπως έχει επισημανθεί, για να μειωθεί το μέγεθος των δεδομένων εικόνας και ο χρόνος επεξεργασίας τους, τα χρωματισμένα δείγματα σαρώθηκαν με συντελεστή μεγέθυνσης 20×.

Χαρακτηριστικά εικόνας ως δείγματα εκπαίδευσης

Μετά τη χειροκίνητη επισημείωση των ιστολογικών εναλλαγών στην Ενότητα 3.2.1, τα εξαγόμενα αρχεία XML χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ενός συνόλου δεδομένων για κάθε βιοψία παγκρέατος 20×. Με βάση αυτά, υπολογίζεται ένα διάλυσμα χαρακτηριστικών για κάθε μικροσκοπικό αντικείμενο, το οποίο αντιστοιχεί στις υπολογισμένες στατιστικές ιδιότητες του Πίνακα 4.1. Κατά τη διαδικασία αυτή λαμβάνονται υπόψη οι συντεταγμένες

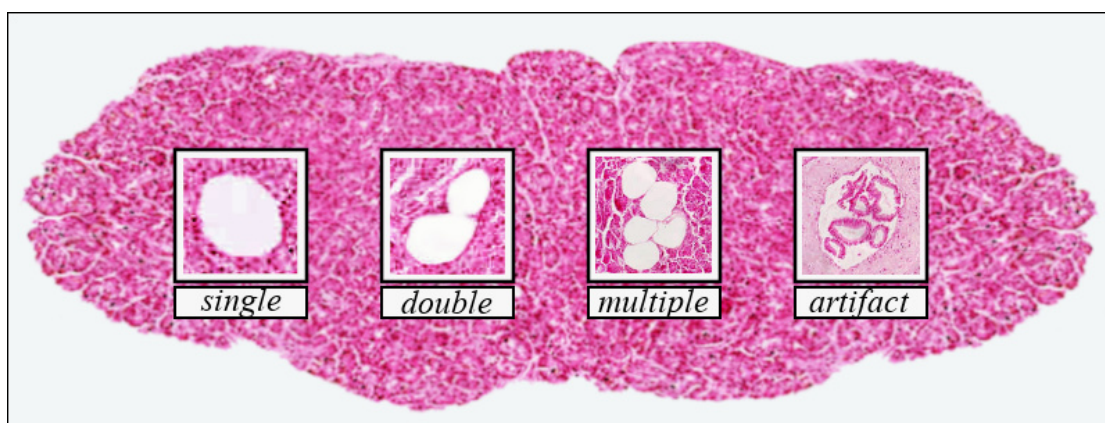
οριοθέτησης (x, y) κάθε μικροσκοπικής δομής στην αρχική εικόνα. Παρόμοια με τη μέθοδο ταξινόμησης του ηπατικού λίπους, η ανάλυση και ο υπολογισμός των τιμών χαρακτηριστικών των επισημειωμένων αντικειμένων πραγματοποιείται στο πράσινο κανάλι του χρωματικού χώρου RGB της βιοψίας H&E. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την εξαγωγή κάθε διανύσματος τιμών χαρακτηριστικών σε ξεχωριστά αρχεία CSV ανά ιστολογική εικόνα ($n = 20$).



Εικόνα 4.15. Διάγραμμα ροής της συμβατικής μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους, η οποία περιλαμβάνει τη χειροκίνητη επισημείωση ιστολογικών αντικειμένων σε εικόνες παγκρέατος και τροφοδότησή τους σε εποπτευόμενους αλγόριθμους μηχανικής μάθησης για την ταξινόμηση προηγούμενης κατατμημένων αντικειμένων ως λίπος και τον διαχωρισμό τους από λοιπά τεχνουργήματα του παγκρεατικού ιστού. Το τελικό βήμα αποσκοπεί στην ποσοτικοποίηση της επικράτησης της στεάτωσης και στη σύγκριση της αυτοματοποιημένης διάγνωσης με τους ημιποσοτικούς βαθμούς στεάτωσης που λαμβάνονται από τις χειροκίνητες επισημειώσεις (Εικόνα 3.12).

Προεξεργασία δεδομένων και μηχανική μάθηση

Για να σχηματιστεί το σύνολο δεδομένων εκπαίδευσης των μοντέλων μηχανικής μάθησης, τα διανύσματα χαρακτηριστικών και των 20 ιστολογικών εικόνων συγκεντρώνονται σε ένα ενιαίο αρχείο CSV. Το αρχείο αυτό περιλαμβάνει συνολικά 5514 επισημειωμένα δείγματα, που κατατάσσονται σε τέσσερες κλάσεις αντικειμένων: 1) 3511 ‘single’, 2) 545 ‘double’, 3) 367 ‘multiple’ και 4) 1091 ‘artifact’ δείγματα (Εικόνα 4.16). Ωστόσο, αυτό οδηγεί σε ένα μη-ισορροπημένο σύνολο δεδομένων, όπου ορισμένες κλάσεις έχουν σημαντικά λιγότερα δείγματα από άλλες. Αυτό μπορεί να προκαλέσει μειωμένη απόδοση στους αλγόριθμους ταξινόμησης, καθώς μπορεί να υπερτονίσουν την κλάση πλειονότητας, οδηγώντας σε χαμηλότερη ακρίβεια κατά την αναγνώριση των κλάσεων μειονότητας.



Εικόνα 4.16. Απεικόνιση των τεσσάρων εξεταζόμενων ιστολογικών αντικειμένων παγκρέατος, οι οποίες αναφέρονται σε διαφορετικούς τύπους εναπόθεσης λίπους: μεμονωμένο λιποκύτταρο (single), διπλά-συσσωματωμένο λίπος (double) και πολλαπλά-συσσωματωμένο λίπος (multiple). Επιπλέον, οι βιοψίες απαρτίζονται από ιστολογικά τεχνουργήματα (artifacts), ως μη-ασθενικές δομές που πρέπει να αποκλειστούν από την ποσοτική μέτρηση της δραστηριότητας NAFPD.

Για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα του μη-ισορροπημένου συνόλου δεδομένων εκπαίδευσης, πρώτα εφαρμόζεται η μέθοδος Grubbs [130] για τον εντοπισμό ακραίων τιμών (outliers) στα δεδομένα επισημείωσης. Η συγκεκριμένη μέθοδος υπολογίζει ένα στατιστικό έλεγχο (test statistic) λαμβάνοντας την απόλυτη διαφορά μεταξύ του ύποπτου σημείου δεδομένων και του μέσου όρου των δειγμάτων διαιρούμενη με την τυπική απόκλιση των δειγμάτων, ως εξής:

$$G = \frac{\max_{i=1, \dots, N} |Y_i - \bar{Y}|}{s} \quad (4.5)$$

όπου τα \bar{Y} και s αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση των δειγμάτων, αντίστοιχα. Εάν η μέγιστη τιμή G για το i -οστό στοιχείο είναι μεγαλύτερη από μια ορισμένη κρίσιμη τιμή, τότε το στοιχείο θεωρείται ακραίο. Η μέθοδος συνεχίζει τη διαδικασία ελέγχου έως ότου δεν εντοπιστούν άλλες ακραίες τιμές.

Μετά τον υπολογισμό του στατιστικού ελέγχου, συγκρίνεται με μια κρίσιμη τιμή από την κατά student κατανομή εύρους (studentized range distribution), η οποία εξαρτάται από το μέγεθος των δειγμάτων και από έναν συντελεστή κατωφλίου ανίχνευσης α . Αυτός ο συντελεστής είναι μια κλιμακωτή τιμή μεταξύ 0 και 1 που καθορίζει το επίπεδο σημαντικότητας για την ανίχνευση ακραίων τιμών. Μια χαμηλότερη τιμή του α αντιστοιχεί σε υψηλότερο επίπεδο σημαντικότητας και έχει ως αποτέλεσμα την ανίχνευση λιγότερων ακραίων τιμών, ενώ μια υψηλότερη τιμή αντιστοιχεί σε χαμηλότερο επίπεδο σημαντικότητας και ανιχνεύει περισσότερες ακραίες τιμές.

Γενικά, η μέθοδος Grubbs χρησιμοποιεί ένα μονόπλευρο τεστ για να καθορίσει αν ένα σημείο δεδομένων είναι ακραίο. Η μηδενική υπόθεση ότι δεν υπάρχουν ακραίες τιμές απορρίπτεται σε ένα επίπεδο σημαντικότητας α εάν η υπολογισμένη τιμή του στατιστικού ελέγχου G είναι μεγαλύτερη από την κρίσιμη τιμή που καθορίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$G > \frac{(N-1)}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{(t_{\alpha/N, N-2})^2}{N-2 + (t_{\alpha/N, N-2})^2}} \quad (4.6)$$

όπου $t_{\alpha/2N, N-2}$ είναι η κρίσιμη τιμή της κατανομής t με $(N-2)$ βαθμούς ελευθερίας και επίπεδο σημαντικότητας $\alpha/(2N)$.

Η μέθοδος Grubbs είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την ανίχνευση περιορισμένου αριθμού ακραίων τιμών, επειδή υποθέτει μια κανονική κατανομή και δίνει μεγαλύτερη βαρύτητα στις ακραίες τιμές που αποκλίνουν σημαντικά από τη μέση τιμή ή τη διάμεσο. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους μέσου (mean) και διάμεσου (median), οι οποίες δίνουν μικρότερη βαρύτητα στις παρατηρήσεις που απέχουν από το κέντρο της κατανομής. Θέτοντας το κατώφλι ανίχνευσης από προεπιλογή στο 0,05, η μέθοδος ανιχνεύει 22 ακραίες τιμές στα δεδομένα. Αντί αυτές να αφαιρεθούν, συμπληρώνονται με την αντίστοιχη κεντρική τιμή των δεδομένων εισόδου.

Ακολούθως, χρησιμοποιείται μια γεννήτρια τυχαίων αριθμών με μια σταθερή τιμή σπόρου (seed) για την επιλογή 1150 'single' σταγονιδίων λίπους και 1150 'artifact' τεχνουργημάτων ως δείγματα εκπαίδευσης, δεδομένου ότι αυτές οι κλάσεις αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των σημείων δεδομένων. Αυτό αφήνει 2361 'single' παραδείγματα, από τα 3511 συνολικά και 41 'artifact' (από τα 1091), εκτός της διαδικασίας εποπτευόμενης μάθησης.

Αν και επιτυγχάνεται σημαντική μείωση των αντικειμένων κλάσης 'single' και 'artifact', το πρόβλημα του μη-ισορροπημένου συνόλου δεδομένων παραμένει. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι για την αντιμετώπιση του προβλήματος των μη-ισορροπημένων συνόλων δεδομένων. Μία από τις λύσεις στο πρόβλημα αυτό είναι η

εφαρμογή του Borderline-SMOTE, ο οποίος ανήκει στην κατηγορία αλγορίθμων που χρησιμοποιούν τεχνικές υπερδειγματοληψίας για τη σύνθεση νέων δειγμάτων δεδομένων με μοναδικές τιμές χαρακτηριστικών για τις κλάσεις μειονότητας.

Ο Borderline-SMOTE είναι μια επέκταση του αλγορίθμου SMOTE (Synthetic Minority Oversampling Technique) που δημιουργεί νέα συνθετικά δείγματα κατά μήκος της οριακής γραμμής μεταξύ κάθε δείγματος κλάσης μειονότητας και των k -κοντινότερων γειτόνων του, δίνοντάς του το όνομα “Borderline” [131]. Ο Borderline-SMOTE έχει το πλεονέκτημα ότι παράγει συνθετικά δείγματα όχι μόνο στο εσωτερικό του χώρου χαρακτηριστικών αλλά και στη συνοριακή γραμμή μεταξύ των κλάσεων μειονότητας και πλειονότητας. Αυτό μπορεί να βελτιώσει την απόδοση των εποπτευόμενων μοντέλων στην ταξινόμηση νέων παραδειγμάτων, ειδικά όταν το όριο απόφασης ενός ταξινομητή βρίσκεται κοντά στα παραδείγματα της κλάσης μειονότητας.

Για τη δημιουργία νέων συνθετικών δειγμάτων για τις κλάσεις μειονότητας, ο αλγόριθμος Borderline-SMOTE επιλέγει $k = 10$ κοντινότερους γείτονες για αντικείμενα των κλάσεων ‘double’ και ‘multiple’. Η διαδικασία υπερδειγματοληψίας παράγει συνθετικά δείγματα σε διανυσματική μορφή με νέες τιμές χαρακτηριστικών σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$synthSample_j = p'_i + r_j \times dif_i \quad (4.7)$$

όπου $j = (1, 2, \dots, n)$ είναι ο αριθμός των νέων συνθετικών δειγμάτων για μια κλάση μειονότητας M και p'_i τα οριακά δεδομένα της εν λόγω κλάσης. Ο αλγόριθμος επιλέγει τυχαία n -κοντινότερους γείτονες από τους k -κοντινότερους γείτονες του p'_i , υπολογίζει τις διαφορές dif_j μεταξύ του p'_i και των n -κοντινότερων γειτόνων του και τις πολλαπλασιάζει με έναν τυχαίο αριθμό r_j ($j = 1, 2, \dots, n$) μεταξύ $[0, 1]$. Αυτό δημιουργεί νέα δείγματα εκπαίδευσης μεταξύ του p'_i και των πλησιέστερων γειτόνων του για κάθε κλάση μειονότητας M .

Για την αναπαράσταση των δειγμάτων της κλάσης πλειονότητας ‘single’ και ‘artifact’ και των κλάσεων μειονότητας ‘double’ και ‘multiple’ σε ένα κυκλικό μοτίβο ενός 2D διαγράμματος, εφαρμόζονται οι ακόλουθες εξισώσεις, λαμβάνοντας υπόψη την τιμή της εκκεντρότητάς τους:

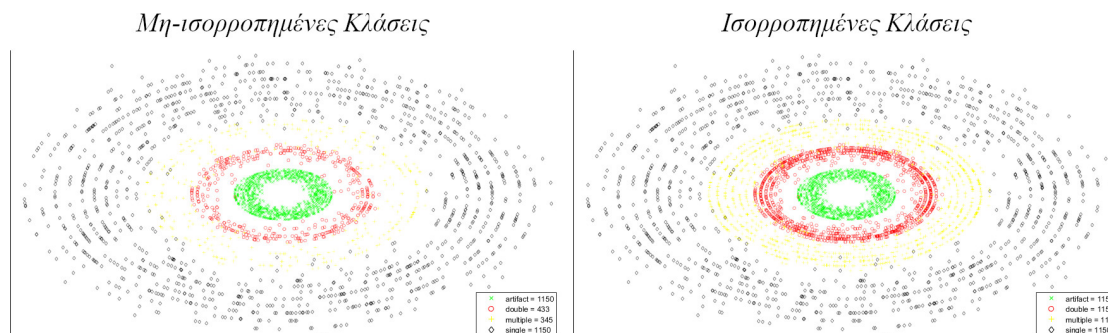
$$\begin{aligned} x_i &= \exp(\theta_i) * \sin(100 * \theta_i) \\ y_i &= \exp(\theta_i) * \cos(100 * \theta_i) \end{aligned} \quad (4.8)$$

όπου θ_i υποδηλώνει την τιμή του i -οστού δείγματος της κλάσης ‘single’, ‘double’, ‘multiple’ και ‘artifact’, ενώ οι συναρτήσεις ημιτόνου (sin) και συνημιτόνου (cos) αντιστοιχούν κάθε τιμή σε ένα σημείο μιας κυκλικής διαδρομής βάσει των συντεταγμένων x_i και y_i με ακτίνα $\exp(\theta_i)$. Ειδικότερα, το θ_i υποδεικνύει τη γωνία από τον θετικό άξονα x προς το σημείο του κύκλου, ενώ το 100 ορίζει τον αριθμό των περιστροφών του σπειροειδούς μοτίβου. Ο πολλαπλασιασμός τους επί $\exp(\theta_i)$ κάνει το σπειροειδές πιο πυκνό κοντά στο κέντρο του διαγράμματος και πιο αραιό προς τις άκρες, γεγονός που βοηθά στην οπτική διάκριση μεταξύ δειγμάτων με διαφορετικές τιμές του θ_i .

Για να διευκολυνθεί περαιτέρω η οπτικοποίηση του δισδιάστατου διαγράμματος, τα δείγματα κάθε κλάσης αναπαρίστανται ως συνάρτηση των x και y χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$F(x, y) = 2f_{artifact}(x, y) + 4f_{double}(x, y) + 6f_{multiple}(x, y) + 12f_{single}(x, y) \quad (4.9)$$

Η Εικόνα 4.17 δείχνει ότι η συνάρτηση της Εξ.4.9 παρέχει μια σαφή αναπαράσταση των σημείων δεδομένων των δειγμάτων στο διάγραμμα, με κάθε κλάση να λαμβάνει μια ξεχωριστή ακέραια τιμή. Ομοίως, η εικόνα απεικονίζει το αποτέλεσμα της εξισορρόπησης που προκύπτει με τη χρήση της προσέγγισης Borderline-SMOTE στο σύνολο δεδομένων.



Εικόνα 4.17. Οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων εξισορρόπησης κλάσεων με τον αλγόριθμο Borderline-SMOTE, ο οποίος συνθέτει επιτυχώς νέα δείγματα για κάθε κλάση μειονότητας (double και multiple) σε όλο το εύρος τιμών τους. Για να αποφευχθεί η επικάλυψη μεταξύ σημείων δεδομένων γειτονικών κλάσεων, εφαρμόζεται πρώτα η μέθοδος εξάλειψης ακραίων τιμών Grubbs. Αυτό οδηγεί στον εντοπισμό ελάχιστων επικαλύψεων μεταξύ των κλάσεων ‘single’ και ‘multiple’ που δεν αντιστοιχούν απαραίτητα σε ακραίες τιμές, δεδομένου ότι η ταυτοποίηση παγκρεατικών δειγμάτων αποτελεί ένα πρόβλημα ταξινόμησης σε μη-γραμμικά διανύσματα χαρακτηριστικών.

Μετά τη σύγκλιση του Borderline-SMOTE, το σύνολο δεδομένων εξισορροπείται, καταλήγοντας σε 4600 δείγματα, με 1150 δείγματα ανά παγκρεατική κλάση. Αυτό το νέο σύνολο δεδομένων εξάγεται σε αρχείο CSV για την εκπαίδευση εποπτευόμενων μοντέλων μηχανικής μάθησης. Ωστόσο, σύμφωνα με το θεώρημα “No Free Lunch” [132], δεν υπάρχει μία μόνο μέθοδος που να μπορεί να παρέχει βέλτιστη ικανότητα γενίκευσης για όλα τα προβλήματα

ταξινόμησης. Για να αντιμετωπιστεί αυτό, διαμορφώνεται μια δεξαμενή (pool) γνωστών αλγόριθμων ταξινόμησης, όπως α) η Λογιστική Παλινδρόμηση (Logistic Regression - LR), το Τυχαίο Δάσος (Random Forest - RF), η Μηχανής Διανυσματικής Υποστήριξης (SVM) και το νευρωνικό δίκτυο Πολυεπίδεδου Αντίληπτρου (MLP). Αυτοί οι αλγόριθμοι δρουν σε μια τυποποιημένη (standardized) μορφή των τιμών χαρακτηριστικών που κλιμακώνονται εντός ενός κλειστού εύρους [-1, 1].

4.3.2 Αποτελέσματα

Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης λίπους

Μετά την εκπαίδευση των εποπτευόμενων μοντέλων, το αυτοματοποιημένο σύστημα προχωρά στην ταξινόμηση άγνωστων κυκλικών δομών που ανιχνεύονται κατά τη φάση κατάτμησης των 20 εικόνων βιοψίας H&E (βλ. Ενότητα 3.2). Όπως και με το σύνολο εκπαίδευσης, το σύστημα υπολογίζει τα διανύσματα χαρακτηριστικών αυτών των δομών σύμφωνα με τον Πίνακα 4.1 και τις διαχωρίζει μέσω της φάσης ταξινόμησης.

Έχοντας ολοκληρώσει τα παραπάνω βήματα, το σύστημα υπολογίζει τον λόγο στεάτωσης για κάθε δείγμα $20 \times$ ξεχωριστά χρησιμοποιώντας κάθε εκπαιδευμένο ταξινομητή. Στους υπολογισμούς περιλαμβάνονται μόνο δομές με ετικέτες κλάσης 'single', 'double' και 'multiple', ενώ αποκλείονται τα κατατμημένα αντικείμενα με ετικέτα κλάσης 'artifact', καθώς δεν αντιστοιχούν σε παραλλαγές των ευρημάτων λίπους στον παγκρεατικό ιστό. Ο υπολογισμός της αναλογίας επικράτησης λίπους βασίζεται στην Εξ.3.19, με το σύστημα ταξινόμησης να καθορίζει το τελικό ποσοστό.

Στον διαγνωστικό Πίνακα 4.6 παρουσιάζονται τα ποσοστά διήθησης λίπους για όλες τις 20 εικόνες NAFFPD, που προκύπτουν από τη φάση κατάτμησης των άγνωστων κυκλικών δομών (F_{Segm}), την ταξινόμησή τους ως ευρήματα λίπους και τη χειροκίνητη/οπτική διαγνωστική διαδικασία των ιατρών με το εργαλείο NDP.view2 (F_{Annot}). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το στάδιο ταξινόμησης παράγει χαμηλότερη μέση τιμή επικράτησης λίπους από την αντίστοιχη κατάτμησης των πιθανών δομών στεάτωσης, γεγονός που οφείλεται στο αποκλεισμό εντοπιζόμενων τεχνουργημάτων από τις ποσοτικές διαγνώσεις. Συγκεκριμένα, οι τέσσερις ταξινομητές ($F_{LR}, F_{RF}, F_{SVM}, F_{MLP}$) φέρουν ένα μέσο ποσοστό που κυμαίνεται από 1,70% έως 1,80%, το οποίο είναι τουλάχιστον 0,42% μικρότερο από τη φάση κατάτμησης εικόνας (με μέση τιμή 2,22%).

Για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας της αυτοματοποιημένης μεθοδολογίας, υπολογίζεται το απόλυτο σφάλμα της εκτίμησης του ποσοστού λίπους μετρώντας την απόκλιση της διάγνωσης του αυτοματοποιημένου συστήματος από τις ημιποσοτικές αξιολογήσεις των ιατρών (Πίνακας 4.7). Στη συνέχεια, το απόλυτο σφάλμα που παράγεται από τη φάση της ταξινόμησης συγκρίνεται με εκείνο του σταδίου ανίχνευσης άγνωστων κυκλικών δομών.

Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου μηχανικής μάθησης

Εικόνα Ελέγχου (20×)	Αναλογία Λίπους με Κατάτμηση (%)	Αναλογία Λίπους με Ταξινόμηση (%)				Αναλογία Λίπους με Ημιποσοτική Αξιολόγηση (%)	
		F_{Segm}	F_{LR}	F_{RF}	F_{SVM}		F_{MLP}
1	120216-Head	1,96	1,34	1,09	1,34	0,95	1,84
2	120216-Tail	1,81	1,48	1,50	1,51	1,56	1,49
3	120485-Tail	2,18	1,68	1,55	1,62	1,64	1,90
4	120495-Body	2,63	2,16	1,97	1,99	2,02	1,73
5	120495-Head	1,83	1,46	1,50	1,37	1,39	1,95
6	121543-Body	6,06	5,09	4,99	4,79	4,90	5,23
7	121543-Head	6,76	5,73	5,71	5,33	5,55	5,95
8	122020-Body	0,61	0,51	0,45	0,49	0,46	0,40
9	122020-Head	1,22	0,93	0,95	0,93	0,90	0,65
10	122020-Tail	1,59	1,11	0,90	1,06	1,03	0,55
11	122088-Body	0,53	0,38	0,33	0,38	0,33	0,42
12	122088-Tail	1,44	1,05	0,94	1,04	0,91	0,78
13	122288-Body	1,83	1,43	1,52	1,43	1,50	1,38
14	122288-Tail	1,07	0,81	0,71	0,76	0,63	0,53
15	122662-Body	0,39	0,29	0,31	0,28	0,28	0,07
16	122662-Tail	1,02	0,78	0,79	0,78	0,78	0,33
17	123538-Head	3,76	3,09	2,61	2,96	2,74	2,72
18	123883-Tail	3,06	2,69	2,54	2,62	2,48	2,60
19	123948-Tail	2,09	1,70	1,70	1,66	1,68	1,56
20	HP-0937	2,59	2,19	2,31	2,18	2,29	2,39
Μέση τιμή:		2,22	1,80	1,72	1,73	1,70	1,72

Εστιάζοντας στον Πίνακα 4.7, παρατηρείται ότι σε 18 από τα 20 δείγματα παγκρέατος, το σύστημα ταξινόμησης έχει μικρότερο σφάλμα σε σύγκριση με το στάδιο κατάτμησης εικόνας (S_{err}), πριν από τον χαρακτηρισμό των άγνωστων ιστολογικών δομών. Ωστόσο, για τις εικόνες #1 - (120216-Head) και #5 - (120495-Head), η μέθοδος ταξινόμησης οδηγεί σε υποεκτίμηση της αναλογίας λίπους λόγω του αποκλεισμού αρκετών αληθώς θετικών δομών λίπους, στις οποίες αποδίδεται η ετικέτα κλάσης 'artifact' και από τους τέσσερις εμποτευόμενους αλγορίθμους. Ως αποτέλεσμα, η μέθοδος επεξεργασίας εικόνας επιτυγχάνει χαμηλότερο διαγνωστικό σφάλμα για αυτές τις δύο εικόνες. Παρ' όλα αυτά, η φάση ταξινόμησης παράγει την ελάχιστη τιμή μέσου απόλυτου σφάλματος 0,23% με τυπική απόκλιση 0,18%, που προέρχεται από τον ταξινομητή Random Forest, η οποία είναι σαφώς μικρότερη από το 0,51% (με τυπική απόκλιση 0,3%) του σταδίου κατάτμησης εικόνας. Αυτή η αυξημένη και σταθερότερη απόδοση δικαιολογεί την ενσωμάτωση του σταδίου ταξινόμησης για την αφαίρεση των θορυβωδών δομών από τη διαδικασία ποσοτικοποίησης λίπους.

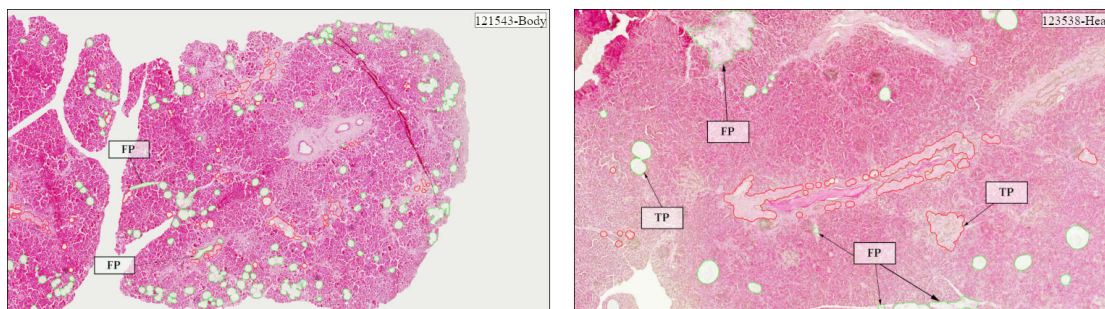
Πίνακας 4.7: Σφάλμα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου μηχανικής μάθησης

Εικόνα Ελέγχου (20×)	Σφάλμα Κατάτμησης Εικόνας (%)	Σφάλμα Ταξινόμησης (%)				
		S_{err}	LR_{err}	RF_{err}	SVM_{err}	MLP_{err}
1	120216-Head	0,12	0,50	0,75	0,50	0,89
2	120216-Tail	0,31	0,01	0,01	0,02	0,07
3	120485-Tail	0,29	0,22	0,35	0,28	0,26
4	120495-Body	0,90	0,44	0,24	0,26	0,29
5	120495-Head	0,12	0,49	0,45	0,59	0,56
6	121543-Body	0,83	0,13	0,23	0,44	0,33
7	121543-Head	0,81	0,22	0,24	0,62	0,40
8	122020-Body	0,21	0,11	0,04	0,09	0,06
9	122020-Head	0,58	0,28	0,30	0,28	0,25
10	122020-Tail	1,04	0,55	0,35	0,51	0,48
11	122088-Body	0,11	0,04	0,09	0,04	0,09
12	122088-Tail	0,66	0,26	0,16	0,25	0,13
13	122288-Body	0,44	0,04	0,14	0,04	0,12
14	122288-Tail	0,54	0,28	0,18	0,23	0,10
15	122662-Body	0,32	0,22	0,23	0,21	0,21
16	122662-Tail	0,69	0,45	0,46	0,45	0,45
17	123538-Head	1,04	0,37	0,11	0,24	0,01
18	123883-Tail	0,46	0,09	0,07	0,02	0,12
19	123948-Tail	0,53	0,14	0,15	0,10	0,12
20	HP-0937	0,20	0,20	0,08	0,21	0,20
Μέση τιμή:		0,51	0,25	0,23	0,27	0,25
Τυπική απόκλιση:		0,30	0,17	0,18	0,19	0,22

Οπτικοποίηση μεθόδου ταξινόμησης εικόνας

Για να επαληθευτεί η αποτελεσματικότητα της μεθόδου ποσοτικοποίησης λίπους, πραγματοποιείται τελική ανάλυση των αποτελεσμάτων εντοπισμού λίπους σε τμήματα των εικόνων βιοψίας “121543-Body” και “123538-Head” (Εικόνα 4.18). Για την ανίχνευση των υποψήφιων αντικειμένων λίπους εφαρμόζονται τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος, τα οποία συγκλίνουν στα εξωτερικά όρια των λευκών κυκλικών δομών ενδιαφέροντος. Μετά το στάδιο της ταξινόμησης, όλα τα αντικείμενα που ανιχνεύονται με πράσινη γραμμή περιγράμματος αναγνωρίζονται ως ευρήματα λίπους με ετικέτες κλάσης ‘single’, ‘double’ ή ‘multiple’. Τα αποτελέσματα ταξινόμησης για το δείγμα “121543-Body” προκύπτουν από τον αλγόριθμο Logistic Regression, ο οποίος παράγει το ελάχιστο απόλυτο διαγνωστικό σφάλμα (0,13%) σύμφωνα με τον Πίνακα 4.7 και για το δείγμα “123538-Head” από το μοντέλο MLP με ελάχιστο σφάλμα (0,01%), αντίστοιχα. Από την άλλη πλευρά, τα αντικείμενα με κόκκινες

γραμμές περιγράμματος αναφέρονται σε ανατομικές δομές που ταξινομούνται ως τεχνουργήματα (artifact), τα οποία αποκλείονται από τον υπολογισμό του λόγου στεάτωσης των βιοψιών.



Εικόνα 4.18. Οπτικοποίηση της συμβατικής μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους. Οι πράσινες γραμμές περιγράμματος υποδεικνύουν ιστολογικές περιοχές που ταξινομούνται ως λίπος, ενώ οι κόκκινες γραμμές περιοχές που αναγνωρίζονται ως ιστολογικά τεχνουργήματα, αντίστοιχα.

Επιπροσθέτως, στην Εικόνα 4.18 παρατηρούνται ορισμένες αδυναμίες της μεθόδου, όπου στο δείγμα “121543-Body” προκύπτουν δύο ψευδώς θετικές (False Positive - FP) ανιχνεύσεις λίπους από τον αλγόριθμο Logistic Regression, οι οποίες στην πραγματικότητα είναι ακανόνιστου σχήματος κολποειδή. Ομοίως, στο δείγμα “123538-Head”, το μοντέλο MLP ταξινομεί εσφαλμένα μια περιοχή κυτταρικής διόγκωσης με χαμηλότερες τιμές αντίθεσης ως εύρημα λίπους, καθώς και κάποια κολποειδή. Ωστόσο, παρά τους περιορισμούς αυτούς, η πλειονότητα των περιοχών που ανιχνεύονται είναι αληθώς θετικά (True Positive - TP) αντικείμενα στεάτωσης.

4.4 Μελέτη Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων στο Πάγκρεας με Τεχνικές Βαθιάς Μάθησης

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζεται μια επέκταση της προηγούμενης ερευνητικής μελέτης με στόχο τη βελτίωση της ικανότητας ποσοτικοποίησης του επιπολασμού της στεάτωσης σε δείγματα βιοψίας από ασθενείς με μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο (NAFPD). Για την επίτευξη αυτού του στόχου, εφαρμόζεται μια μεθοδολογία που βασίζεται σε τεχνικές ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας και βαθιά νευρωνικά δίκτυα για λόγους ταξινόμησης [6]. Συγκεκριμένα, αναπτύσσεται ένα μοντέλο συνελικτικών νευρωνικών δικτύων σε ομάδα (ensemble of Convolutional Neural Networks), ονόματι “ensemble CNN”, το οποίο βασίζεται σε ένα σύστημα ψηφοφορίας για τον προσδιορισμό της πλειοψηφικής κλάσης κάθε προηγούμενως κατατημημένου μικροσκοπικού αντικειμένου. Χάρη σε αυτή την προσέγγιση, επιτυγχάνεται ο ακριβέστερος εντοπισμός των ιστολογικών δομών λίπους και ο αποκλεισμός

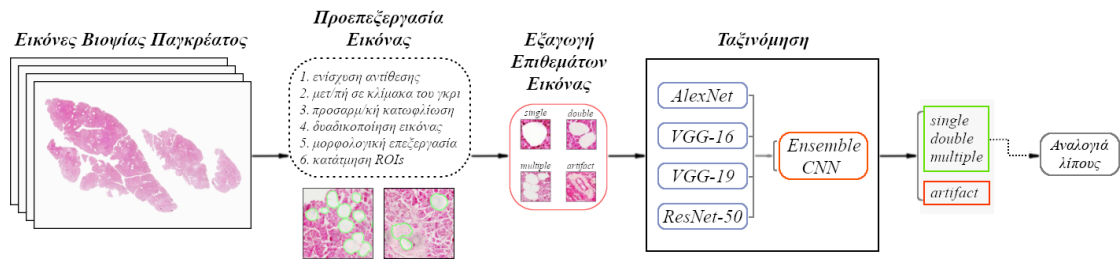
των υγιών ιστολογικών τεχνουργημάτων από τους αυτοματοποιημένους υπολογισμούς των λόγων στεάτωσης.

4.4.1 Υλικά και μέθοδοι

Η αυτοματοποιημένη ανάλυση πραγματοποιείται σε συνολικά 20 ιστολογικά δείγματα ανθρώπινων δοτών σε μεγέθυνση 20× από τη βάση βιοψίας παγκρέατος (βλ. Ενότητα 2.2.2). Ο γενικός στόχος είναι να διαχωριστούν όλες οι λιπώδεις περιοχές από τις υγιείς ανατομικές δομές, επιλύοντας εκ νέου ένα πρόβλημα ταυτοποίησης τεσσάρων ιστολογικών αλλοιώσεων: 1) μονό σταγονίδιο λίπους, 2) διπλά-συσσωματωμένο λίπος, 3) πολλαπλά-συσσωματωμένο λίπος και 4) ιστολογικό τεχνούργημα. Συνοπτικά, η προτεινόμενη μεθοδολογία αποτελείται από τέσσερα κύρια βήματα:

1. Ένα στάδιο κατάτμησης εικόνας (βλ. Ενότητα 3.2) που χρησιμοποιεί τεχνικές κατωφλίωσης εικόνας και μορφολογικού φιλτραρίσματος για την εξαγωγή της ιστολογικού δείγματος από το φόντο του και το φιλτράρισμα κυκλικών λευκών δομών που υποδηλώνουν πιθανούς λιπιδικούς σχηματισμούς.
2. Χειροκίνητη επισημείωση των αντικειμένων ενδιαφέροντος σε κάθε ιστολογική εικόνα 20× και υπολογισμός του ημιποσοτικού βαθμού στεάτωσης από κλινικούς ιατρούς. Τα επισημειωμένα αντικείμενα εξάγονται ταυτόχρονα με τη μορφή επιθεμάτων εικόνας για την εφαρμογή της μεταφοράς μάθησης σε τέσσερα προεκπαιδευμένα CNN.
3. Ταξινόμηση των κατατμημένων περιοχών ενδιαφέροντος στο Βήμα 1 με βάση την πλειονότητα των ψήφων των εκπαιδευμένων μοντέλων CNN και εξάλειψη των περισσότερων ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ανίχνευσης λίπους.
4. Υπολογισμός της αναλογίας λίπους για κάθε εικόνα βιοψίας και αξιολόγηση της αυτοματοποιημένης διαγνωστικής μεθόδου με τον προσδιορισμό της απόκλισης της από τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις των ιατρών.

Στην Εικόνα 4.19 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής του προτεινόμενου διαγνωστικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων των βημάτων προεπεξεργασίας εικόνας και ταξινόμησης CNN για την ποσοτικοποίηση της εξάπλωσης της παγκρεατικής στεάτωσης σε ασθενείς με NAFPD.



Εικόνα 4.19. Διάγραμμα ροής της βαθιάς μεθόδου για την αξιολόγηση της διήθησης παγκρεατικού λίπους σε ιστολογικές εικόνες μικροσκοπίας. Αρχικά, εκτελείται ένα στάδιο προεπεξεργασίας εικόνας για την κατάμηση κυκλικών λευκών δομών ενδιαφέροντος που σχετίζονται με σταγονίδια λίπους. Στη συνέχεια, οι κατατημένες δομές εξάγονται ως επιθέματα εικόνας και ταξινομούνται χρησιμοποιώντας ένα εκπαιδευμένο σύστημα πολλαπλών CNN. Εξαλείφοντας τα ψευδώς θετικά ευρήματα λίπους ως ιστολογικά τεχνουργήματα μέσω της ταξινόμησης, μπορεί να επιτευχθεί ακριβέστερη ποσοτικοποίηση της επικράτησης της στεάτωσης στον ιστό.

Εξαγωγή δεδομένων εκπαίδευσης από χειροκίνητες επισημειώσεις

Δεδομένης της επιτυχίας των αλγορίθμων βαθιάς μάθησης τα τελευταία χρόνια σε εργασίες ταξινόμησης εικόνων, προτιμάται ο σχηματισμός ενός συστήματος πολλαπλών αρχιτεκτονικών CNN για την αντιμετώπιση του διαγνωστικού ζητήματος της συμπερίληψης ορισμένων τεχνουργημάτων στο προηγούμενο στάδιο κατάμησης εικόνας.

Η μεθοδολογική διαδικασία ξεκινά με τη βελτίωση των προηγούμενων χειροκίνητα επισημειωμένων παραδειγμάτων εκπαίδευσης με τη χρήση του ιστοπαθολογικού εργαλείου NDP.view2 (Εικόνα 4.20A). Τα αντικείμενα ενδιαφέροντος σημειώνονται με ένα εργαλείο χειροκίνητης επιλογής και με διαφορετικό χρώμα ανά ιστολογική κλάση. Οι καρτεσιανές συντεταγμένες 2D κάθε επισημειωμένου δείγματος, που υποδεικνύουν τη θέση του στην εικόνα βιοψίας H&E, καταγράφονται στη συνέχεια αυτόματα σε ένα αρχείο XML. Επιπλέον, για κάθε ιστολογικό αντικείμενο αποδίδεται από τους γιατρούς μια ετικέτα κλάσης: 1) μόνο λίπος (single), 2) διπλά-συσσωματωμένο λίπος (double), 3) πολλαπλά-συσσωματωμένο λίπος (multiple) και 4) ιστολογικό τεχνουργήμα (artifact).



Εικόνα 4.20. Οπτική αναπαράσταση της διαδικασίας εξαγωγής των παγκρεατικών δεδομένων εκπαίδευσης: (Α) χειροκίνητη επισημείωση τεσσάρων παγκρεατικών κλάσεων με το λογισμικό NDP.view2 (μαύρο → 'single', κόκκινο → 'double', κίτρινο → 'multiple', πράσινο → 'artifact'), (Β) εξαγωγή της δυαδικής εικόνας λίπους και υπολογισμός της ημιποσοτικής αναλογίας στεάτωσης στο δείγμα βιοψίας και (Γ) καθορισμός του παραθύρου οριοθέτησης για όλες τις επισημειωμένες περιοχές και εξαγωγή τους ως επιθέματα εικόνας για την εφαρμογή της μεταφοράς μάθησης σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN.

Το παραπάνω βήμα οδηγεί στον υπολογισμό του ημιποσοτικού λόγου στεάτωσης για κάθε δείγμα βιοψίας σύμφωνα με την Εξ.3.19, παράγοντας παράλληλα μια δυαδική εικόνα, η οποία χρησιμοποιείται αργότερα ως εικόνα βασικής αλήθειας (ground truth) για τη στεάτωση (Εικόνα 4.20B) για να διαπιστωθεί η ομοιότητα της κατάτμησης λίπους από το αυτοματοποιημένο διαγνωστικό εργαλείο με τις εκτιμήσεις των ιατρών από τις χειροκίνητες επισημειώσεις.

Μετά την ολοκλήρωση της επισημείωσης των αντικειμένων σε όλες τις εικόνες βιοψίας ($n = 20$), καλείται ένας αναλυτής XML για την ανάγνωση των 2D συντεταγμένων τους, οδηγώντας στον υπολογισμό του παραθύρου οριοθέτησής τους (bounding box). Αυτό επιτρέπει την εξαγωγή όλων των περιοχών ενδιαφέροντος ως επιθέματα εικόνας από τις WSIs $20 \times$ για την εκπαίδευση μοντέλων CNN. Οι συντεταγμένες του x - και y -άξονα, πλάτους και ύψους (x, y, w, h) για κάθε υπολογισμένο παράθυρο οριοθέτησης στρογγυλοποιούνται στον πλησιέστερο ακέραιο και στη συνέχεια αυξάνονται κατά 5 εικονοστοιχεία για να επεκταθεί το μέγεθός του (Εικόνα 4.20Γ). Αυτή η επέκταση προτιμάται επειδή το παράθυρο οριοθέτησης συγκλίνει στα όρια ενός αντικειμένου, αφαιρώντας ακμές που θα μπορούσαν να παρέχουν πληροφοριακά χαρακτηριστικά κατά τη διαδικασία εκπαίδευσης ενός CNN. Τέλος, με τη χρήση ενός εργαλείου αποκοπής, τα παραμετροποιημένα επιθέματα εικόνας εξάγονται και αποθηκεύονται σε φακέλους ανάλογα με την ετικέτα κλάσης τους.

Επαύξηση εικόνων και εξισορρόπηση κλάσεων

Η διαδικασία εξαγωγής επιθεμάτων εικόνας οδηγεί σε ένα μη-ισορροπημένο σύνολο δεδομένων με α) 2400 'single', β) 342 'double', γ) 335 'multiple' και δ) 870 'artifact' δείγματα. Όπως έχει αναφερθεί, αυτό είναι ένα σύννηθες εμπόδιο στην εποπτευόμενη μάθηση που μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη απόδοση ταξινόμησης. Για την εξισορρόπηση του συνόλου δεδομένων, η κλάση πλειονότητας 'single' μειώνεται σε 1320 τυχαία επιλεγμένα δείγματα, καθώς δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στις σχηματικές και υφικές ιδιότητες μεταξύ των μεμονωμένων σταγονιδίων λίπους. Αντ' αυτού, τα δείγματα των κλάσεων μειονότητας 'double', 'multiple' και 'artifact' υποβάλλονται σε τεχνικές επαύξησης (augmentation), όπως η οριζόντια (x -άξονας) και κάθετη (y -άξονας) αναστροφή εικόνας, για να αυξηθεί ο αριθμός τους. Ο Πίνακας 4.8 παρουσιάζει λεπτομερώς τις τεχνικές επαύξησης που εφαρμόζονται στα δείγματα των κλάσεων μειονότητας και τα βήματα που ακολουθούνται για τον διαχωρισμό του ισορροπημένου συνόλου δεδομένων σε υποσύνολα εκπαίδευσης, επικύρωσης και δοκιμής.

Χάρη στις τεχνικές εξισορρόπησης κλάσεων, το σύνολο δεδομένων αυξάνεται σε 5280 ανατομικά δείγματα (1320 για κάθε παγκρεατική κλάση), το οποίο είναι επαρκές για τη μεταφορά μάθησης σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN. Σύμφωνα με τον Πίνακα 4.8 αυτό το σύνολο δεδομένων χωρίζεται σε 4080 δείγματα εκπαίδευσης, 800 επικύρωσης και 400 δοκιμής.

Σημειώνεται ότι τα υποσύνολα επικύρωσης και δοκιμής περιλαμβάνουν μη-επαυξημένα δείγματα, όπως συνήθως προτείνεται, ενώ το υποσύνολο εκπαίδευσης αποτελείται από ένα μείγμα μη-επαυξημένων και επαυξημένων επιθεμάτων εικόνων.

Πίνακας 4.8: Τεχνικές επαύξησης επιθεμάτων εικόνων για εξισορρόπηση παγκρεατικών κλάσεων

Ετικέτα Κλάσης	Αρχική Καταμέτρηση	Αφαιρούμενες Εικόνες	Επαύξηση Εικόνας	Επαυξημένος Αριθμός	Τελική Καταμέτρηση
single	2400	1080	-	-	1320
double	342	-	<ul style="list-style-type: none"> • οριζ. αναστροφή (x-άξονας) • κατακ. αναστροφή (y-άξονας) • οριζ. + κατακ. αναστροφή 	1026	1368
multiple	335	-	<ul style="list-style-type: none"> • οριζ. αναστροφή (x-άξονας) • κατακ. αναστροφή (y-άξονας) • οριζ. + κατακ. αναστροφή 	1005	1340
artifact	870	-	<ul style="list-style-type: none"> • οριζ. + κατακ. αναστροφή 	870	1740

Βήματα διαχωρισμού και διαμόρφωσης ενός ισορροπημένου συνόλου δεδομένων: **1)** Συγκέντρωση όλων των επιθεμάτων εικόνων που προκύπτουν από τη στήλη “Τελική Καταμέτρηση” ($n = 5768$). **2)** Διαμόρφωση ενός υποσυνόλου εκπαίδευσης αποτελούμενο από 4080 τυχαία επιλεγμένα επαυξημένα και μη-επαυξημένα δείγματα ‘single’, ‘double’, ‘multiple’ και ‘artifact’ (1020 ανά κλάση). **3)** Διαμόρφωση ενός υποσυνόλου επικύρωσης που αποτελείται από 800 τυχαία επιλεγμένα μη-επαυξημένα δείγματα (200 ανά κλάση). **4)** Διαμόρφωση ενός υποσυνόλου δοκιμής αποτελούμενο από 400 τυχαία μη-επαυξημένα δείγματα (100 ανά κλάση). **5.** Απόρριψη των υπόλοιπων 488 επιθεμάτων εικόνων.

Μεταφορά μάθησης σε προεκπαιδευμένα μοντέλα CNN

Τα τελευταία χρόνια, η μεταφορά μάθησης έχει αναδειχθεί ως μια αποτελεσματική μέθοδος για την προσαρμογή προ-εκπαιδευμένων νευρωνικών δικτύων σε νέα προβλήματα αναγνώρισης αντικειμένων. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται μια μέθοδος για την ταξινόμηση των δομών παγκρεατικού λίπους χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό ρηχότερων και βαθύτερων τοπολογιών CNN για τον υπολογισμό του λόγου στεάτωσης σε δείγματα βιοψίας NAFPD. Οι εν λόγω αρχιτεκτονικές είναι οι: α) AlexNet [127], β) VGG-16 [128], γ) VGG-19 [128] και δ) ResNet-50 [133], οι οποίες φορτώνονται με τα βάρη τους από το σύνολο δεδομένων ImageNet.

Μετά τη φόρτωση των CNN, υπολογίζεται ο αριθμός των παραμέτρων εκπαίδευσής τους για να καθοριστεί εάν τα βάρη τους πρέπει να παγώσουν, δηλαδή να μην ενημερωθούν, στα αρχικά τους επίπεδα. Στρογγυλοποιώντας αυτούς τους αριθμούς στον πλησιέστερο ακέραιο, διαπιστώνεται ότι το μοντέλο AlexNet περιλαμβάνει 61 εκατομμύρια εκπαιδευσιμες παραμέτρους, ενώ τα VGG-16, VGG-19 και ResNet-50 έχουν 138, 144 και 25.6 εκατομμύρια εκπαιδευσιμες παραμέτρους, αντίστοιχα, γεγονός που συνάδει με τις δημοσιευμένες μελέτες [127, 128, 133]. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των AlexNet και ResNet-50 από τη μία πλευρά και των VGG-16 και VGG-19 από την άλλη, με τα δύο τελευταία να θεωρούνται “πολύ βαθιά” νευρωνικά δίκτυα. Ως εκ τούτου, αποφασίζεται το πάγωμα όλων των βαρών στα δύο πρώτα συνελικτικά μπλοκ των VGG-16 και VGG-19. Συνιστάται γενικά το πάγωμα των βαρών των πολύ βαθέων μοντέλων κατά την

εφαρμογή της μεταφοράς μάθησης, καθώς έχουν ήδη μάθει να γενικεύουν τα περισσότερα χαρακτηριστικά χαμηλού επιπέδου (π.χ. ακμές, σχήματα) και η ενημέρωσή τους μπορεί να οδηγήσει σε υπερμοντελοποίηση των νέων ιστοπαθολογικών δεδομένων.

Για την εκπαίδευση των τεσσάρων δικτύων CNN χρησιμοποιείται μια NVIDIA GeForce RTX 2070 Super GPU και εφαρμόζονται οι ακόλουθες κοινές παράμετροι εκπαίδευσης: α) ένα μέγιστο όριο 10 εποχών εκπαίδευσης, β) ένα μέγεθος μίνι-παρτίδας (mini-batch) 32 επιθεμάτων εικόνας, γ) ένας καθολικός ρυθμός μάθησης ίσος με $1e-4$ (0,0001), μια χαμηλή τιμή που προτιμάται σε εργασίες μεταφοράς μάθησης, ώστε να διασφαλίζεται ότι κάθε λεπτομερώς συντονισμένο (fine-tuned) μοντέλο δεν αποκλίνει σημαντικά από το αντίστοιχο αρχικό, δ) έναν αριθμό υπομονής επικύρωσης 3, που σημαίνει ότι εάν ένα CNN εμφανίσει την ίδια τιμή ακρίβειας επικύρωσης τρεις φορές κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης, η εκπαίδευση τερματίζεται και ε) ο βελτιστοποιητής SGDM ως η μέθοδος οπισθοδιάδοσης σφάλματος. Επιπλέον, ενεργοποιείται η επιλογή “model checkpoint” για την αποθήκευση των βαρών που παράγουν την υψηλότερη ακρίβεια επικύρωσης στο τέλος κάθε εποχής εκπαίδευσης.

Κατά την προσαρμογή των προεκπαιδευμένων νευρωνικών δικτύων στη νέα εργασία αναγνώρισης παγκρεατικών αντικειμένων, το τελευταίο πλήρως συνδεδεμένο επίπεδο κάθε αρχιτεκτονικής CNN τροποποιείται μειώνοντας τον αριθμό των νευρώνων από 1000 (ο αριθμός των κλάσεων στο σύνολο δεδομένων ImageNet) σε 4. Επιπλέον, σε αυτό το επίπεδο ορίζονται δύο παράμετροι γνωστές ως “συντελεστής ρυθμού μάθησης βαρών” (Weight Learn Rate Factor - W_{LRF}) και “συντελεστής ρυθμού μάθησης σταθερών πόλωσης” (Bias Learn Rate Factor - B_{LRF}). Αυτές οι παράμετροι αναφέρονται σε μη-αρνητικές κλιμακωτές τιμές, οι οποίες πολλαπλασιάζονται με τον καθολικό ρυθμό μάθησης και βοηθούν τους νευρώνες στο τελευταίο πυκνό επίπεδο να γενικεύουν ταχύτερα στο νέο πρόβλημα ταξινόμησης. Για τα δίκτυα AlexNet και ResNet-50, οι δύο παράμετροι ορίζονται σε 10, που σημαίνει ότι το γινόμενο των δύο παραμέτρων και του καθολικού ρυθμού μάθησης είναι ίσο με 0,001 ($10 \times (1 \times 10^{-4}) = 0,001$), ενώ για τα βαθύτερα VGG-16 και VGG-19, ορίζονται σε 20 με ($20 \times (1 \times 10^{-4}) = 0,002$).

Πίνακας 4.9: Εφαρμοσμένες παράμετροι για μεταφορά μάθησης σε προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN

Μοντέλο CNN	Εκπαιδευσιμες Παράμετροι (Αρχικοί)	Παγωμένα Βάρη	Εκπαιδευσιμες Παράμετροι (Τελικοί)	W_{LRF}	B_{LRF}
AlexNet	60.965.224	-	56.868.224	10	10
VGG-16	138.357.544	<ul style="list-style-type: none"> • συνελ. μπλοκ 1 • συνελ. μπλοκ 2 	134.260.544	20	20
VGG-19	143.667.240	<ul style="list-style-type: none"> • συνελ. μπλοκ 1 • συνελ. μπλοκ 2 	139.570.240	20	20
ResNet-50	25.583.592	-	23.534.592	10	10

Αφού ολοκληρωθούν οι παραμετροποιήσεις των πλήρως συνδεδεμένων επιπέδων και το πάγωμα των συνελικτικών βαρών, υπολογίζεται εκ νέου ο αριθμός των εκπαιδευσιμων παραμέτρων για κάθε τοπολογία CNN. Ο Πίνακας 4.9 παρέχει μια επισκόπηση των επιλογών εκπαίδευσης για κάθε προ-εκπαιδευμένο δίκτυο, καθώς και των διαφορών μεταξύ των αρχικών και των τελικών εκπαιδευσιμων παραμέτρων. Αυτές οι τροποποιήσεις οδηγούν σε μείωση έως και 4 εκατομμυρίων παραμέτρων.

Ταξινόμηση ιστολογικών αντικειμένων και υπολογισμός της αναλογίας λίπους

Μετά τη μεταφορά μάθησης, η απόδοση κάθε ατομικού μοντέλου CNN αξιολογείται με την πραγματοποίηση προβλέψεων στο υποσύνολο δοκιμής (Πίνακας 4.8) για να αξιολογηθεί η ικανότητά του στην ταξινόμηση άγνωστων παγκρεατικών δειγμάτων. Κάθε επίθεμα εικόνας του ισορροπημένου συνόλου δεδομένων κλιμακώνεται ώστε να αντιστοιχεί στο προκαθορισμένο μέγεθος του επιπέδου εισόδου κάθε προεκπαιδευμένου βαθύ δικτύου χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της δικτυβικής παρεμβολής.

Σε πρώτη φάση, αναγνωρίζονται οι ιστολογικές δομές και εξάγονται στατιστικές μετρήσεις από την έκθεση ταξινόμησης για κάθε δίκτυο CNN. Αυτοί οι μεμονωμένοι χαρακτηρισμοί συνδυάζονται στη συνέχεια με τη χρήση μιας προσέγγισης πολλαπλών CNN σε ομάδα (ensemble CNN). Συγκεκριμένα, λαμβάνεται υπόψη η πλειοψηφία των ψήφων πρόβλεψης για κάθε παγκρεατική δομή με βάση τις μεμονωμένες εξόδους των μοντέλων. Οι μέγιστες πιθανότητες softmax από κάθε CNN, που υποδεικνύουν πόσο σίγουρο είναι για τις προβλέψεις του, αξιοποιούνται επίσης για τον καθορισμό της πλειοψηφικής παγκρεατικής κλάσης στο σύστημα ensemble CNN, το οποίο αναλύεται στον Αλγόριθμο 2 παρακάτω.

Μετά την αξιολόγηση των επιδόσεων ταξινόμησης των βαθέων μοντέλων στα δεδομένα δοκιμής, στόχος είναι πλέον ο χαρακτηρισμός των άγνωστων αντικειμένων κατάτμησης που αναφέρονται στην Ενότητα 3.2 και η μείωση του αριθμού των ψευδώς θετικών ευρημάτων λίπους. Για να επιτευχθεί αυτό, κάθε κατατμημένη από μοντέλα ενεργού περιγράμματος (Active Contour Models - ACMs) δομή εξάγεται ως επίθεμα εικόνας και εισάγεται σε κάθε αρχιτεκτονική CNN. Η ιστολογική κλάση κάθε δομής καθορίζεται στη συνέχεια με τη μέθοδο ψηφοφορίας του ensemble CNN. Μετά την ταξινόμηση, υπολογίζεται η συνολική επιφάνεια των προβλεπόμενων εικονοστοιχείων λίπους και διαιρείται με την αντίστοιχη των αρχικά κατατμημένων ιστολογικών περιοχών (Εικόνα 3.10Δ). Με τον τρόπο αυτό προκύπτει ο λόγος διήθησης παγκρεατικού λίπους για κάθε $20\times$ εικόνα μικροσκοπίας. Τέλος, υπολογίζεται το απόλυτο διαγνωστικό σφάλμα για κάθε δείγμα βιοψίας, το οποίο αντιπροσωπεύει την απόκλισή του από τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις της στεάτωσης από τους ειδικούς ιατρούς.

Αλγόριθμος 2 : Ensemble CNN

```
1: Begin Προεπεξεργασία δεδομένων
2:   Φόρτωσε την εικόνα βιοψίας  $20 \times$  με τα αντικείμενα κατάτμησης
3:   Υπολόγισε και αύξησε το παράθυρο οριοθέτησης κάθε κατατμημένου αντικειμένου
   κατά 5 εικονοστοιχεία
4:   Περίκοψε τα επιθέματα εικόνας και προσδιόρισε τον αριθμό τους ( $N_I$ )
5:   Καθόρισε τον αριθμό των βαθέων CNN ( $N_D$ ) και των εικόνων πρόβλεψης ( $N_P$ )
6: End
7: Begin Ταξινόμηση Ensemble CNN
8:   For  $i = 1, \dots, N_I$  do
9:     For  $j = 1, \dots, N_D$  do
10:      Προσδιόρισε την ετικέτα κλάσης  $[i, j]$ 
11:      Ανάκτησε την πιθανότητα πρόβλεψης  $[i, j]$ 
12:     End
13:   End
14:   For  $k = 1, \dots, N_P$  do
15:     Φίλτραρε την πιο συχνή προβλεπόμενη ετικέτα κλάσης
16:     If υπάρχουν 4 διαφορετικές προβλεπόμενες κλάσεις do
17:       Ανάκτησε την μέγιστη πιθανότητα πρόβλεψη
18:       Ανάκτησε την αντίστοιχη ετικέτα κλάσης
19:     Else If υπάρχουν 2 διαφορετικές προβλεπόμενες κλάσεις do
20:       Υπολόγισε την 1η ( $MP_1$ ) και 2η ( $MP_2$ ) μέση πιθανότητα
21:       Κράτησε τη μέγιστη μέση πιθανότητα και την αντίστοιχη κλάση της
22:       If  $MP_1$  ίση με  $MP_2$  do
23:         Κράτησε μία τυχαία μέση πιθανότητα με μια σταθερή τιμή σπόρου
24:         Ανάκτησε την αντίστοιχη ετικέτα κλάσης
25:       End
26:     Else do
27:       Ανάκτησε την ετικέτα κλάσης της πλειοψηφίας των ψήφων
28:       Υπολόγισε τη μέση πιθανότητα της κλάσης
29:     End
30:   End
31: End
```

4.4.2 Αποτελέσματα

Σε αυτήν την ενότητα, αναλύεται η απόδοση ταξινόμησης των βαθέων μοντέλων στα δεδομένα δοκιμής και απεικονίζονται τα πιο πληροφοριακά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στη διάκριση των τεσσάρων ιστολογικών αλλοιώσεων στις εικόνες βιοψίας $20 \times$. Παρουσιάζονται επίσης τα αποτελέσματα ποσοτικοποίησης της στεάτωσης που προέρχονται από δύο στάδια: 1) την κατάτμηση κυκλικών αντικειμένων που αντιπροσωπεύουν υποψήφια λιποκύτταρα πριν από τον χαρακτηρισμό τους και 2) τον αποκλεισμό των ψευδώς θετικών ευρημάτων λίπους μέσω του σταδίου ταξινόμησης. Παράλληλα, συγκρίνεται το απόλυτο σφάλμα που παράγεται από αυτές τις δύο προσεγγίσεις σε όλα τα ιστολογικά δείγματα NAFPD ($n = 20$). Στη συνέχεια, απεικονίζονται τα αποτελέσματα εντοπισμού λίπους που προκύπτουν μέσω του

συστήματος ταξινόμησης ensemble CNN και η ομοιότητα της κατάτμησης λίπους με τις στεατωτικές περιοχές που επισημειώθηκαν χειροκίνητα από τους ιστοπαθολόγους.

Μέτρηση επιδόσεων δοκιμής

Σύμφωνα με την προηγούμενη ενότητα, εξάγονται ορισμένα στατιστικά στοιχεία από την έκθεση ταξινόμησης στο υποσύνολο δοκιμής για την εξακρίβωση του βέλτιστου ταξινομητή CNN, τα οποία περιλαμβάνουν την ακρίβεια, την πιστότητα/θετική προγνωστική αξία (Positive Predictive Value - PPV), την ευαισθησία/ανάκληση, την ειδικότητα/αναλογία αληθώς αρνητικών (True Negative Rate - TNR), την κατανομή-F1 (F1-score), την αρνητική προγνωστική αξία (Negative Predictive Value - NPV), το μέσο εμβαδό περιοχής κάτω από την καμπύλη του λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (ROC-AUC) και κάτω από την καμπύλη πιστότητας-ανάκλησης (PRC-AUC) (Πίνακας 4.10). Η ανάλυση δείχνει ότι ο αλγόριθμος ensemble CNN επιτυγχάνει την υψηλότερη απόδοση με ακρίβεια: 98,25%, F1-score: 98,25% και ειδικότητα: 99,42%, καθιστώντας τον ως τον βέλτιστο ταξινομητή. Ο AlexNet έρχεται δεύτερος (ακρίβεια: 97,25%, F1-score: 97,25%, ειδικότητα: 99,08%), ο VGG-16 κατατάσσεται τρίτος (ακρίβεια: 97%, F1-score: 97,04%, ειδικότητα: 99%), ο VGG-19 τέταρτος (ακρίβεια: 95,25%, F1-score: 95,31%, ειδικότητα: 99,42%) και ο ResNet-50 πέμπτος (ακρίβεια: 94,25%, F1-score: 94,31%, ειδικότητα: 99,08%).

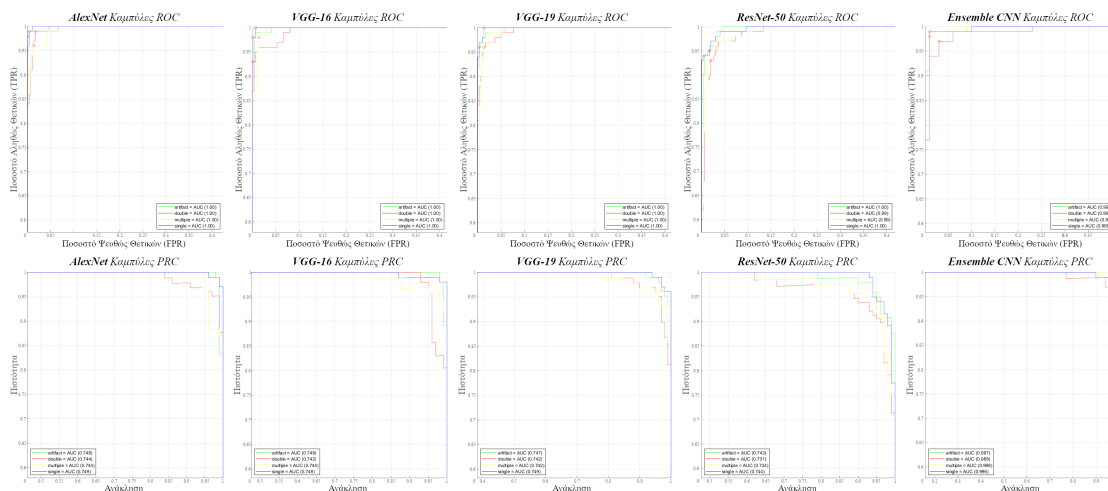
Πίνακας 4.10: Σύγκριση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης στο σύνολο δεδομένων παγκρέατος

Μοντέλο CNN	Μέσες Μετρήσεις Απόδοσης (%)							
	Ακρίβεια	Πιστότητα/ PPV	Ευαισθησία/ Ανάκληση	Κατανομή-F1	Ειδικότητα/ TNR	NPV	ROC AUC	PRC AUC
AlexNet	97,25	97,25	97,25	97,25	99,08	99,08	99,87	74,64
VGG-16	97	97,08	97	97,04	99	99,01	99,86	74,59
VGG-19	95,25	95,37	95,25	95,31	98,42	98,43	99,83	74,50
ResNet-50	94,25	94,37	94,25	94,31	98,08	98,11	99,58	73,80
Ensemble CNN	98,25	98,25	98,25	98,25	99,42	99,42	99,73	99,47

Όσον αφορά την ακρίβεια επικύρωσης κατά τη μεταφορά μάθησης, είναι ίση με 95,88% για το μοντέλο AlexNet, το οποίο παράγεται με τα βέλτιστα βάρη από την 9η εποχή εκπαίδευσης (από τις 10 συνολικά) με βάση την επιλογή “model checkpoint”. Η αντίστοιχη για το VGG-16 είναι 96,88% με τα βέλτιστα βάρη από την 4η εποχή. Από την άλλη πλευρά, με τα τελικά βάρη της 10ης εποχής, η ακρίβεια επικύρωσης είναι ίση με 95,63% για το VGG-19 και 92,13% για το ResNet-50. Το σύστημα ensemble CNN ξεπερνά όλες τις επιδόσεις με ακρίβεια επικύρωσης 97%.

Στη συνέχεια, αναπαρίστανται οι καμπύλες ROC και PRC για καθεμία από τις τέσσερις παγκρεατικές κλάσεις (Εικόνα 4.21) και εκτιμώνται οι αντίστοιχες τιμές ROC-AUC και

PRC-AUC. Επιπλέον, στις καμπύλες ROC, τα βέλτιστα σημεία λειτουργίας για κάθε κλάση υποδεικνύονται από έναν κόκκινο κύκλο. Για κάθε κλάση, το βέλτιστο σημείο προσδιορίζεται με τη μετακίνηση μιας ευθείας γραμμής με τιμή κλίσης S από την άνω αριστερή γωνία του διαγράμματος ROC ($FPR = 0$, $TPR = 1$) προς τα κάτω και δεξιά μέχρι να τέμνει την καμπύλη ROC της. Τα σημεία αυτά θεωρούνται βέλτιστα επειδή μεγιστοποιούν τον αριθμό των σωστά αναγνωρισμένων δειγμάτων για κάθε κλάση [134].



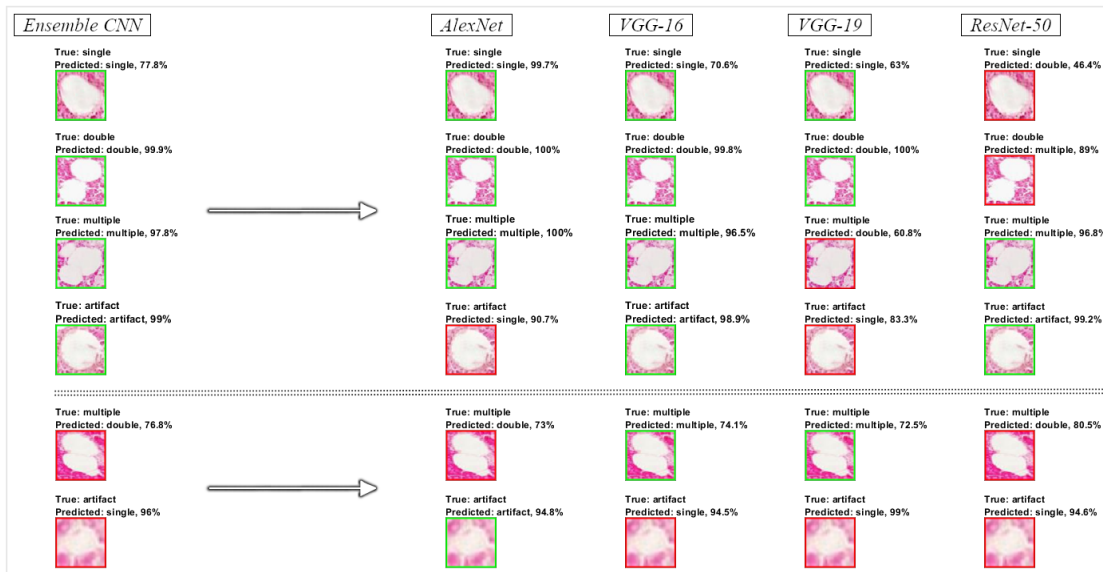
Εικόνα 4.21. Ανάλυση των καμπυλών ROC και PRC ανά κλάση παγκρέατος, συνοδευόμενες από τις τιμές AUC. Τα επιμέρους μοντέλα AlexNet, VGG-16, VGG-19 και ResNet-50 παρουσιάζουν μεγαλύτερη δυσκολία στη διαφοροποίηση μεταξύ ‘double’ και ‘multiple’ αντικειμένων σε σύγκριση με τις δομές ‘single’ και ‘artifact’. Σύμφωνα με τη μέθοδο OvR, η διάκριση των τεσσάρων κλάσεων βελτιώνεται στον ταξινομητή ensemble CNN, αλλά η αναγνώριση όλων των ‘double’ δομών παραμένει μια πρόκληση. Παρ’ όλα αυτά, το μοντέλο ensemble CNN παρουσιάζει υψηλές μέσες τιμές ROC-AUC ($\geq 0,994$) και PRC-AUC ($\geq 0,996$) υποδεικνύοντας ικανοποιητικές επιδόσεις για το σύστημα ψηφιοφίας του με υψηλή ικανότητα πρόβλεψης.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο αλγόριθμος ensemble CNN λαμβάνει υπόψη μόνο τη μέγιστη πιθανότητα softmax για την πρόβλεψη της κλάσης κάθε λεπτομερώς συντονισμένου μοντέλου, οπότε οι πιθανότητες των υπολοίπων τριών κλάσεων δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό των κατωφλίων (thresholds) ROC και PRC. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το ζήτημα, το πρόβλημα υπολογισμού κατωφλίου 4 κλάσεων χωρίζεται σε τέσσερα δυαδικά προβλήματα χρησιμοποιώντας τη στρατηγική One-vs-Rest (OvR), όπου μία κλάση θεωρείται ως η θετική, ενώ οι υπόλοιπες κλάσεις αντιμετωπίζονται ως αρνητικές [135]. Συγκεκριμένα, για κάθε ιστολογικό δείγμα $x_i \subseteq X$ στο υποσύνολο δοκιμής, λαμβάνεται μια ετικέτα πρόβλεψης $y_i \in \{‘single’, ‘double’, ‘multiple’, ‘artifact’\}$ με την εφαρμογή τεσσάρων μεμονωμένων ταξινομητών CNN (f_k για $k \in \{AlexNet, VGG-16, VGG-19, ResNet-50\}$). Στη συνέχεια, η μέση μέγιστη πιθανότητα πρόβλεψης που υπολογίζεται από τον Αλγόριθμο 2 χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της πλειοψηφίας των ψήφων κλάσης για κάθε δείγμα δοκιμής:

$$\hat{y} = \overline{\arg \max}_{k \in \{1 \dots 4\}} f_k(X) \quad (4.10)$$

όπου οι προβλέψεις \hat{y} χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία τεσσάρων νέων διανυσμάτων ετικετών με τα ακόλουθα ονόματα κλάσεων: 1) ‘single’ - ‘non-single’, 2) ‘double’ - ‘non-double’, 3) ‘multiple’ - ‘non-multiple’ και 4) ‘artifact’ - ‘non-artifact’. Επιπλέον, η απόλυτη διαφορά μεταξύ της μέσης πιθανότητας πρόβλεψης και του 1 (η υψηλότερη δυνατή στο διάστημα εμπιστοσύνης softmax [0, 1]) υπολογίζεται για κάθε δυαδική ετικέτα αντίθετη από εκείνη της ταξινόμησης.

Η Εικόνα 4.22 καταδεικνύει την αξιοπιστία της προσέγγισης ταξινόμησης ensemble CNN για τα 400 δείγματα δοκιμής πριν από τον χαρακτηρισμό οποιασδήποτε άγνωστης κατατμημένης δομής στην Ενότητα 3.2. Ως υπενθύμιση, η μέθοδος ensemble CNN χρησιμοποιεί μια στρατηγική ψηφοφορίας στον Αλγόριθμο 2 για τον προσδιορισμό της πλειοψηφικής κλάσης κάθε ιστολογικού επιθέματος εικόνας, λαμβάνοντας υπόψη την προβλεπόμενη ετικέτα $y \in \{‘single’, ‘double’, ‘multiple’, ‘artifact’\}$ και την αντίστοιχη softmax πιθανότητα από τις επιμέρους αρχιτεκτονικές AlexNet, VGG-16, VGG-19 και ResNet-50. Όπως φαίνεται στην εικόνα, η μέθοδος ψηφοφορίας ταξινομεί σωστά τέσσερα δείγματα, τα οποία υποδεικνύονται με πράσινα πλαίσια. Ωστόσο, αντιμετωπίζει δυσκολίες στην ταξινόμηση δύο δειγμάτων που αφορούν περίπλοκες ανατομικές δομές, καθώς η απόδοσή της επηρεάζεται από τον βαθμό σύγχυσης που παρουσιάζει κάθε μεμονωμένο CNN.



Εικόνα 4.22. Παρουσίαση των αποτελεσμάτων ταξινόμησης για όλες τις προσεγγίσεις CNN, επισημαίνοντας τις σωστές προβλέψεις (predicted) με πράσινα πλαίσια και τις εσφαλμένες με κόκκινα πλαίσια, αντίστοιχα. Το σύστημα ψηφοφορίας του ensemble CNN αξιοποιεί τις προβλεπόμενες παγκρεατικές κλάσεις από τις επιμέρους αρχιτεκτονικές AlexNet, VGG-16, VGG-19 και ResNet-50, καθώς και τις σχετιζόμενες τιμές πιθανότητας softmax, για να καθορίσει την πλειοψηφική κλάση για κάθε ιστολογικό αντικείμενο.

Οπτικοποίηση πληροφοριακών χαρακτηριστικών

Για την οπτικοποίηση των πιο πληροφοριακών μικροσκοπικών χαρακτηριστικών κατά την ταξινόμηση μιας υγιούς ή ασθενικής μικροσκοπικής δομής, εφαρμόζονται οι μέθοδοι ενεργοποίησης Grad-CAM και LIME σε τέσσερα επιθέματα εικόνας, ένα για κάθε ιστολογική κλάση παγκρέατος (Εικόνα 4.23). Η ανάλυση πραγματοποιείται στα βέλτιστα δίκτυα Alex-Net και VGG-16, όπως προσδιορίζονται από την έκθεση ταξινόμησης στον Πίνακα 4.10.

Οι ενεργοποιήσεις Grad-CAM λαμβάνονται με τον υπολογισμό της διαβάθμισης-κλίσης της βαθμολογίας ταξινόμησης σε σχέση με τα συνελικτικά χαρακτηριστικά ενός συγκεκριμένου επιπέδου στα βαθιά δίκτυα [136]. Συγκεκριμένα, για να ληφθεί ένας χάρτης Grad-CAM (Gradient-weighted Class Activation Mapping) $L_{\text{Grad-CAM}}^c \in \mathbb{R}^{u \times v}$ πλάτους u και ύψους v για μια κλάση c , υπολογίζεται πρώτα η κλίση της βαθμολογίας ταξινόμησης για την κλάση c, y^c , πριν από τη συνάρτηση softmax, σε σχέση με τις ενεργοποιήσεις A^k του τελικού συνελικτικού χάρτη χαρακτηριστικών $\frac{\partial y^c}{\partial A_{ij}^k}$. Αυτοί οι προς τα πίσω ρέοντες ταυστές κλίσεις (gradient tensors) στη συνέχεια συγκεντρώνονται καθολικά κατά μέσο όρο (global average pooling) στις χωρικές διαστάσεις πλάτους i και ύψους j για την ανάκτηση των βαρών σημαντικότητας των νευρώνων α_k^c , ως έπεται:

$$\alpha_k^c = \frac{1}{Z} \sum_i \sum_j \frac{\partial y^c}{\partial A_{ij}^k} \quad (4.11)$$

όπου $\frac{1}{Z} \sum_i \sum_j$ είναι η συνάρτηση καθολικής συγκέντρωσης και $\frac{\partial y^c}{\partial A_{ij}^k}$ οι προς τα πίσω ρέουσες κλίσεις. Ο υπολογισμός του α_k^c κατά την οπισθοδιάδοση των κλίσεων σε σχέση με τις ενεργοποιήσεις περιλαμβάνει διαδοχικά γινόμενα των πινάκων βάρους και κλίσης σε σχέση με τις συναρτήσεις ενεργοποίησης μέχρι τον τελικό συνελικτικό χάρτη χαρακτηριστικών, όπου διαβιβάζονται οι κλίσεις. Έτσι, το βάρος α_k^c αντιπροσωπεύει μια μερική γραμμικοποίηση του βαθύ δικτύου ύπο το A και αποτυπώνει τη σημασία του χάρτη χαρακτηριστικών k για μια κλάση-στόχο c .

Για την ανάκτηση των πληροφοριακών χαρακτηριστικών, πραγματοποιείται ένας σταθμισμένος προς τα εμπρός συνδυασμός των χαρτών ενεργοποίησης και το αποτέλεσμα τροφοτείται σε μια συνάρτηση ReLU ως εξής:

$$L_{\text{Grad-CAM}}^c = \text{ReLU} \left(\sum_k \alpha_k^c A^k \right) \quad (4.12)$$

η οποία εφαρμόζεται σε έναν γραμμικό συνδυασμό των χαρτών $\sum_k \alpha_k^c A^k$ για να επισημανθούν τα χαρακτηριστικά που έχουν θετική επίδραση στην κλάση ενδιαφέροντος, δηλαδή τα εικονοστοιχεία που αυξάνουν τη βαθμολογία της κλάσης y^c . Εδώ, οι ενεργοποιήσεις ReLU του τελευταίου συνελικτικού επιπέδου του AlexNet ('relu5') και του συνελικτικού

μπλοκ του VGG-16 ('relu5_3') δηλώνονται ως οι απαιτούμενοι χάρτες χαρακτηριστικών με μη-μονοδιάστατες (non-singleton) χωρικές διαστάσεις.

Οι ενεργοποιήσεις LIME (Local Interpretable Model-agnostic Explanations) [137] προκύπτουν από την προσαρμογή ενός μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης με κανονικοποίηση Lasso σε 100 φιλτραρισμένα χαρακτηριστικά από όλα τα επίπεδα του AlexNet και του VGG-16. Αυτό παράγει ένα τετραγωνικό πλέγμα χαρακτηριστικών 10×10 με βάση τον λόγο διαστάσεων κάθε συνθετικής εικόνας LIME ($n = 3072$). Στην περίπτωση αυτή, ο αλγόριθμος προσαρμόζει ένα τοπικά σταθμισμένο γραμμικό μοντέλο στη γειτονιά του υπό εξήγηση παραδείγματος εισόδου, με αποτέλεσμα να λαμβάνονται πολλαπλά τοπικά σταθμισμένα γραμμικά μοντέλα που μπορούν να ερμηνευθούν. Η διαδικασία περιλαμβάνει την επίλυση ενός προβλήματος βελτιστοποίησης, το οποίο μπορεί να διατυπωθεί ως εξής:

$$\hat{f}(x) = \arg \min_{g \in G} L(f, g, \pi_x) + \Omega(g) \quad (4.13)$$

όπου \hat{f} είναι το τοπικό γραμμικό μοντέλο που προσεγγίζει το αρχικό μοντέλο στη γειτονιά του x , f το αρχικό μοντέλο που ερμηνεύεται, g το τοπικά σταθμισμένο γραμμικό μοντέλο που εκπαιδεύεται, G το σύνολο των πιθανών γραμμικών μοντέλων, π_x μια σταθμισμένη συνάρτηση πυρήνα (kernel) που καθορίζει τη γειτονιά του x , $L(f, g, \pi_x)$ η συνάρτηση απώλειας που μετρά τη διαφορά μεταξύ των προβλέψεων των f και g στη γειτονιά του x και $\Omega(g)$ η ποινή πολυπλοκότητας που αποθαρρύνει την υπερμοντελοποίηση του g στα δεδομένα εκπαίδευσης.

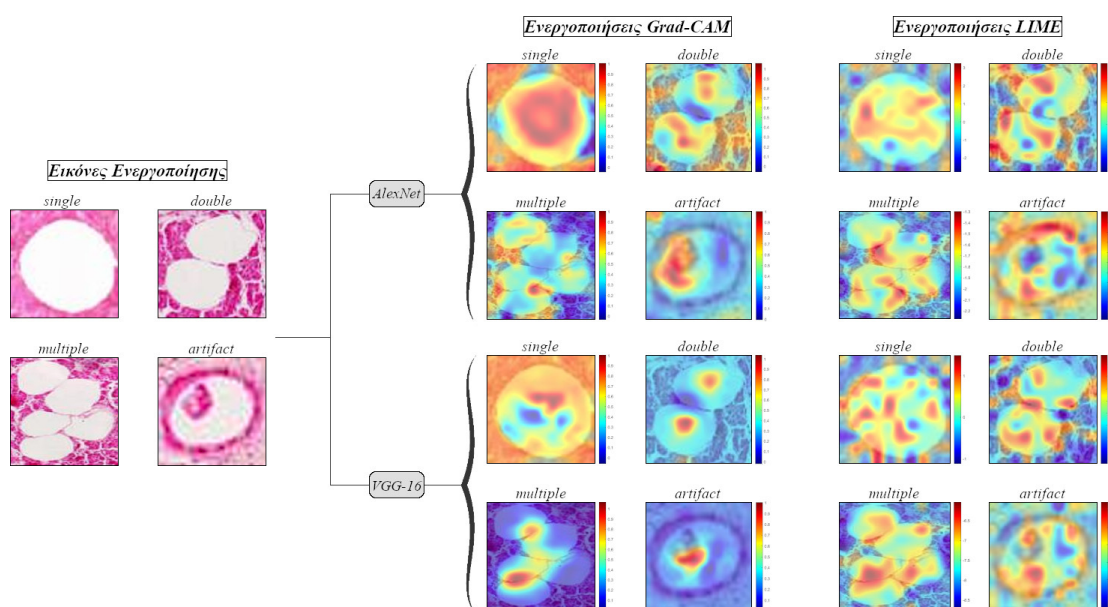
Ωστόσο, η άμεση επίλυση αυτού του προβλήματος είναι δυσχερής, οπότε χρησιμοποιείται η κανονικοποίηση Lasso (Lasso regularization) [138] για την απλοποίησή του. Η τεχνική κανονικοποίησης επιλέγει $K = 100$ χαρακτηριστικά και προσαρμόζει τα βάρη χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Η συγκεκριμένη τεχνική περιλαμβάνει επίσης την προσθήκη ενός όρου ποινής στην τυπική συνάρτηση απώλειας ελαχίστων τετραγώνων για την αποφυγή της υπερμοντελοποίησης. Η τροποποιημένη αντικειμενική συνάρτηση μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$\text{minimize } \frac{1}{2n} \|y - X\beta\|_2^2 + \lambda \|\beta\|_1 \quad (4.14)$$

όπου το y αντιπροσωπεύει το διάνυσμα των μεταβλητών απόκρισης, το X τον πίνακα των προβλέψεων, το β το διάνυσμα των προς εκτίμηση συντελεστών και το λ μια παράμετρο που ελέγχει το μέγεθος της κανονικοποίησης. Ο πρώτος όρος της αντικειμενικής συνάρτησης είναι η τυπική συνάρτηση απώλειας ελαχίστων τετραγώνων, η οποία μετρά τη διαφορά μεταξύ των προβλεπόμενων και των πραγματικών τιμών των μεταβλητών απόκρισης. Ο δεύτερος

όρος είναι ο όρος ποινής, ο οποίος είναι ανάλογος της L1 νόρμας του διανύσματος των συντελεστών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συρρίκνωση ορισμένων από τους συντελεστές προς το μηδέν, η οποία μέσω της παραμέτρου προσαρμογής λ μπορεί να οδηγήσει σε ένα μοντέλο που είναι λιγότερο πιθανό να υπερμοντελοποιήσει τα δεδομένα.

Οι προκύπτοντες χάρτες χαρακτηριστικών LIME υπερδειγματοληπτούνται στη συνέχεια με τη μέθοδο της δικυβικής παρεμβολής ώστε να αντιστοιχούν στη χωρική ανάλυση κάθε επιθέματος εικόνας. Αυτή η χωρική ανάλυση ισοδυναμεί με το μέγεθος των επιπέδων εισόδου στα δίκτυα AlexNet (227 × 227) και VGG-16 (224 × 224). Τέλος, οι χάρτες χαρακτηριστικών LIME συνδυάζονται με την τεχνική Grad-CAM για την παραγωγή ενός ομαλού χάρτη θερμότητας που αναδεικνύει τις πιο πληροφοριακές περιοχές των τεσσάρων παγκρεατικών δομών. Οι προκύπτουσες οπτικοποιήσεις πραγματοποιούνται με τιμή διαφάνειας δεδομένων α (alpha) 0,5 στα αρχικά επιθέματα εικόνας.



Εικόνα 4.23. Απεικόνιση πληροφοριακών χαρακτηριστικών σε μικροσκοπικές δομές παγκρέατος μέσω των χαρτών θερμότητας Grad-CAM και LIME. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι εξωτερικές καμπύλες έχουν μεγάλη επιρροή στην ταξινόμηση των μονών (single) και διπλά-συσσωματωμένων (double) δομών λίπους, ενώ τα μικρά κενά και οι γωνιώδεις (σε σχήμα V) ακμές παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση των πολλαπλά-συσσωματωμένων (multiple) περιοχών στεάτωσης. Η παρουσία ενός ερυθροκυττάρου στην παγκρεατική φλέβα αποτελεί σαφή ένδειξη τεχνουργήματος (artifact). Επιπλέον, οι ενεργοποιήσεις LIME αποκαλύπτουν πρόσθετα χαρακτηριστικά υψής που συμβάλλουν στην αναγνώριση ιστολογικών αντικειμένων. Είναι ενδιαφέρον ότι και οι δύο μέθοδοι ενεργοποίησης υποδηλώνουν ότι η αρχιτεκτονική VGG-16 εκτελεί μια πιο επιλεκτική ή διάσπαρτη αναζήτηση πληροφοριακών χαρακτηριστικών, η οποία οδηγεί σε μικρότερο μέσο σφάλμα ποσοτικοποίησης λίπους από ό,τι το μοντέλο AlexNet (Πίνακας 4.12) και ενδεχομένως σε λιγότερη υπερμοντελοποίηση.

Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της παγκρεατικής στεάτωσης

Στον Πίνακα 4.11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ποσοτικοποίησης λίπους για κάθε εικόνα παγκρέατος 20× που λαμβάνονται με τρεις διαφορετικές μεθόδους: 1) την κατάτμηση

κυκλικών αντικειμένων (στήλη 2), 2) τον χαρακτηρισμό τους με τη μέθοδο ταξινόμησης τεσσάρων παγκρεατικών αντικειμένων (στήλη 3) και 3) τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις των ιατρών με τη χρήση του εργαλείου επισημείωσης NDP.view2 (στήλη 4). Στο στάδιο της ταξινόμησης, ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιείται με τη χρήση των μεμονωμένων τοπολογιών AlexNet, VGG-16, VGG-19 και ResNet-50 CNN, καθώς και με τον ταξινομητή ensemble CNN (Αλγόριθμος 2).

Πίνακας 4.11: Αποτελέσματα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου βαθιάς μάθησης

Εικόνα Ελέγχου (20×)	Αναλογία Λίπους με Κατάτμηση (%)	Αναλογία Λίπους με Ταξινόμηση (%)					Αναλογία Λίπους με Ημιποσοτική Αξιολόγηση (%)	
		F_{Segm}	$F_{AlexNet}$	F_{VGG-16}	F_{VGG-19}	$F_{ResNet-50}$		$F_{EnsembleCNN}$
1	120216-Head	1,83	1,72	1,63	1,70	1,59	1,66	1,74
2	120216-Tail	1,58	1,37	1,21	1,32	1,30	1,29	1,31
3	120485-Tail	1,89	1,71	1,59	1,65	1,65	1,66	1,77
4	120495-Body	2,56	1,71	1,44	1,48	1,40	1,48	1,63
5	120495-Head	1,88	1,64	1,55	1,57	1,57	1,62	1,79
6	121543-Body	5,75	5,11	4,82	4,86	4,88	4,92	5,08
7	121543-Head	6,54	6,12	5,76	5,89	5,89	6,00	5,99
8	122020-Body	0,70	0,39	0,28	0,39	0,32	0,36	0,24
9	122020-Head	1,15	0,59	0,39	0,53	0,43	0,53	0,41
10	122020-Tail	1,22	0,61	0,45	0,50	0,48	0,47	0,44
11	122088-Body	0,52	0,40	0,35	0,36	0,33	0,35	0,36
12	122088-Tail	1,47	0,79	0,63	0,73	0,68	0,71	0,63
13	122288-Body	3,22	1,82	0,97	1,07	1,26	1,07	0,99
14	122288-Tail	0,68	0,41	0,34	0,42	0,36	0,39	0,35
15	122662-Body	1,38	0,16	0,08	0,11	0,09	0,10	0,05
16	122662-Tail	1,05	0,30	0,25	0,30	0,25	0,28	0,25
17	123538-Head	3,04	2,52	2,40	2,50	2,50	2,47	2,55
18	123883-Tail	2,84	2,62	2,41	2,52	2,33	2,56	2,39
19	123948-Tail	1,84	1,57	1,42	1,51	1,41	1,50	1,44
20	HP-0937	2,41	2,10	2,05	2,10	2,10	2,08	2,14
Μέση τιμή:		2,18	1,68	1,50	1,58	1,54	1,58	1,58

Τα αποτελέσματα στον Πίνακα 4.11 δείχνουν ότι τα μέσα ποσοστά στεάτωσης που προκύπτουν από το στάδιο της ταξινόμησης είναι χαμηλότερα από εκείνα που προκύπτουν από τη μέθοδο κατάτμησης εικόνας (F_{Segm}). Πιο εμφατικά, τα μέσα ποσοστά από τις ταξινομήσεις CNN κυμαίνονται από 1,50% έως 1,68%, που είναι ένα εύρος τιμών χαμηλότερο από το 2,18% που προκύπτει από το στάδιο κατάτμησης εικόνας. Οι χαμηλότερες μέσες τιμές μπορούν να αποδοθούν στο γεγονός ότι οι περισσότερες ψευδώς θετικές δομές λίπους ταξινομούνται ως ιστολογικό τεχνούργημα και συνεπώς αποκλείονται από τις ποσοτικοποιήσεις

του λόγου στεάτωσης. Ως εκ τούτου, μόνο οι περιοχές διήθησης λίπους με ετικέτα κλάσης ‘single’, ‘double’ ή ‘multiple’ περιλαμβάνονται στους υπολογισμούς της επικράτησης λίπους.

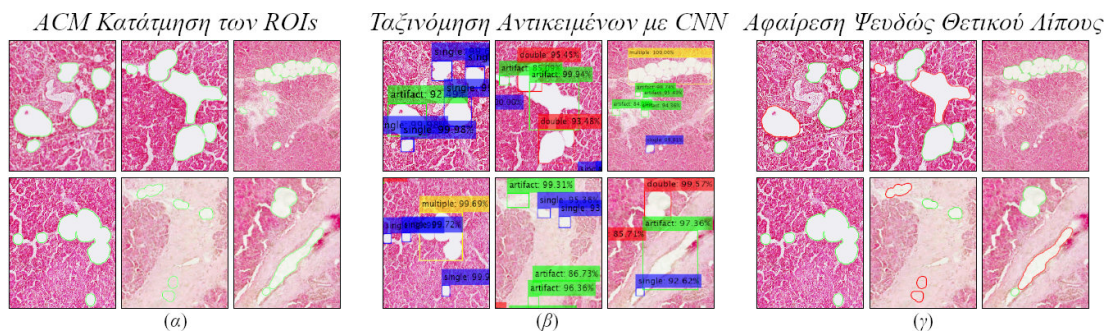
Συνεχίζοντας, οι ημιποσοτικές αξιολογήσεις των ιατρών (F_{Doc}) στη στήλη 4 του Πίνακα 4.11 οδηγούν στις τιμές απόλυτου σφάλματος για το στάδιο φιλτραρίσματος των κυκλικών δομών (S_{err}) και την ταξινόμησή τους ως ευρήματα λίπους στον Πίνακα 4.12. Σε 19 από τα 20 δείγματα βιοψίας, το στάδιο ταξινόμησης παρουσιάζει χαμηλότερο διαγνωστικό σφάλμα από ότι η μέθοδος κατάτμησης εικόνας (μέση τιμή: 0,6%), πριν δηλαδή από τον χαρακτηρισμό άγνωστων ιστολογικών δομών. Η μόνη μη-βέλτιστη επίδοση εντοπίζεται στο δείγμα #5 - (120495-Head), με τα ποσοστά επικράτησης λίπους και στους πέντε ταξινομητές να είναι μικρότερα από το 1,88% του σταδίου προεπεξεργασίας εικόνας, σύμφωνα με τον Πίνακα 4.11. Αυτό υποδηλώνει μια υποεκτίμηση του ποσοστού λίπους στο στάδιο της ταξινόμησης, λόγω της ανάθεσης ετικετών κλάσης ‘artifact’ σε αληθώς θετικές περιοχές συσσωματωμένου ή μη-συσσωματωμένου λίπους. Συμπερασματικά, ο αλγόριθμος ensemble CNN εμφανίζει το χαμηλότερο μέσο απόλυτο σφάλμα 0,08%, ξεπερνώντας τα VGG-16 (0,0879%), ResNet-50 (0,088%), VGG-19 (0,0927%) και AlexNet (0,14%). Ως τελευταίο, η τυπική απόκλιση των απόλυτων σφαλμάτων για το ensemble CNN είναι 0,05%, που αποτελεί τη μικρότερη τιμή σε σύγκριση με εκείνη που παράγεται από τα μεμονωμένα δίκτυα CNN (0,06% έως 0,17%) και τη μέθοδο κατάτμησης εικόνας (0,5%), υποδεικνύοντας μια πιο ισορροπημένη διαγνωστική απόδοση στη μέθοδο ψηφοφορίας του.

Πίνακας 4.12: Σφάλμα ποσοτικοποίησης παγκρεατικού λίπους μέσω του σταδίου βαθιάς μάθησης

Εικόνα Ελέγχου (20x)	Σφάλμα Κατάτμησης Εικόνας (%)		Σφάλμα Ταξινόμησης (%)				
	S_{err}	$AlexNet_{err}$	$VGG-16_{err}$	$VGG-19_{err}$	$ResNet-50_{err}$	$EnsembleCNN_{err}$	
1	120216-Head	0,09	0,02	0,11	0,04	0,15	0,08
2	120216-Tail	0,26	0,06	0,10	0,01	0,02	0,02
3	120485-Tail	0,13	0,06	0,18	0,12	0,12	0,11
4	120495-Body	0,93	0,08	0,19	0,15	0,22	0,14
5	120495-Head	0,09	0,16	0,24	0,23	0,22	0,18
6	121543-Body	0,67	0,03	0,26	0,21	0,20	0,16
7	121543-Head	0,54	0,13	0,23	0,10	0,10	0,00
8	122020-Body	0,46	0,15	0,04	0,15	0,07	0,12
9	122020-Head	0,74	0,18	0,02	0,12	0,02	0,12
10	122020-Tail	0,78	0,17	0,01	0,07	0,04	0,03
11	122088-Body	0,16	0,04	0,01	0,00	0,03	0,01
12	122088-Tail	0,84	0,15	0,01	0,10	0,05	0,08
13	122288-Body	2,22	0,83	0,02	0,08	0,27	0,08
14	122288-Tail	0,33	0,06	0,01	0,06	0,01	0,04
15	122662-Body	1,33	0,11	0,03	0,07	0,04	0,05
16	122662-Tail	0,80	0,05	0,01	0,05	0,00	0,04
17	123538-Head	0,49	0,03	0,15	0,05	0,05	0,09
18	123883-Tail	0,45	0,23	0,02	0,13	0,06	0,17
19	123948-Tail	0,39	0,13	0,02	0,07	0,04	0,05
20	HP-0937	0,27	0,05	0,09	0,04	0,04	0,06
	Μέση τιμή:	0,60	0,14	0,09	0,09	0,09	0,08
	Τυπική απόκλιση:	0,50	0,17	0,09	0,06	0,08	0,05

Οπτικοποίηση μεθόδου ταξινόμησης εικόνας

Για να καταδειχθεί περαιτέρω η αποτελεσματικότητα της μεθόδου ανίχνευσης λίπους, παρουσιάζονται οι οπτικοποιήσεις της απόδοσής της σε τμήματα διαφόρων ιστολογικών εικόνων. Στην Εικόνα 4.24α παρουσιάζεται το αποτέλεσμα του σταδίου προεπεξεργασίας εικόνας, όπου καταταμούνται οι υποψήφιες δομές λίπους. Ωστόσο, λόγω της παρουσίας τμημάτων με χαμηλή χρωματική αντίθεση, ορισμένα υγιή ιστολογικά αντικείμενα έχουν εσφαλμένα συμπεριληφθεί ως σταγονίδια λίπους. Επιπλέον, παρακείμενα κυκλικά αντικείμενα έχουν προκαλέσει τη συγχώνευση των εξωτερικών ορίων τους, με αποτέλεσμα την κατάτμηση υγιών ανατομιών εκτός από συσσωματωμένες περιοχές λίπους. Για να αφαιρεθούν αυτές τις εσφαλμένες συμπεριλήψεις από τις ποσοτικές εκτιμήσεις λίπους, το παραθύρο οριοθέτησης για κάθε άγνωστο κατατμημένο αντικείμενο προσδιορίζεται με βάση τις συντεταγμένες του μοντέλου ενεργού περιγράμματος (ACM) και ταξινομούνται με τη μέθοδο ensemble CNN (Εικόνα 4.24β). Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα μεμονωμένα σταγονίδια λίπους, οι διπλά-συσσωματωμένες και οι πολλαπλά-συσσωματωμένες περιοχές λίπους διακρίνονται επιτυχώς από τα ιστολογικά τεχνουργήματα με υψηλές τιμές πιθανότητας που κυμαίνονται από 85% έως 100%. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον αποκλεισμό των περισσότερων ψευδώς θετικών ευρημάτων λίπους από την ποσοτικοποίηση του βαθμού στεάτωσης, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.24γ.



Εικόνα 4.24. Οπτικοποίηση της βαθιάς μεθόδου ταξινόμησης παγκρεατικού λίπους σε μικροσκοπικά δείγματα 20×: (α) αποτέλεσμα κατάτμησης των κυκλικών-φωτεινών περιοχών ενδιαφέροντος (Regions Of Interest - ROIs) ως υποψήφια λιποκύτταρα με τη χρήση μοντέλων ενεργού περιγράμματος (ACMs), (β) υπολογισμός του παραθύρου οριοθέτησης για κάθε κατατμημένο με ACM αντικείμενο και ταυτοποίηση των πραγματικών περιοχών συσσώρευσης λίπους με το σύστημα ταξινόμησης ensemble CNN και (γ) αποκλεισμός των περισσότερων ψευδώς θετικών δομών στεάτωσης (κόκκινα περιγράμματα) από τους υπολογισμούς της αναλογίας λίπους.

Ομοιότητα κατάτμησης περιοχών λίπους

Το επόμενο βήμα επικεντρώνεται σε μια άλλη τεχνική για τη μέτρηση της αξιοπιστίας της προτεινόμενης μεθοδολογίας κατόπιν αξιολόγησης της αναλογίας λίπους και υπολογισμού του απόλυτου διαγνωστικού σφάλματος για κάθε βιοψία παγκρέατος. Αυτό σχετίζεται με τον υπολογισμό της ομοιότητας κατάτμησης λίπους μεταξύ δύο δυαδικών εικόνων: 1) της μάσκας βασικής αλήθειας που λαμβάνεται από τις χειροκίνητες επισημειώσεις των περιοχών

λίπους και 2) της αντίστοιχης που παράγεται από τη μέθοδο επεξεργασίας εικόνας με τη φάση ταξινόμησης. Η σύγκριση πραγματοποιείται με βάση τον συντελεστή ομοιότητας Sorensen-Dice [139], ο οποίος υπολογίζεται με τον ακόλουθο τύπο:

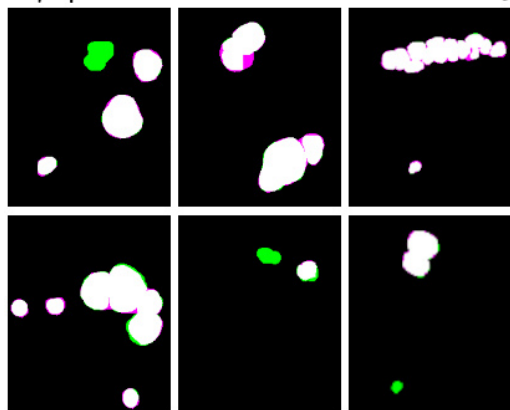
$$D_{coeff}(GT, SG) = \frac{2(|GT \cap SG|)}{|GT| + |SG|} \quad (4.15)$$

όπου τα σύνολα $|GT|$ και $|SG|$ συμβολίζουν τις δυαδικές εικόνες της βασικής αλήθειας και της υπολογιζόμενης κατάτμησης, αντίστοιχα, ενώ το \cap υποδηλώνει τα σημεία τομής των λογικών τιμών '1' στο δισδιάστατο πλέγμα εικονοστοιχείων τους. Η παραπάνω Εξ.4.15 μπορεί επίσης να εκφραστεί σε όρους αληθώς θετικών (TP), ψευδώς θετικών (FP) και ψευδώς αρνητικών (False Negative - FN) εικονοστοιχείων [140], ως εξής:

$$D_{coeff}(GT, SG) = \frac{2TP}{2TP + FP + FN} \quad (4.16)$$

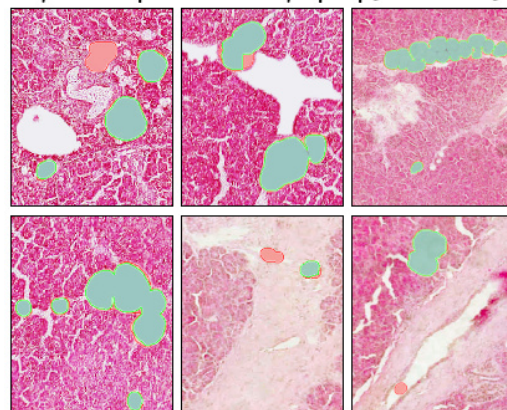
Με βάση την Εξ.4.16, το αποτέλεσμα της τομής των μασκών βασικής αλήθειας και υπολογιζόμενης κατάτμησης παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.25α. Σε αυτή την εικόνα διακρίνονται τρεις διαφορετικές αποχρώσεις εικονοστοιχείων: 1) λευκά εικονοστοιχεία που υποδεικνύουν την τομή των λογικών τιμών '1' μεταξύ των δύο δυαδικών εικόνων ως αληθώς θετικές περιοχές λίπους, 2) πράσινα εικονοστοιχεία που αναφέρονται σε ψευδώς θετικές συμπεριλήψεις

Τομή Δυαδικών Εικόνων Λίπους



(α)

Ομοιότητα Κατάτμησης Λίπους



(β)

Εικόνα 4.25. Οπτική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων ομοιότητας Dice κατάτμησης λίπους: (α) λευκό → αληθώς θετικά (TP) εικονοστοιχεία λίπους, που προκύπτουν από την τομή των λογικών τιμών '1' στις εικόνες βασικής αλήθειας και υπολογισμένης κατάτμησης, πράσινο → ψευδώς θετικές (FP) δομές στεάτωσης που περιλαμβάνονται από την αυτοματοποιημένη προσέγγιση αλλά όχι από τις χειροκίνητες επισημειώσεις και ματζέντα → ψευδώς αρνητικά (FN) εικονοστοιχεία λίπους που περιλαμβάνονται από τις επισημειώσεις αλλά όχι από την υπολογιστική μέθοδο και (β) πράσινο → κοινές περιοχές συσσώρευσης λίπους μεταξύ των δύο δυαδικών εικόνων και κόκκινο → ανακριβείς ή ανεπιτυχείς συμπεριλήψεις δομών λίπους από τη μεθοδολογική προσέγγιση.

περιοχών λίπους και 3) ματζέντα εικονοστοιχεία που υποδηλώνουν ψευδώς αρνητικές ή ανεπιτυχείς συμπεριλήψεις από τη μέθοδο ανάλυσης εικόνας. Τα τελικά αποτελέσματα της ομοιότητας κατάτμησης μπορούν κατά προτίμηση να απεικονιστούν στις αρχικές εικόνες βιοψίας H&E (Εικόνα 4.25β). Αυτές οι συσχετίσεις λαμβάνονται με την εφαρμογή των λογικών τελεστών *AND* (μη-μηδενικά στοιχεία στις ίδιες συντεταγμένες εικόνας) και *XOR* (μη-μηδενικά στοιχεία σε διαφορετικές συντεταγμένες εικόνας) στις δύο δυαδικές μάσκες που αναφέρονται παραπάνω. Εδώ, τα επιτυχώς κατατμημένα εικονοστοιχεία λιπιδίων προβάλλονται με πράσινη επικάλυψη, ενώ τα εσφαλμένως κατατμημένα με κόκκινο χρώμα, αντίστοιχα. Αυτή η αναπαράσταση μπορεί να βοηθήσει στην περαιτέρω ανάλυση των τελικών κατατμήσεων των περιοχών λίπους στην Εικόνα 4.24γ, όπου μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ ορθά και λανθασμένα συμπεριληφθέντων ευρημάτων στις ποσοτικές αξιολογήσεις του λόγου στεάτωσης.

Στον Πίνακα 4.13 παρουσιάζονται οι συντελεστές ομοιότητας κατάτμησης Dice για κάθε μία από τις παγκρεατικές εικόνες 20× με τη χρήση των ατομικών μοντέλων CNN και του αλγόριθμου ensemble CNN. Ο στόχος ήταν να επιτευχθούν βαθμολογίες $\geq 70\%$ για την προσέγγιση ταξινόμησης ensemble CNN ως η τιμή αποκοπής (cut-off), υποδεικνύοντας ένα πολύ καλό επίπεδο συμφωνίας μεταξύ των υπολογιστικών διαγνώσεων και των οπτικο-χειροκίνητων αξιολογήσεων των κλινικών ιατρών.

Πίνακας 4.13: Ομοιότητα κατάτμησης παγκρεατικού λίπους Sorensen-Dice

Εικόνα	Ελέγχου (20×)	<i>AlexNet</i> _{Dice}	<i>VGG-16</i> _{Dice}	<i>VGG-19</i> _{Dice}	<i>ResNet-50</i> _{Dice}	<i>EnsembleCNN</i> _{Dice}
1	120216-Head	91,8	90,3	91,6	91,7	91,0
2	120216-Tail	88,0	91,0	89,1	90,0	90,3
3	120485-Tail	87,7	86,4	86,5	86,2	87,0
4	120495-Body	78,1	82,4	80,5	82,3	82,3
5	120495-Head	87,0	87,5	86,4	87,0	88,5
6	121543-Body	89,0	90,1	89,5	89,8	90,2
7	121543-Head	90,5	91,7	91,2	90,7	90,9
8	122020-Body	60,2	66,0	60,5	64,9	63,4
9	122020-Head	70,0	76,9	73,1	66,4	73,3
10	122020-Tail	71,6	80,7	77,5	77,4	79,9
11	122088-Body	81,9	83,0	86,1	84,1	85,9
12	122088-Tail	78,9	83,4	82,5	80,9	81,9
13	122288-Body	63,1	84,2	80,5	77,4	83,6
14	122288-Tail	79,9	86,9	79,7	79,0	81,3
15	122662-Body	36,2	57,8	47,7	54,6	53,1
16	122662-Tail	82,7	86,8	82,9	80,0	85,4
17	123538-Head	90,6	92,5	91,6	89,0	91,6
18	123883-Tail	87,7	89,8	89,5	83,6	88,2
19	123948-Tail	84,4	88,4	87,0	85,6	87,0
20	HP-0937	91,0	91,8	88,4	91,3	91,3
	Μέση τιμή:	79,5	84,4	82,1	81,6	83,3
	Τυπική απόκλιση:	13,76	8,82	11,00	9,81	9,90

Εξετάζοντας τον Πίνακα 4.13, διαπιστώνεται ότι υπάρχει πολύ καλή συμφωνία Dice σε 18 από τις 20 εικόνες NAFFD. Οι ομοιότητες $EnsembleCNN_{Dice}$ με συντελεστές κάτω του 70% εντοπίζονται στα δείγματα #8 - (122020-Body) και #15 - (122662-Body). Αυτές οι χαμηλότερες βαθμολογίες αποδίδονται κυρίως στα χαμηλά ποσοστά λίπους, όπως εκτιμώνται από τους ιατρούς στον Πίνακα 4.11 (122020-Body = 0,24% και 122662-Body = 0,05%). Λόγω του μικρού αριθμού δομών λίπους, κάθε ανεπιτυχής τομή εικονοστοιχείων μεταξύ των εικόνων βασικής αλήθειας και υπολογισμένης κατάτμησης μειώνει σημαντικά τον συντελεστή ομοιότητας. Ωστόσο, σημειώνεται ότι και τα πέντε μοντέλα CNN έχουν μέση βαθμολογία Dice άνω του 70%, με τη μέθοδο ensemble CNN να κατατάσσεται δεύτερη (83,3%) μετά το βέλτιστο δίκτυο VGG-16 (84,4%). Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει ότι το σύστημα ψηφοφορίας που χρησιμοποιείται στην προσέγγιση ensemble CNN μπορεί να μην παρέχει πάντα πλεονέκτημα έναντι των μεμονωμένων μοντέλων CNN, ειδικά σε περιπτώσεις δειγμάτων με χαμηλό λόγο στεάτωσης. Τέλος, το VGG-19 έχει την τρίτη καλύτερη μέση απόδοση (82,1%), ακολουθούμενο από το ResNet-50 (81,6%) και το AlexNet (79,5%).

4.5 Συγκριτική Μελέτη Μεταφοράς Μάθησης έναντι Νέων CNN Αρχιτεκτονικών σε Προβλήματα Ταξινόμησης Ιστοπαθολογικών Ευρημάτων

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη βελτίωση της διακριτικής ικανότητας πολλαπλών ιστολογικών δομών σε εικόνες βιοψίας, με γνώμονα τα ευρήματα προηγούμενων μελετών ταξινόμησης [3]. Ειδικότερα, αποσκοπεί στην επίτευξη ακριβέστερων αποτελεσμάτων σε σύγκριση με τις μεθοδολογικές προσεγγίσεις που παρουσιάζονται στην Ενότητα 4.2. Προς τούτο, εκπαιδεύεται ένα νέο βαθύτερο συνελικτικό νευρωνικό δίκτυο (CNN) σε ένα μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων με τη χρήση τεχνικών επαύξησης εικόνας για την εκ νέου επίλυση του προβλήματος ταξινόμησης των τεσσάρων ηπατικών κλάσεων (διόγκωση, λίπος, κολποειδές και φλέβα). Στη συνέχεια, η απόδοση του προσαρμοσμένου μοντέλου συγκρίνεται με εκείνη διάφορων προ-εκπαιδευμένων αρχιτεκτονικών CNN, με ιδιαίτερη έμφαση στους χρόνους εκπαίδευσης.

4.5.1 Υλικά και μέθοδοι

Στο υπόλοιπο της εργασίας περιγράφεται μια μέθοδος ταξινόμησης δύο σταδίων για την επίτευξη πλήρως αυτοματοποιημένου χαρακτηρισμού τεσσάρων ιστολογικών δομών:

1. Εξαγωγή ιστολογικών αντικειμένων από ψηφιοποιημένα δείγματα βιοψίας με τη μορφή επιθεμάτων εικόνας, που υποδεικνύουν τέσσερες ηπατικές κλάσεις και επαύξησή τους για την διαμόρφωση ενός διευρυμένου συνόλου εκπαίδευσης και δοκιμής.

2. Εκπαίδευση ενός βαθύ CNN από την αρχή για τη μέτρηση της απόδοσής του στην ταξινόμηση των τεσσάρων ανατομικών δομών του ήπατος. Η ικανότητα διάκρισης του νέου CNN συγκρίνεται στη συνέχεια με εκείνη που παράγεται από τη μεταφορά μάθησης σε γνωστά προ-εκπαιδευμένα βαθιά μοντέλα.

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Το σύνολο δεδομένων που χρησιμοποιείται στη παρούσα μελέτη αποτελείται από ψηφιοποιημένες εικόνες σε μεγέθυνση $20\times$ και $40\times$ από τη βάση δεδομένων βιοψίας ήπατος (βλ. Ενότητα 2.2.1). Σε αυτές εφαρμόζεται ένα εργαλείο αποκοπής για την εξαγωγή μεμονωμένων ιστολογικών δειγμάτων με τη μορφή επιθεμάτων εικόνας, δημιουργώντας εν τέλει ένα ισορροπημένο σύνολο 720 υγιών και ασθενικών δομών με ιστολογικές ετικέτες κλάσης {διογκωμένο ηπατοκύτταρο, λιπίδιο, κολποειδές, φλέβα}. Για να αυξηθεί το πλήθος των δειγμάτων εκπαίδευσης, εφαρμόζονται τεχνικές επαύξησης εικόνας, συμπεριλαμβανομένων τυχαίων αντικατοπτρισμών εικόνας στον x - και στον y -άξονα και τυχαίων περιστροφών μεταξύ ενός κλειστού εύρους $[-45, 45]$ μοιρών. Αυτές οι τεχνικές συνθέτουν πολλαπλές παραλλαγές για κάθε επίθεμα εικόνας, με αποτέλεσμα ένα σύνολο δεδομένων 3600 ιστολογικών αντικειμένων που κατανέμονται σε 2600 δείγματα εκπαίδευσης, 600 επικύρωσης και 400 δείγματα δοκιμής.

Αρχιτεκτονική συνελικτικού νευρωνικού δικτύου

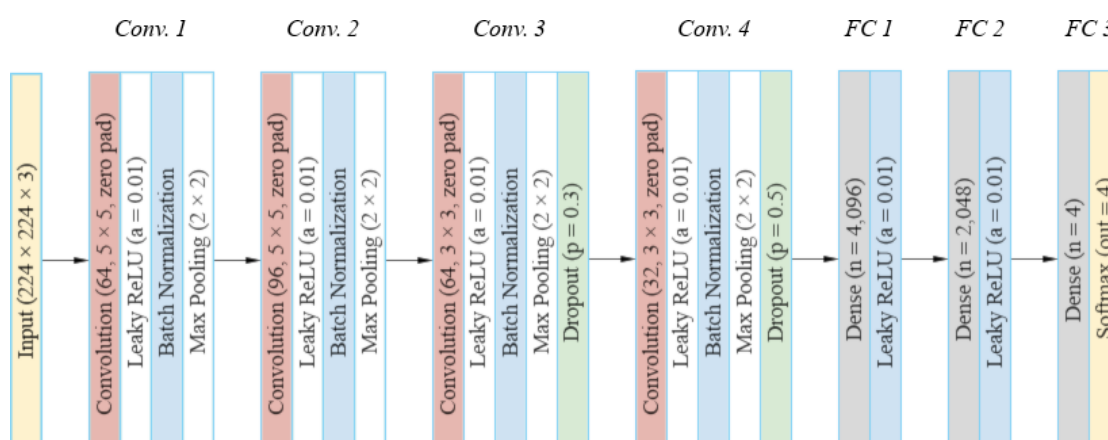
Το πρώτο βήμα είναι ο ορισμός πολλαπλών επιπέδων σε μια προσαρμοσμένη αρχιτεκτονική συνελικτικού νευρωνικού δικτύου (CNN) για τη γενίκευση των χαρακτηριστικών που μπορούν να οδηγήσουν στην ταξινόμηση των μικροσκοπικών ηπατικών κλάσεων. Όλοι οι υπολογισμοί των επιπέδων συνέλιξης εκτελούνται παράλληλα με τη χρήση δύο NVIDIA GeForce RTX 2070 Super GPUs. Η Εικόνα 4.26 απεικονίζει τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε κάθε επίπεδο συνέλιξης της προτεινόμενης βαθιάς αρχιτεκτονικής, η οποία έχει οριστεί να εκπαιδευτεί σε δεδομένα $224 \times 224 \times 3$ (πλάτος, ύψος, βάθος) εικονοστοιχείων, τα οποία αλλάζουν μέγεθος με τον αλγόριθμο επαναδειγματοληψίας Lanczos3.

Ειδικότερα, προκειμένου να μειωθεί η διαστασιμότητα και να αποφευχθεί η υπερμοντελοποίηση των δεδομένων εκπαίδευσης, ρυθμίζονται τέσσερα επίπεδα συνέλιξης. Τα επίπεδα αυτά περιλαμβάνουν διαφορετικούς συνδυασμούς του αριθμού και του μεγέθους των πυρήνων συνέλιξης για την ανίχνευση κρίσιμων ανατομικών χαρακτηριστικών από κάθε δείγμα βιοψίας. Η τεχνική μηδενικής συμπλήρωσης εφαρμόζεται σε κάθε πράξη συνέλιξης για την προσθήκη ενός πλαισίου εικονοστοιχείων με μηδενική τιμή γύρω από τις άκρες και τη διατήρηση του αρχικού μεγέθους εισόδου κάθε φίλτρου πυρήνα [119].

Για την ανάθεση τυχαίων βαρών στο προσαρμοσμένο μοντέλο CNN, χρησιμοποιείται η συνάρτηση αρχικοποίησης βαρών “random normal” η οποία αναθέτει τιμές στα βάρη αντλώντας τυχαίους αριθμούς από μια κανονική κατανομή, με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση 0,01. Η

επιλογή αυτού του αρχικοποιητή βαρών διευκολύνει τη διερεύνηση προτύπων με μεγαλύτερο εύρος τιμών βαρών κατά τα αρχικά στάδια της εκπαίδευσης, ενισχύοντας την ικανότητα του μοντέλου να ανιχνεύει ποικίλα χαρακτηριστικά σε διάφορες περιοχές μιας σκηνης. Καλείται επίσης να αποτρέψει ζητήματα όπως ο κορεσμός και η εξαφάνιση κλίσεων κατά την εφαρμογή του κανόνα της αλυσίδας στην οπισθοδιάδοση σφάλματος [123].

Ακολουθώντας, εφαρμόζεται η μη-γραμμική συνάρτηση ενεργοποίησης Leaky ReLU με κλιμακωτό πολλαπλασιαστή $a = 0,01$ στις αρνητικές τιμές εισόδου, ενώ η τεχνική κανονικοποίησης παρτίδας καλείται να ομαλοποιήσει τις τιμές συνέλιξης. Εδώ, η χρήση της Leaky ReLU μπορεί να είναι επωφελής, καθώς μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της απόδοσης του προσαρμοσμένου CNN αποτρέποντας το πρόβλημα των εξαφανιζόμενων κλίσεων της παραδοσιακής ReLU και επιτρέποντας την ταχύτερη γενίκευση ακόμη και με έναν μικρό ρυθμό μάθησης, ο οποίος ορίζεται στο $1e-3$ (0,001). Για την περαιτέρω αποφυγή της υπερμοντελοποίησης, ορίζεται ένα φίλτρο μέγιστης συγκέντρωσης 2×2 με βήμα 2 εικονοστοιχείων σε κάθε συνελικτικό επίπεδο, μειώνοντας το χωρικό μέγεθος (πλάτος, ύψος) της αναπαράστασης δεδομένων. Τέλος, περιλαμβάνονται τρία πυκνά επίπεδα, τα οποία τροφοδοτούν το διάνυσμα των φιλτραρισμένων χαρακτηριστικών στη συνάρτηση softmax για τη δημιουργία προβλέψεων για κάθε ετικέτα κλάσης ήπατος [119].



Εικόνα 4.26. Σχεδιασμός μιας βαθύτερης προσαρμοσμένης αρχιτεκτονικής CNN για την ταξινόμηση μικροσκοπικών ιστολογικών δομών, η οποία περιλαμβάνει ένα επίπεδο εισόδου με $224 \times 224 \times 3$ επιπέδα εικόνας, τέσσερα συνελικτικά επίπεδα και τρία πλήρως συνδεδεμένα επίπεδα (Fully Connected - FC). Η συνάρτηση ενεργοποίησης softmax καλείται για την παραγωγή πιθανοτήτων στην ταξινόμηση τεσσάρων ηπατικών κλάσεων: 1) εκφυλισμός ηπατοκυττάρων, 2) λιπίδιο, 3) κολποειδές και 4) φλέβα.

Μεταφορά μάθησης σε προ-εκπαιδευμένα CNN μοντέλα

Τα τελευταία χρόνια, η μεταφορά μάθησης έχει γίνει δημοφιλής λόγω της αποτελεσματικότητάς της σε προ-εκπαιδευμένα συνελικτικά νευρωνικά δίκτυα που εκπαιδεύτηκαν αρχικά σε ένα μεγάλο σύνολο δεδομένων, όπως το ImageNet. Στην παρούσα μελέτη, αξιολογείται η απόδοση τεσσάρων ευρέως διαδεδομένων προ-εκπαιδευμένων μοντέλων CNN, που είναι τα: 1) AlexNet [127], 2) VGG-19 [128], 3) GoogleNet (Inception-v1) [141] και 4)

Inception-v3 [142], κατά την προσαρμογή τους στο νέο ιστοπαθολογικό σύνολο δεδομένων και την ταξινόμηση των τεσσάρων μικροσκοπικών δομών ήπατος.

Στα παραπάνω εφαρμόζεται η τεχνική του λεπτομερούς συντονισμού (fine-tuning), έναν ειδικό τύπο μεταφοράς μάθησης που ενημερώνει τα βάρη των επιπέδων συνέλιξης ενός προ-εκπαιδευμένου μοντέλου, πέραν εκείνων των πλήρως συνδεδεμένων επιπέδου του, συνήθως με χαμηλότερο ρυθμό μάθησης από την αρχική εκπαίδευση, ο οποίος ορίζεται ίσως με $1e-4$ (0,0001).

4.5.2 Αποτελέσματα

Αποτελέσματα εκπαίδευσης

Για τη διαδικασία εκπαίδευσης, όλοι οι ταξινομητές εκπαιδεύονται για το πολύ 10 εποχές, με διαφορετικά μεγέθη εικόνων εισόδου ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο βαθύ CNN. Ως αλγόριθμος βελτιστοποίησης επιλέγεται ο SGDM με τιμή ορμής 0,9 και ο αριθμός της υπομονής επικύρωσης ορίζεται σε 3. Ο Πίνακας 4.14 συνοψίζει τους χρόνους εκπαίδευσης για όλες τις βαθιές αρχιτεκτονικές που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση του επαυξημένου συνόλου δεδομένων βιοψίας ήπατος. Δεδομένου ότι οι χρόνοι αυτοί δεν μπορούν να συγκριθούν άμεσα, προστίθεται μια παράμετρος t , η οποία αναφέρεται στην άγνωστη χρονική πολυπλοκότητα προ-εκπαίδευσης (σε λεπτά) των δικτύων AlexNet, VGG-19, GoogleNet και Inception-v3 με το σύνολο δεδομένων ImageNet.

Ο παρακάτω πίνακας δείχνει ότι η συνολική διαδικασία μάθησης του νέου μοντέλου CNN_L_{ReLU} διαρκεί 5,37 λεπτά, χάρη στις 34.3 εκατομμύρια παραμέτρους που εκπαιδεύονται με τη βοήθεια των δύο NVIDIA GPUs. Μεταξύ των βαθιών δικτύων, το VGG-19 παρουσιάζει τον μεγαλύτερο χρόνο μεταφοράς μάθησης ($t_v + 17,48$ λεπτά), ο οποίος είναι σημαντικά μεγαλύτερος από αυτόν των άλλων αρχιτεκτονικών CNN.

Πίνακας 4.14: Χρόνοι εκπαίδευσης του προσαρμοσμένου και των προεκπαιδευμένων αρχιτεκτονικών CNN

Βαθύ Μοντέλο	Παράμετροι Εκπαίδευσης (εκατομμύρια)	Χρονική Πολυπλοκότητα Προ-εκπαίδευσης (λεπτά)	Συνολική Χρονική Πολυπλοκότητα (λεπτά)
CNN_L_{ReLU}	34.3	0	5,37
AlexNet	61	t_a^*	$t_a + 4,42$
VGG-19	144	t_v^*	$t_v + 17,48$
GoogleNet	7	t_g^*	$t_g + 3,28$
Inception-v3	23.9	t_i^*	$t_i + 12,35$

* όπου τα t_a , t_v , t_g και t_i αναφέρονται στη χρονική πολυπλοκότητα προ-εκπαίδευσης για τα μοντέλα AlexNet, VGG-19, GoogleNet και Inception-v3, αντίστοιχα.

Αποτελέσματα δοκιμής

Για την αξιολόγηση της αναπτυσσόμενης μεθοδολογίας, όλα τα εκπαιδευμένα CNN καλούνται να αναγνωρίσουν 400 άγνωστα δείγματα δοκιμής (100 ανά κλάση). Ο Πίνακας 4.15 συγκρίνει την ακρίβεια, την πιστότητα, την ανάκληση και τις μέσες τιμές ROC-AUC που παράγονται από τους βαθείς ταξινομητές.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η αρχιτεκτονική CNN_L_ReLU επιτυγχάνει καλύτερα αποτελέσματα ταξινόμησης (ακρίβεια: 95,8%, πιστότητα: 95,8%, ανάκληση: 95,8% και μέση ROC-AUC: 99,7%) από το Inception-v3 (ακρίβεια: 94,3%, πιστότητα: 94,3%, ανάκληση: 94,2% και μέση ROC-AUC: 99,4%), ενώ το AlexNet αναδεικνύεται ως ο βέλτιστος ταξινομητής (ακρίβεια: 97,8%, πιστότητα: 97,8%, ανάκληση: 97,7% και μέση ROC-AUC: 99,8%). Είναι ενδιαφέρον ότι η προτεινόμενη τοπολογία CNN_L_ReLU όχι μόνο οδηγεί σε σύντομο χρόνο εκπαίδευσης αλλά και ξεπερνά την ακρίβεια ταξινόμησης που επιτυγχάνεται σε προηγούμενη μελέτη (από 95% σε 95,8%) και μάλιστα σε ένα μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων (βλ. Ενότητα 4.2)

Πίνακας 4.15: Σύγκριση της απόδοσης ταξινόμησης μεταξύ των μοντέλων CNN στο υποσύνολο δοκιμής ήπατος

Βαθύ Μοντέλο	Μέσες Μετρήσεις Απόδοσης (%)			
	Ακρίβεια	Πιστότητα	Ανάκληση	ROC-AUC
CNN _L _ReLU	95,8	95,8	95,8	99,7
AlexNet	97,8	97,8	97,7	99,8
VGG-19	97	97,1	97	99,9
GoogleNet	96,3	96,3	96,2	99,7
Inception-v3	94,3	94,3	94,2	99,4

Πριν από το κλείσιμο, συζητείται η χαμηλότερη επίδοση του Inception-v3. Τονίζεται ότι σε όλα τα προ-εκπαιδευμένα μοντέλα εφαρμόζεται η μέθοδος οπισθοδιάδοσης σφάλματος σε όλα τα επίπεδα του δικτύου. Γενικά, στις περισσότερες εργασίες λεπτομερούς συντονισμού, συνίσταται το πάγωμα των βαρών των αρχικών επιπέδων, καθώς οι περισσότεροι τύποι χαρακτηριστικών χαμηλότερου επιπέδου (π.χ. ακμές) έχουν γενικευτεί και η ενημέρωσή τους μπορεί να προκαλέσει υπερμοντελοποίηση στα νέα δεδομένα εκπαίδευσης [119]. Σύμφωνα με αυτή την παρατήρηση, εκτιμάται ότι η οπισθοδιάδοση σε όλα τα επίπεδα του Inception-v3 είναι ο κύριος παράγοντας για τη μειωμένη απόδοσή του. Το εύρημα αυτό συνάδει με την πειραματική μελέτη που διεξήχθη στην Ενότητα 4.2, όπου παρατηρήθηκε παρόμοια επίδραση στην απόδοση του μοντέλου VGG-16.

Κεφάλαιο 5

Μεθοδολογίες Σταδιοποίησης Κακοηθειών σε Εικόνες Ιστολογίας

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό επιχειρείται μια σύντομη επισκόπηση των παραδοσιακών συστημάτων που χρησιμοποιούνται για την ημιποσοτική ιστολογική διαβάθμιση της μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου και της μη-αλκοολικής στεατοηπατίτιδας. Επιπλέον, συζητείται η κλίμακα σταδιοποίησης του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος Fuhrman και, στην επόμενη ενότητα, παρουσιάζεται η ενσωμάτωσή της σε ένα υβριδικό σύστημα εποπτευόμενης μάθησης για τον χαρακτηρισμό των καταταμημένων καρκινικών κυττάρων από το στάδιο της προεπεξεργασίας εικόνας στην Ενότητα 3.3.

5.1 Ημιποσοτικοποιημένες Διαβαθμούμενες Κλίμακες

Η ιστοπαθολογική διαβάθμιση είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή ποιοτικών δεδομένων από βιολογικά υλικά, η οποία περιλαμβάνει την αναγνώριση ιστολογικών αλλοιώσεων και τον καθορισμό διακριτών αριθμητικών ορίων μεταξύ κλιμάκων κατάταξης. Οι συγκεκριμένες έννοιες έχουν αποδειχθεί χρήσιμες στη ανάπτυξη λογισμικών διάγνωσης που προσομοιώνουν τη διαδικασία οπτικής παρατήρησης των ιατρών [143]. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι το σύστημα Kleiner για τη διαβάθμιση των παθολογιών που σχετίζονται με τη μη-αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD) και τη μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease - NAFPD), οι δείκτες Ishak και METAVIR για τη διαβάθμιση της ιστολογικής ίνωσης και κίρρωσης του ήπατος και η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος Fuhrman για τη σταδιοποίηση του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (clear cell Renal Cell Carcinoma - ccRCC).

Οι προαναφερθείσες κλίμακες, ωστόσο, περιορίζουν την έκταση μιας πάθησης σε λίγες διαφορετικές βαθμίδες (π.χ. 0 - φυσιολογική, 1 - ήπια, 2 - μέτρια και 3 - σοβαρή), αξιολογώντας χονδρικά την κατάσταση, γεγονός που έχει αποδειχθεί ότι μεροληπτεί στους ανθρώπινους παρατηρητές. Σύμφωνα με μελέτες, για να εξασφαλιστεί η αναπαραγωγιμότητά τους θα πρέπει να κατανεμηθούν σε 4 έως 5 επίπεδα. Αυτό συμβαίνει επειδή οι χαμηλότερες τιμές τείνουν να μειώνουν την ευαισθησία ενός συστήματος στην εκτίμηση της σοβαρότητας της νόσου, ενώ οι υψηλότερες την επαναληψιμότητά του, αντίστοιχα [144]. Πέραν τούτου, για να υιοθετηθούν αυτές οι κλίμακες σε διαγνωστικά λογισμικά, θα πρέπει είτε να μοντελοποιηθούν αυτούσιες ώστε να καταχθούν οι ασθενείς σε μία από αυτές, όπως στην περίπτωση του συστήματος βαθμολόγησης Fuhrman για την κακοήθεια του ccRCC, είτε να συσχετιστούν ισχυρά με νέα και συνεχή μέτρα, όπως η αναλογία διήθησης λίπους και κολλαγόνου για την ποσοτική μέτρηση της στεάτωσης και της ιστολογικής ίνωσης, αντίστοιχα.

5.1.1 Σύστημα βαθμολόγησης Kleiner

Οι Kleiner et al. [145] πρότειναν ένα ημιποσοτικό σύστημα για τη διαβάθμιση της σοβαρότητας των διαφόρων ιστολογικών χαρακτηριστικών της NAFLD, συμπεριλαμβανομένης της στεάτωσης, της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης και της φλεγμονής. Οι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι η προσέγγισή τους μπορεί να βαθμολογήσει με ακρίβεια τη δραστηριότητα της NAFLD σε δείγματα τόσο από ενήλικες όσο και νεαρούς δότες. Ωστόσο, σύμφωνα με τους παθολόγους της επιτροπής αξιολόγησης, μόνο οι ιστολογικές χρώσεις H&E και Masson's trichrome μπορούν να υποδείξουν την αναπαραγωγιμότητα του συστήματος σε κλινικές δοκιμές.

Ο Πίνακας 5.1 καταδεικνύει ότι το σύστημα Kleiner συνδυάζει ποσοτικές εκτιμήσεις της σοβαρότητας της στεάτωσης NAFLD και μπορεί επίσης να βασιστεί στις τοποθεσίες εναπόθεσης των φυσαλίδων λίπους. Ωστόσο, η μέθοδος μπορεί να παρέχει μόνο ποιοτικές αναλύσεις της κυτταρικής διόγκωσης και της ιστολογικής φλεγμονής. Παρόλα αυτά, η ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης έδειξε ότι η διάγνωση της στεατοηπατίτιδας δεν μπορεί να βασίζεται στην αξιολόγηση μιας μόνο ιστολογικής αλλοίωσης, αλλά αντίθετα απαιτεί την εξέταση πολλαπλών ανεξάρτητων χαρακτηριστικών. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει τη λεπτομερή διάκριση μεταξύ NASH και μη-NASH λιπώδους ηπατικής νόσου.

Αξιοσημείωτο είναι, ότι η τρέχουσα μέθοδος έχει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί για τη σταδιοποίηση της παγκρεατικής στεάτωσης, καθώς επί του παρόντος δεν υπάρχει κάποια ευρέως αποδεκτή προσέγγιση διαβάθμισης για τη μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο (NAFPD).

Πίνακας 5.1: Σύστημα Kleiner για τη διαβάθμιση δραστηριότητας NAFLD

Στεάτωση		Ηπατοκυτταρική Διόγκωση	
Βαθμός	Περιγραφή	Βαθμός	Περιγραφή
0	5%	0	Καμία
1	5% - 33%	1	Λίγα διογκωμένα κύτταρα
2	33% - 66%	2	Προεξέχουσα (πολλά κύτταρα)
3	66%		
Λοβιακή Φλεγμονή		Πυλαία Φλεγμονή (αξιολογημένη από χαμηλή μεγέθυνση)	
Βαθμός	Περιγραφή	Βαθμός	Περιγραφή
0	Απουσία εστιών	0	Καμία έως ελάχιστη
1	< 2 εστίες ανά 200× πεδίο	1	Μεγαλύτερη από ελάχιστη
2	2 - 4 εστίες ανά 200× πεδίο		
3	> 4 εστίες ανά 200× πεδίο		

5.1.2 Σύστημα βαθμολόγησης Ishak και METAVIR

Στη παρούσα υποενότητα γίνεται σύντομη ανασκόπηση των δεικτών ιστολογικής δραστηριότητας (Histology Activity Indexes - HAIs) Ishak και METAVIR, οι οποίοι έχουν υιοθετηθεί ευρέως ως πρότυπα τα τελευταία χρόνια για όλες τις ημιποσοτικές προσεγγίσεις ταξινόμησης της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας. Οι δύο δείκτες επικεντρώνονται κυρίως στον εντοπισμό της ίνωσης και των αρχιτεκτονικών διαταραχών ως ενδείξεων αλλοίωσης σε δείγματα βιοψίας. Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα αυτών των δεικτών είναι η ισχυρή προγνωστική τους αξία, λόγω της λεπτομερούς διατύπωσης κάθε ιστολογικής εξέλιξης, ακόμη και όταν η διάγνωση της κίρρωσης είναι αβέβαιη [146].

Πιο συγκεκριμένα, το Ishak HAI [146] αποτελεί μια τροποποίηση της κλασικής μεθόδου βαθμολόγησης Knodell [147] και επεκτείνεται σε επτά στάδια (0 - 6) σε αντίθεση με τα τέσσερα του Knodell (0 - 3). Αντιθέτως, το METAVIR HAI [148] έχει πέντε στάδια (0 - 4), αποτελώντας την προτιμώμενη επιλογή στην πλειονότητα των σύγχρονων μελετών ως αποτέλεσμα της επίτευξης της κατάλληλης ισορροπίας μεταξύ του αριθμού των σταδίων και του επιπέδου λεπτομέρειας για κάθε στάδιο. Εν ολίγοις, τηρεί τις προαναφερθείσες θεμελιώδεις αρχές για τη δημιουργία ενός συστήματος με υψηλή αναπαραγωγιμότητα-επαναληψιμότητα (βλ. Ενότητα 5.1). Η πιο εμφανής διαφορά μεταξύ των δύο HAI αποτυπώνεται στον Πίνακα 5.2, όπου το τελευταίο στάδιο του METAVIR υποδηλώνει κίρρωση του ήπατος, ενώ το προτελευταίο στάδιο 5 του Ishak αναφέρεται σε ατελή κίρρωση με σποραδικούς όζους και το στάδιο 6 σε πιθανή ή βέβαιη, αντίστοιχα.

Πίνακας 5.2: Δείκτες ιστολογικής δραστηριότητας για τη διαβάθμιση της ηπατικής ίνωσης και κίρρωσης

Ishak		METAVIR	
<i>Βαθμός</i>	<i>Περιγραφή</i>	<i>Βαθμός</i>	<i>Περιγραφή</i>
0	Απουσία ίνωσης	0	Απουσία ίνωσης
1	Ινώδης διεύρυνση λίγων πυλαίων διαστημάτων με ή χωρίς βραχεία διαφραγμάτια	1	Πυλαία ίνωση χωρίς διαφράγματα
2	Ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων με ή χωρίς βραχεία διαφραγμάτια	2	Πυλαία ίνωση με σπάνια διαφράγματα
3	Ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων ενίοτε με πυλαίο-πυλαίες γέφυρες	3	Πολλά διαφράγματα, χωρίς κίρρωση
4	Ινώδης διεύρυνση των περισσότερων πυλαίων διαστημάτων με σημαντική γεφυροποιό ίνωση (πυλαίο-πυλαία ή πυλαίο-κεντρική)	4	Κίρρωση
5	Ικανή γεφυροποιός ίνωση ενίοτε με σχηματισμό όζων (ατελής κίρρωση)		
6	Κίρρωση, πιθανή ή βέβαιη		

5.1.3 Σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman

Το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman [149] είναι η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την αξιολόγηση περιπτώσεων διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (ccRCC), λόγω της ισχυρής προγνωστικής του αξίας [105]. Σύμφωνα με τη σταδιοποίηση κατά Fuhrman, η κακοήθεια ccRCC χωρίζεται σε τέσσερις βαθμούς (1 - 4), με τον βαθμό 1 να φέρει την πιο ευνοϊκή πρόγνωση και τον βαθμό 4 τη χειρότερη.

Για την αντιστοίχιση μιας ογκολογικής περιοχής ccRCC σε έναν βαθμό Fuhrman, λαμβάνονται υπόψη οι ενδοκυτταρικές πυρηνικές ιδιότητες, όπως το μέγεθος και το σχήμα του πυρήνα (nucleus), η πυκνότητα της χρωματίνης, καθώς επίσης ο αριθμός και η ορατότητα

των πυρηνίων (nucleoli) σε διάφορα επίπεδα μεγέθυνσης μέσω μικροσκοπίου [150, 151]. Όλα τα επιμέρους πυρηνικά χαρακτηριστικά παρατίθενται στον ακόλουθο Πίνακα 5.3.

Πίνακας 5.3: Σύστημα πυρηνικής βαθμολόγησης Fuhrman

Βαθμός	Μέγεθος Πυρήνα	Σχήμα Πυρήνα	Χρωματίνη	Πυρήνια	Ορατότητα Πυρηνίων
1	< 10 μm	Στρογγυλό	Πυκνή	Αφανή	40 \times
2	15 μm	Στρογγυλό	Ελαφρά Κοκκώδης	Μικρά, μη εμφανή σε 10 \times	20 \times
3	20 μm	Στρογγυλό/ωσειδές	Χονδροκοκκώδης	Διακεκριμένα	10 \times
4	> 20 μm	Πλειόμορφο, πολυλοβοτικό	Ανοιχτή, υπερχρωματική	Μακροπυρηνικά	4 \times

5.2 Μελέτη Σταδιοποίησης Κακοήθειας στους Νεφρούς

Μετά την ανίχνευση των ογκολογικών περιοχών ενδιαφέροντος στην Ενότητα 3.3, η αυτοματοποιημένη ανάλυση αποσκοπεί στον προσδιορισμό του βαθμού Fuhrman κάθε κατατιμημένης κυτταρικής δομής με ένα υβριδικό μοντέλο ταξινόμησης [7]. Αυτό το μοντέλο, με την ονομασία “ExpanderNet”, συνδυάζει μεθόδους βαθύων νευρωνικών δικτύων για την εξαγωγή τιμών χαρακτηριστικών από χάρτες συνελικτικών χαρακτηριστικών και μεταβιβάζει αυτή την αποκτηθείσα γνώση σε μια διοχέτευση (pipeline) μηχανικής μάθησης που αποτελείται από διάφορους αλγορίθμους επιλογής χαρακτηριστικών και ταξινόμησης. Για τη ενίσχυση της απόδοσής του, εφαρμόζεται βελτιστοποίηση υπερπαραμέτρων κατά μήκος ολόκληρου του ExpanderNet. Αξιοποιώντας αυτή την προσέγγιση, το επόμενο βήμα είναι να προσδιοριστεί η επικρατούσα αναλογία, ως μέτρο σταδιοποίησης, του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (ccRCC) με βάση τον αριθμό των κακοήθων δομών που αναγνωρίζονται ως α) Fuhrman 1, β) Fuhrman 2 ή γ) Fuhrman 3. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι, ενώ ο αριθμός των βαθμολογημένων κυττάρων Fuhrman είναι ένα από τα κριτήρια για την κλινική διάγνωση του ccRCC, προτιμάται εδώ ως το κύριο κριτήριο για την αξιολόγηση της διακριτικής ικανότητας του αναπτυσσόμενου εργαλείου.

Στο τελικό στάδιο, είναι ζωτικής σημασίας να εξεταστεί ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ της αυτοματοποιημένης σταδιοποίησης που παράγεται από το εργαλείο που αναπτύχθηκε και αυτής που προκύπτει από ημιποσοτικές εκτιμήσεις που διενεργούνται από εξειδικευμένους κλινικούς ιατρούς. Η αξιολόγηση αυτή θα επικυρώσει την αξιοπιστία του εργαλείου και την ευθυγράμμισή του με τις αξιολογήσεις των εμπειρογνομόνων.

5.2.1 Υλικά και μέθοδοι

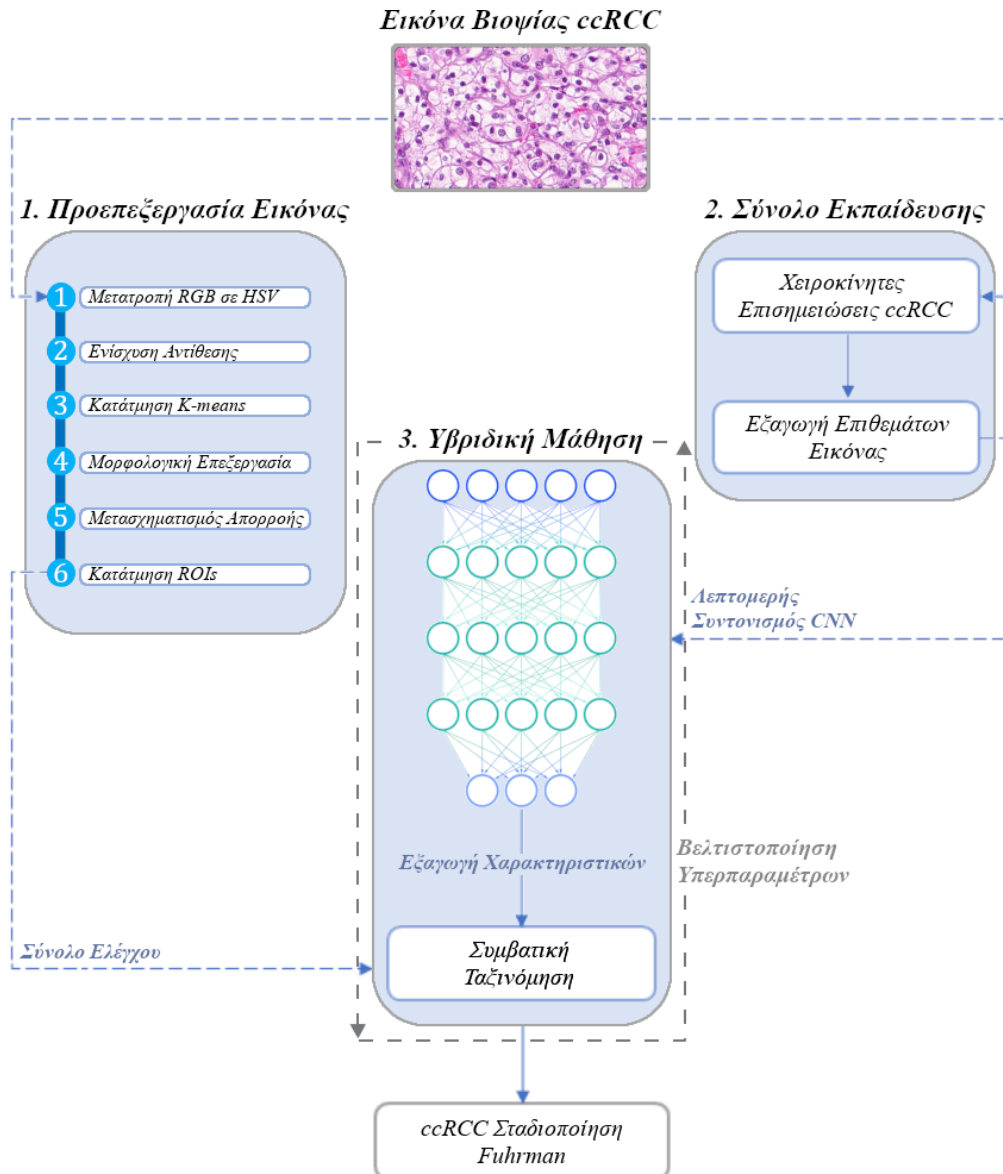
Η προτεινόμενη μεθοδολογία για την αυτοματοποιημένη σταδιοποίηση του ccRCC σε εικόνες βιοψίας περιλαμβάνει πέντε βήματα, τα οποία είναι:

1. Εφαρμογή τεχνικών επεξεργασίας εικόνας, συμπεριλαμβανομένης της ενίσχυσης της αντίθεσης, της ομαδοποίησης εικονοστοιχείων και της μορφολογικής επεξεργασίας, για την κατάτμηση ογκολογικών δομών ενδιαφέροντος σε ιστολογικά δείγματα.
2. Χειροκίνητη επισημείωση καρκινικών κυττάρων και εξαγωγή τους ως επιθέματα εικόνας (image patches) για είσοδο σε ένα υβριδικό μοντέλο εποπτευόμενης μάθησης και ταξινόμησης.
3. Λεπτομερής συντονισμός βαθέων συνελκτικών νευρωνικών δικτύων (Convolutional Neural Networks - CNNs) μέσω της Μπεύζιανής βελτιστοποίησης για τη δημιουργία αντιπροσωπευτικών διανυσμάτων χαρακτηριστικών από τα νέα παθολογικά δεδομένα και την τροφοδότησή τους σε μια συμβατική διοχέτευση μηχανικής μάθησης.
4. Επίσης, ενίσχυση της απόδοσης της συμβατικής διοχέτευσης μέσω της Μπεύζιανής βελτιστοποίησης στις υπερπαραμέτρους των τεχνικών προεπεξεργασίας και ταξινόμησης δεδομένων.
5. Ταξινόμηση των κατατμημένων ογκολογικών δομών σε έναν από τους τρεις συνολικά βαθμούς Fuhrman (1 έως 3) και προσδιορισμός του επικρατούντος σταδίου κακοήθειας με βάση τον συνολικό αριθμό των χαρακτηρισμένων κυττάρων.

Για την επαλήθευση της αξιοπιστίας της μεθοδολογικής διαδικασίας, οι μελλοντικές επεκτάσεις της μεθόδου θα περιλαμβάνουν τη σύγκριση της αυτοματοποιημένης σταδιοποίησης Fuhrman με τα αντίστοιχα στάδια που καταγράφονται από ειδικούς ιστοπαθολόγους. Στην Εικόνα 5.1 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της διαγνωστικής προσέγγισης που χρησιμοποιείται στη μελέτη.

Σύνολο δεδομένων εικόνων ιστολογίας

Για την διεξαγωγή της παρούσας μελέτης χρησιμοποιούνται 31 εικόνες ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) από τη βάση δεδομένων βιοψίας νεφρού (βλ. Ενότητα 2.2.3). Οι εικόνες αυτές αντιστοιχούν σε ιστολογικά δείγματα ασθενών που έχουν διαγνωστεί ημιποσοτικά με διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (ccRCC) σταδίου 1 έως 3 κατά Fuhrman. Για να αυξηθεί το μέγεθος του συνόλου δεδομένων, προκειμένου να δοκιμαστεί η αυτοματοποιημένη σταδιοποίηση του ccRCC, εξάγονται πολλαπλά τμήματα από κάθε H&E εικόνα με χωρική ανάλυση 1920×1080 εικονοστοιχεία. Ως εκ τούτου, η αυτοματοποιημένη μέθοδος σταδιοποίησης ccRCC δοκιμάζεται σε ένα σύνολο 105 ιστολογικών εικόνων με συμπίεση JPG.



Εικόνα 5.1. Διάγραμμα ροής της αυτοματοποιημένης διαγνωστικής διαδικασίας σε μικροσκοπικά δείγματα βιοψίας διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος (ccRCC). Στο πρώτο στάδιο εφαρμόζονται τεχνικές προεπεξεργασίας εικόνας, οι οποίες κατατμούν τους κυκλικούς ογκολογικούς σχηματισμούς ενδιαφέροντος. Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει την επισήμειωση καρκινικών κυττάρων για την εκπαίδευση ενός υβριδικού μοντέλου εποπτευόμενης μάθησης. Το τρίτο στάδιο εφαρμόζει το υβριδικό μοντέλο που αξιοποιεί διανύσματα χαρτών χαρακτηριστικών από λεπτομερώς συντονισμένα CNN για τη διάκριση πυρηνικών χαρακτηριστικών μεταξύ τριών αντικειμένων κλάσης ccRCC. Στο τελικό στάδιο, προσδιορίζεται ο επικρατέστερος βαθμός Fuhrman με βάση τα ταξινομημένα ευρήματα ccRCC στον νεφρικό ιστό.

Επισημείωση ιστολογικών εικόνων

Δεδομένης της τρέχουσας αποτελεσματικότητας της συμβατικής μηχανικής μάθησης και των αλγορίθμων βαθιάς μάθησης στην υπολογιστική όραση, δίνεται όλο και μεγαλύτερη έμφαση στην ανάπτυξη αυτοματοποιημένων συστημάτων για τη βελτίωση της ακρίβειας των διαδικασιών ταξινόμησης ασθενειών. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη ενός

υβριδικού αλγορίθμου εποπτευόμενης μάθησης, με την ονομασία “ExpanderNet”, για την αξιολόγηση του βαθμού νεφρικής κακοήθειας σε ιστολογικές τομές μέσω της ταξινόμησης άγνωστων δομών που ανιχνεύονται στο στάδιο της κατάτμησης εικόνας.

Δεδομένου ότι ο στόχος είναι η δημιουργία μιας μεθόδου ταξινόμησης, ζητήθηκε από δύο ιατρούς να επισημειώσουν ογκολογικές δομές ως περιπτώσεις εκπαίδευσης (training instances) χρησιμοποιώντας το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman, το οποίο έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό στην ταξινόμηση των καρκινικών κυττάρων ccRCC σε τέσσερις βαθμίδες. Το σύστημα βαθμολόγησης Fuhrman λαμβάνει υπόψη διάφορες ενδοκυτταρικές ιδιότητες, όπως το μέγεθος του πυρήνα, το σχήμα, την πυκνότητα της χρωματίνης και την ορατότητα των πυρηνίων (nucleoli) σε ιστολογικά δείγματα σε διαφορετικούς συντελεστές μεγέθυνσης μέσω μικροσκοπίου (Πίνακας 5.3).

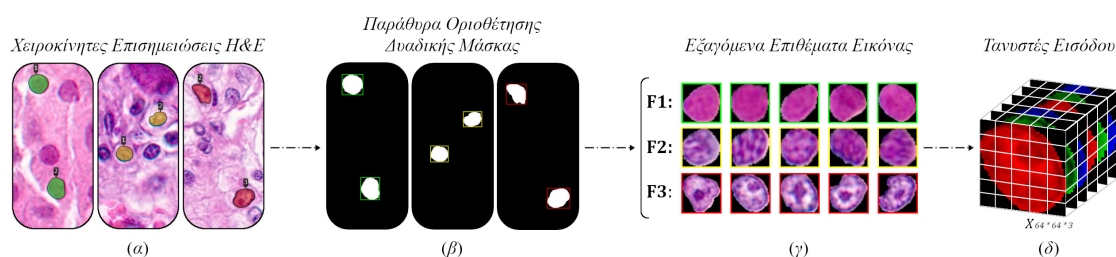
Για την εκπαίδευση του συστήματος σταδιοποίησης του ccRCC, επισημειώθηκαν τρία αντικείμενα ιστολογικής κλάσης που αντιπροσωπεύουν τα ‘Fuhrman 1’, ‘Fuhrman 2’ και ‘Fuhrman 3’, καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμοι ασθενείς με ccRCC σταδίου 4 κατά Fuhrman για επισημείωση. Ο βαθμός των κακοήθων ευρημάτων συμφωνήθηκε από τους ειδικούς πριν συμπεριληφθεί στην ψηφιακή μορφή της επισημείωσης (annotation). Οι ειδικοί χρησιμοποίησαν το λογισμικό ιστοπαθολογίας NDP.view2 της Hamamatsu για να εστιάσουν στα κυτταρικά χαρακτηριστικά σε μεγεθύνσεις αντικειμενικού φακού 40×, 20× και 10× στις WSIs ($n = 31$), ενώ η επισημείωση των καρκινικών κυττάρων πραγματοποιήθηκε στις εξαγόμενες ιστολογικές τομές 1920×1080 ($n = 105$), όπου δοκιμάζεται το διαγνωστικό εργαλείο.

Εξαγωγή δεδομένων εκπαίδευσης από χειροκίνητες επισημειώσεις

Για την επισημείωση των καρκινικών κυττάρων με βαθμούς Fuhrman 1 έως 3, χρησιμοποιείται ένα χειροκίνητο εργαλείο πολυγώνου (polygon tool), όπου κάθε αντικείμενο ιστολογικής κλάσης οριοθετείται με ξεχωριστό χρώμα περιγράμματος: α) ‘Fuhrman 1’ (πράσινο περίγραμμα), β) ‘Fuhrman 2’ (κίτρινο περίγραμμα) και γ) ‘Fuhrman 3’ (κόκκινο περίγραμμα) (Εικόνα 5.2α). Όλες οι επισημειώσεις συγκεντρώνονται σε ένα ενιαίο αρχείο JSON με μορφή δεδομένων COCO, το οποίο περιλαμβάνει το όνομα κάθε αρχικής εικόνας JPG, καθώς επίσης την ετικέτα κλάσης και τις πολυγωνικές συντεταγμένες 2D (x, y) για κάθε κακοήθη δομή.

Για την εκπαίδευση του υβριδικού μοντέλου ταξινόμησης ExpanderNet, οι χειροκίνητες επισημειώσεις εξάγονται ως επιθέματα εικόνας χρησιμοποιώντας ένα εργαλείο αποκοπής (cropping tool). Οι 105 H&E εικόνες φορτώνονται πρώτα και χρησιμοποιείται ένας αναλυτής (parser) JSON για την ανάγνωση των πεδίων επισημείωσής τους. Οι 2D συντεταγμένες σε αυτά τα πεδία βοηθούν στη δημιουργία μιας δυαδικής μάσκας, με τη βοήθεια του τελεστή bitwise OR, όπου κάθε κακοήθης δομή αναπαρίσταται από λευκά εικονοστοιχεία (Εικόνα

5.2β). Έπειτα, καλούνται τα μοντέλα ενεργού περιγράμματος (Active Contour Models - ACMs) για να συγκλίνουν στις ακμές κάθε λευκής περιοχής, από τις οποίες υπολογίζονται τα παράθυρα οριοθέτησης με βάση τις (x, y, w, h) συντεταγμένες. Επιπλέον, λαμβάνεται ένα αντίγραφο της αρχικής έγχρωμης εικόνας και οι τιμές των εικονοστοιχείων εκτός των πολυγωνικών συντεταγμένων μηδενίζονται, καθιστώντας τις μαύρες (Εικόνα 5.2γ). Αυτό διασφαλίζει ότι τα βαθιά CNN θα επικεντρωθούν αποκλειστικά στις πυρηνικές ιδιότητες των ογκολογικών σχηματισμών (Εικόνα 5.2δ).



Εικόνα 5.2. Οπτική αναπαράσταση του σταδίου επισημείωσης αντικειμένων νεφρικής κακοήθειας: (α) χειροκίνητη επισημείωση τριών αντικειμένων κλάσης ccRCC, όπου πράσινο \rightarrow ‘Fuhrman 1’, κίτρινο \rightarrow ‘Fuhrman 2’ και κόκκινο \rightarrow ‘Fuhrman 3’, (β) υπολογισμός της δυαδικής μάσκας για τον προσδιορισμό του παραθύρου οριοθέτησης για κάθε επισημειωμένη δομή, (γ) εξαγωγή των επισημειώσεων ως “καθαρών” επιθεμάτων εικόνας με την αφαίρεση των εικονοστοιχείων φόντου και (δ) συνένωση των επιθεμάτων εικόνας σε τανυστές (tensors) με σχήμα $X_{64*64*3}$, όπου X είναι το μέγεθος της παρτίδας (batch size), προκειμένου να εφαρμοστεί λεπτομερής συντονισμός σε προεκπαιδευμένες αρχιτεκτονικές CNN.

Προεξεργασία δεδομένων εκπαίδευσης

Μετά τη διαδικασία αποκοπής, τα επιθέματα εικόνας αποθηκεύονται σε φακέλους με βάση την ετικέτα επισημείωσής τους. Το τελικό σύνολο δεδομένων περιλαμβάνει 2100 δείγματα, καταλήγοντας σε 700 εικόνες ανά κακοήθεια Fuhrman (Fuhrman 1 έως 3). Προτού τροφοδοτηθούν σε διάφορα προεκπαιδευμένα CNN, κάθε επίθεμα εικόνας RGB κλιμακώνεται σε διάσταση $64 \times 64 \times 3$ χρησιμοποιώντας τη μέθοδο παρεμβολής Lanczos5 [152]. Η προσέγγιση αυτή προτιμάται έναντι της κλασικής τεχνικής της δικυβικής παρεμβολής (bicubic interpolation) τόσο για την υπερδειγματοληψία (upsampling) όσο και για την υποδειγματοληψία (downsampling) των επιθεμάτων εικόνας, υπολογίζοντας τον σταθμισμένο μέσο όρο των γειτονικών εικονοστοιχείων εντός ενός παραθύρου ακτίνας 5 εικονοστοιχείων με τη χρήση μιας μαθηματικής συνάρτησης, που ονομάζεται πυρήνας Lanczos, η οποία βασίζεται στη συνάρτηση sinc και έχει την ακόλουθη μορφή:

$$L(x) = \begin{cases} \frac{\sin(\pi x)}{\pi x}, & \text{εάν } |x| < a \\ 0, & \text{διαφορετικά} \end{cases} \quad (5.1)$$

όπου το x αντιπροσωπεύει την απόσταση από το κέντρο του πυρήνα και το a μια παράμετρος που καθορίζει το μέγεθός του. Η συνάρτηση sinc παίζει κρίσιμο ρόλο στον πυρήνα Lanczos,

καθώς καθορίζει τα βάρη που αποδίδονται στα γειτονικά εικονοστοιχεία κατά τη διαδικασία της παρεμβολής.

Για την επαναδειγματοληψία μιας εικόνας εισόδου, δημιουργείται μια νέα εικόνα με διαφορετική ανάλυση υπολογίζοντας τις τιμές των νέων εικονοστοιχείων με βάση τις τιμές των αρχικών εικονοστοιχείων. Τα εικονοστοιχεία που προκύπτουν συνδυάζονται στη συνέχεια για να σχηματίσουν την τελική εικόνα. Ο λόγος επαναδειγματοληψίας υπολογίζεται ως ο λόγος μεταξύ του μεγέθους της αρχικής εικόνας και του επιθυμητού μεγέθους εξόδου, ως εξής:

$$r_x = \frac{\text{πλάτος εξόδου}}{\text{πλάτος εισόδου}} \quad \& \quad r_y = \frac{\text{ύψος εξόδου}}{\text{ύψος εισόδου}} \quad (5.2)$$

Ο λόγος επαναδειγματοληψίας καθορίζει το πλέγμα δειγματοληψίας (sampling grid), δηλαδή το σύνολο των θέσεων εικονοστοιχείων στην αρχική εικόνα που θα χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό των τιμών των νέων εικονοστοιχείων στην εικόνα εξόδου, το οποίο δίνεται από:

$$(ix, iy) \in \mathbb{Z}, \quad ix \in [0, \text{πλάτος εισόδου} - 1] \quad \& \quad iy \in [0, \text{ύψος εισόδου} - 1] \quad (5.3)$$

Βάσει αυτού, υπολογίζεται ο σταθμισμένος μέσος όρος (weighted average) για τον προσδιορισμό της τιμής ενός νέου εικονοστοιχείου στην εικόνα εξόδου, ως έπεται:

$$f(x, y) = \sum_{i,j} w(i, j) \cdot g(x - i, y - j) \quad (5.4)$$

όπου $f(x, y)$ είναι η τιμή του νέου εικονοστοιχείου στη θέση (x, y) , $w(i, j)$ το βάρος του εικονοστοιχείου στη θέση (i, j) και $g(x - i, y - j)$ η τιμή του εικονοστοιχείου στη θέση $(x - i, y - j)$ στην αρχική εικόνα.

Η κανονικοποίηση (normalization) αποτελεί το τελευταίο βήμα της επαναδειγματοληψίας και εξασφαλίζει ότι το συνολικό βάρος των γειτονικών εικονοστοιχείων είναι ίσο με 1, με:

$$\sum_{i,j} w(i, j) = 1 \quad (5.5)$$

Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο επειδή ο σταθμισμένος μέσος όρος των γειτονικών εικονοστοιχείων χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της τιμής του νέου εικονοστοιχείου στην εικόνα εξόδου. Συνεπώς, η κανονικοποίηση εξασφαλίζει ότι ο σταθμισμένος μέσος όρος

των γειτονικών εικονοστοιχείων κλιμακώνεται σωστά και ότι η τιμή του νέου εικονοστοιχείου στην εικόνα εξόδου βασίζεται σε μια ομοιογενή κλίμακα, η οποία είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της οπτικής ποιότητας και την αποφυγή τεχνουργημάτων στην αναδειγματοληπτούμενη εικόνα.

Ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία και δίνοντας μεγαλύτερη βαρύτητα στα κοντινά εικονοστοιχεία και μικρότερη βαρύτητα στα πιο απομακρυσμένα εικονοστοιχεία, η μέθοδος Lanczos μπορεί να διατηρήσει περισσότερες λεπτομέρειες υψής, ειδικά κατά την υποδειγματοληψία του μεγέθους των επισημειωμένων δειγμάτων Fuhrman, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο απώλειας σημαντικών χαρακτηριστικών.

Για να βελτιωθεί περαιτέρω η απόδοση διάκρισης κάθε προ-εκπαιδευμένου μοντέλου, προστίθεται ένα επίπεδο επαύξησης (augmentation) εικόνας που εφαρμόζει τυχαίους γεωμετρικούς μετασχηματισμούς στα δεδομένα εισόδου κατά τη διάρκεια κάθε εποχής εκπαίδευσης. Αυτοί οι μετασχηματισμοί περιλαμβάνουν οριζόντιες (x -άξονας) και κάθετες (y -άξονας) αναστροφές, καθώς και τυχαίες περιστροφές εντός του εύρους $[-90, 90]$ μοιρών. Αυτό καθιστά βέβαιο ότι τα μοντέλα εκπαιδεύονται σε ποικίλες παραλλαγές κάθε μικροσκοπικού δείγματος σε κάθε εποχή, οδηγώντας σε ένα μεγαλύτερο σύνολο εικόνων που μπορεί να βελτιώσει τη γενίκευση. Λαμβάνοντας επίσης υπόψη ότι οι κυτταρικές δομές προέρχονται από WSIs με διαφορετική φωτεινότητα, αντίθεση και χρωματική ισορροπία και ότι παρουσιάζουν χαμηλές αποκλίσεις υψής μεταξύ διαδοχικών σταδίων Fuhrman, προτείνεται η κανονικοποίηση των τιμών τους. Με αυτόν τον τρόπο, οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων μπορούν να αναδειχθούν καλύτερα και να επιτρέψουν στα CNN να κατανοήσουν τα λιγότερο ευδιάκριτα μοτίβα στα επιθέματα εικόνας πιο αποτελεσματικά, χωρίς να μεροληπτούν προς τα δείγματα με υψηλότερες τιμές αντίθεσης και έντασης.

Ορισμοί Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης για συντονισμό υπερπαραμέτρων

Η βελτιστοποίηση της απόδοσης ενός συστήματος μηχανικής μάθησης απαιτεί συχνά την προσαρμογή των υπερπαραμέτρων του, η οποία μπορεί να είναι μια χρονοβόρα και δύσκολη διαδικασία που περιλαμβάνει πολλαπλές επαναλήψεις δοκιμής και σφάλματος. Για τον μετριασμό αυτών των ζητημάτων, οι ερευνητές έχουν προτείνει τα τελευταία χρόνια αυτοματοποιημένες μεθόδους βελτιστοποίησης υπερπαραμέτρων. Οι μέθοδοι αυτές αποσκοπούν στην εύρεση των τιμών των υπερπαραμέτρων που μεγιστοποιούν την απόδοση ενός συστήματος χωρίς να απαιτείται η εκτεταμένη χειροκίνητη ρύθμισή τους. Για να το επιτύχουν αυτό, στηρίζονται σε μια αντικειμενική συνάρτηση $f(x)$ που μετρά την απόδοση σε μια συγκεκριμένη μετρική, όπως η ακρίβεια ταξινόμησης [153]. Οι υπερπαραμέτροι επιλέγονται στη συνέχεια από έναν χώρο υπερπαραμέτρων X και για να βρεθεί το σύνολο που μεγιστοποιεί την προσδοκώμενη τιμή της $f(x)$, οι μέθοδοι βελτιστοποίησης χρησιμοποιούν τον ακόλουθο τύπο:

$$x^* = \operatorname{argmax}_{x \in X} f(x) \quad (5.6)$$

όπου το x^* (αναφέρεται επίσης ως x_{opt}) αντιπροσωπεύει το σύνολο των υπερπαραμέτρων που δίνουν την υψηλότερη τιμή της $f(x)$ μεταξύ όλων των πιθανών συνόλων υπερπαραμέτρων στο X .

Η Μπεϋζιανή βελτιστοποίηση (Bayesian optimization) είναι μια εξαιρετικά αποτελεσματική στρατηγική για την εύρεση του μέγιστου ή του ελάχιστου των κοστοβόρων αντικειμενικών συναρτήσεων. Χρησιμοποιεί τα αποτελέσματα από προηγούμενες επαναλήψεις για να επιλέξει τα επόμενα υποψήφια σημεία προς εξέταση, ενώ εξισορροπεί το συμβιβασμό μεταξύ της εξερεύνησης (exploration) του χώρου των αντικειμενικών συναρτήσεων και της εκμετάλλευσης (exploitation) νέων υποσχόμενων περιοχών [154]. Ως αποτέλεσμα, επιτυγχάνει βέλτιστες λύσεις με λιγότερες αξιολογήσεις σε σύγκριση με την αναζήτηση πλέγματος (Grid-search), την τυχαία αναζήτηση ή τις μεθόδους χειροκίνητου συντονισμού [155].

Το θεώρημα του Bayes αποτελεί το θεμέλιο της Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης. Δηλώνει ότι η εκ των υστέρων πιθανότητα ενός μοντέλου M βάσει δεδομένων ή παρατηρήσεων E είναι ανάλογη της πιθανότητας του E βάσει του M πολλαπλασιασμένη με την εκ των προτέρων πιθανότητα του M :

$$P(M|E) \propto P(E|M)P(M) \quad (5.7)$$

όπου M είναι ένα πιθανοτικό μοντέλο παλινδρόμησης για την αντικειμενική συνάρτηση f , το οποίο ενημερώνεται με βάση τις προηγούμενες αξιολογήσεις με:

$$P(f|D_{1:t}) \propto P(D_{1:t}|f)P(f) \quad (5.8)$$

όπου το $D_{i:t} = \{x_{i:t}, f(x_{i:t})\}$ εκφράζει τις συσσωρευμένες παρατηρήσεις της f μέχρι το i -οστό δείγμα. Καθώς συσσωρεύονται αυτές οι παρατηρήσεις, η εκ των προτέρων κατανομή συνδυάζεται με τη συνάρτηση πιθανοφάνειας $P(D_{1:t}|f)$ για τη δημιουργία εκ των υστέρων πεποιθήσεων [154]. Αυτές οι πεποιθήσεις χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της f μέσω ενός υποκατάστατου μοντέλου (surrogate model), το οποίο είναι μια απλοποιημένη εκδοχή της πραγματικής συνάρτησης. Η Μπεϋζιανή βελτιστοποίηση στη συνέχεια αξιοποιεί την απόδοση του υποκατάστατου για να καθορίσει το επόμενο σύνολο υπερπαραμέτρων προς αξιολόγηση, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περαιτέρω βελτίωση της ακρίβειας του συνολικού μοντέλου.

Η Μπεϋζιανή βελτιστοποίηση αφορά τυπικά έναν αλγόριθμο Διαδοχικής Βελτιστοποίησης βάσει Μοντέλου (Sequential Model-Based Optimization - SMBO) που προσεγγίζει την αντικειμενική συνάρτηση f χρησιμοποιώντας το υποκατάστατο μοντέλο [156]. Δημοφιλή υποκατάστατα περιλαμβάνουν τις Μπεϋζιανές Διαδικασίες (Gaussian Processes), τους Εκτιμητές Δέντρων Parzen (Tree Parzen Estimators - TPE) και τα Τυχαία Δάση (Random Forests). Σύμφωνα με τον Αλγόριθμο 3, οι αλγόριθμοι SMBO βελτιστοποιούν επαναληπτικά το υποκατάστατο ή έναν μετασχηματισμό του, επιλέγοντας νέες υπερπαραμέτρους t σε κάθε επανάληψη βελτιστοποιώντας μια συνάρτηση απόκτησης S . Η τιμή x^* που μεγιστοποιεί το υποκατάστατο χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την αξιολόγηση της πραγματικής συνάρτησης f . Οι αλγόριθμοι SMBO μπορεί να διαφέρουν ως προς το κριτήριο που βελτιστοποιούν για την απόκτηση της x^* και ως προς τον τρόπο που μοντελοποιούν την f χρησιμοποιώντας το ιστορικό παρατήρησης H .

Αλγόριθμος 3 : Διαδοχική Βελτιστοποίηση βάσει Μοντέλου (SMBO)

Είσοδος: $f, M_0, T, S, H \leftarrow \emptyset$
Έξοδος: x^* από H με μέγιστο c

- 1: **Begin** SMBO
- 2: **For** $t \leftarrow 1$ **to** T **do**
- 3: $x^* \leftarrow \operatorname{argmax}_x S(x, M_{t-1})$
- 4: $c \leftarrow \operatorname{evaluateCost}(f(x^*))$
- 5: $H \leftarrow H \cup \{(x^*, c)\}$
- 6: $M_t \leftarrow \operatorname{fitNewModel}(H)$
- 7: **End**
- 8: **End**

Με βάση τα παραπάνω, ο αλγόριθμος μεγιστοποιεί τη συνάρτηση f χωρίς να αναιρεί την έξοδο της για να λάβει το κόστος της τρέχουσας καλύτερης λύσης x^* . Αντ' αυτού, η f αξιολογείται απευθείας στην τρέχουσα καλύτερη λύση x^* για να ληφθεί το κόστος της c . Η (x^*, c) προστίθεται στη συνέχεια στο ιστορικό H και ενημερώνει το μοντέλο M_t χρησιμοποιώντας το H .

Για τον προσδιορισμό των βέλτιστων υπερπαραμέτρων για ένα μεμονωμένο μοντέλο και τον προσδιορισμό του καλύτερου με βάση πολλαπλές μετρικές ταξινόμησης, χρησιμοποιείται το πλαίσιο Optuna⁷ [157]. Το Optuna εφαρμόζει τη μέθοδο Εκτιμητών Δέντρων Parzen (TPE) στο πλαίσιο της προσέγγισης Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης. Ο αλγόριθμος TPE διαφέρει από τον τυπικό αλγόριθμο SMBO στο ότι δεν ορίζει μια προβλεπτική κατανομή πάνω στην αντικειμενική συνάρτηση. Αντ' αυτού, χρησιμοποιεί μια δενδρική προσέγγιση για τη μοντελοποίηση της συνάρτησης βασιζόμενος σε δύο βήματα: 1) ένα βήμα κατασκευής μοντέλου και 2) ένα βήμα επιλογής [155, 156]. Κατά τη διάρκεια του βήματος κατασκευής του μοντέλου, ο αλγόριθμος δημιουργεί δύο κατανομές πιθανότητας, μία για καλές ρυθμίσεις/παραμέτρους που παράγουν υψηλές τιμές της αντικειμενικής συνάρτησης

⁷ Πλαίσιο Optuna

και μία άλλη για δυσμενείς ρυθμίσεις που παράγουν χαμηλές τιμές, σε σχέση με ένα δεδομένο ποσοστημόριο (quantile) y^* :

$$p(x|y) = \begin{cases} \ell(x), & \text{εάν } y < y^* \\ g(x), & \text{εάν } y \geq y^* \end{cases} \quad (5.9)$$

όπου το $\ell(x)$ διαμορφώνεται χρησιμοποιώντας τις παρατηρήσεις $\{x^{(i)}\}$ που έχουν απώλεια $f(x^{(i)})$ μικρότερη από y^* , ενώ το $g(x)$ χρησιμοποιώντας τις υπόλοιπες παρατηρήσεις. Αυτές οι κατανομές μοντελοποιούνται βάση την εκτίμηση πυκνότητας πυρήνα (kernel density estimation) με διαφορετικές συναρτήσεις πυρήνα για κάθε κατανομή, αποτυπώνοντας τη διαφορά στο σχήμα μεταξύ καλών και δυσμενών διαμορφώσεων. Στο επόμενο βήμα, ο αλγόριθμος επιλέγει τη διαμόρφωση με τη μεγαλύτερη αναμενόμενη βελτίωση σε σχέση με την τρέχουσα καλύτερη λύση.

Το Optuna υποστηρίζει επίσης την τεχνική συνόρου Pareto (Pareto front), η οποία προσδιορίζει ένα σύνολο βέλτιστων λύσεων που αντιπροσωπεύουν τον καλύτερο συμβιβασμό (trade-off) μεταξύ διαφορετικών μετρικών απόδοσης [158]. Πιο συγκεκριμένα, η συνεργασία μεταξύ της Μπεύζιανής βελτιστοποίησης και του συνόρου Pareto επιτρέπει όχι μόνο την αναζήτηση του καλύτερου συνόλου υπερπαραμέτρων, αλλά και την παροχή πολλαπλών επιλογών που αποδίδουν εξίσου καλά, αλλά με διαφορετικούς συμβιβασμούς.

Το σύνολο Pareto είναι μια μέθοδος βελτιστοποίησης πολλαπλών στόχων (multi-objective) που αποσκοπεί στην εύρεση του συνόλου των λύσεων που δεν κυριαρχούνται από καμία άλλη λύση, το οποίο χαρακτηρίζεται ως το βέλτιστο σύνολο Pareto [158]. Στη μηχανική μάθηση, όταν ο στόχος είναι η εκπαίδευση ενός μοντέλου που να έχει καλές επιδόσεις σε ακρίβεια, πιστότητα, ανάκληση κ.λ.π., αυτό μπορεί να επιτευχθεί ελαχιστοποιώντας ένα σύνολο αρνητικών συναρτήσεων κόστους $C_j : \mathcal{Y} \times \mathcal{Y} \rightarrow \mathbb{R}_{>0}, \forall_j \in \{1, \dots, J\}$, που αντιστοιχούν στις διάφορες μετρικές αξιολόγησης. Εδώ, λαμβάνονται οι αρνητικές τιμές επειδή ο στόχος είναι η μεγιστοποίηση της αναμενόμενης τιμής τους. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, ένα σύνολο δεδομένων εκπαίδευσης που αποτελείται από παραδείγματα εισόδου $x_n \in \mathcal{X}$ και αντιστοιχες ετικέτες $y_n \in \mathcal{Y}$, που συμβολίζεται ως $D := \{(x_n, y_n)\}_{n=1}^N$, χρησιμοποιείται για την εκπαίδευση ενός μοντέλου ταξινόμησης $f(x, \theta) : \mathcal{X} \times \Theta \rightarrow \mathcal{Y}$, παραμετροποιημένο από $\theta \in \Theta$.

Οι βέλτιστες λύσεις κατά Pareto μπορούν να ληφθούν με την εύρεση του θ που ελαχιστοποιεί τις αναμενόμενες τιμές για επισημειωμένα παραδείγματα x, y που προέρχονται από μια δειγματοληπτική κατανομή δεδομένων p_D . Ωστόσο, δεν υπάρχει μία μόνο λύση θ^* που να μπορεί να επιτύχει τη βέλτιστη επίτευξη όλων των στόχων. Αντ' αυτού, μπορεί να ληφθεί ένα σύνολο βέλτιστων λύσεων Pareto. Για τον υπολογισμό ενός μεμονωμένου στόχου χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$O_j(\theta) := \mathbb{E}_{(x,y) \sim p_D} [-C_j(y, f(x; \theta))], \quad \forall j \in \{1, \dots, J\} \quad (5.10)$$

όπου το $O_j(\theta)$ δηλώνει την παράμετρο του μοντέλου που αντιστοιχεί στην j -οστή μετρική αξιολόγησης. Με βάση αυτούς τους στόχους, η σχέση κυριαρχίας Pareto μεταξύ δύο λύσεων $\theta, \theta' \in \Theta$ ορίζεται ως προς το αν η θ κυριαρχεί ή όχι επί της θ' . Μια λύση θ κυριαρχεί μιας άλλης λύσης θ' εάν η θ δεν είναι χειρότερη από την θ' σε κανέναν στόχο $O_j(\theta) \leq O_j(\theta'), \forall j \in \{1, \dots, J\}$ και η θ είναι καλύτερη από την θ' σε τουλάχιστον έναν στόχο. Γενικά, το σύνολο όλων των βέλτιστων λύσεων Pareto ορίζεται ως $\mathcal{P} := \{\theta \in \Theta \mid \nexists \theta' \in \Theta : \theta' \prec \theta\}$, όπου $\theta' \prec \theta$ σημαίνει ότι η θ' κυριαρχεί της θ . Αντιθέτως, το σύνολο Pareto \mathcal{F} είναι η J -διάστατη πολλαπλότητα των αντικειμενικών τιμών όλων των βέλτιστων λύσεων Pareto, που δίνεται από τη σχέση $\mathcal{F} := \{O_j(\theta) \in \mathbb{R}_{\geq 0}^J \mid \theta \in \mathcal{P}\}$.

Για την αξιοποίηση των παραπάνω χαρακτηριστικών, η αντικειμενική συνάρτηση ορίζεται έτσι ώστε να επιστρέφει πολλαπλές τιμές που αντιστοιχούν σε μετρικές απόδοσης ενδιαφέροντος, όπως η ακρίβεια (accuracy), η κατανομή-F1 (F1-score) κ.λ.π. Στη συνέχεια, το Optuna βρίσκει το σύνολο των υπερπαραμέτρων που μεγιστοποιεί μία ή περισσότερες από αυτές τις μετρικές, διατηρώντας παράλληλα τις υπόλοιπες εντός ενός συγκεκριμένου ορίου (threshold). Το προκύπτον σύνολο λύσεων παρουσιάζεται στη συνέχεια ως σύνολο Pareto, το οποίο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για προβλήματα βελτιστοποίησης πολλαπλών στόχων όπου μπορεί να μην υπάρχει μία μόνο “καλύτερη” λύση. Επομένως, ο συνδυασμός της Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης και του συνόρου Pareto παρέχει ένα ισχυρό εργαλείο για τη διερεύνηση των συμβιβασμών απόδοσης και μπορεί να οδηγήσει σε πιο τεκμηριωμένη λήψη αποφάσεων κατά την εκπαίδευση των μοντέλων ανάλυσης καρκινικών δειγμάτων στην προτεινόμενη μεθοδολογία.

Περιπτώσεις χρήσης Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης

Παρόλο που το σύνολο δεδομένων έχει υποβληθεί σε τεχνικές επαύξησης, εξακολουθεί να είναι σχετικά μικρό για την επίτευξη καλής γενίκευσης στα νέα πρότυπα ccRCC. Για να αντιμετωπιστεί αυτό, τα προ-εκπαιδευμένα μοντέλα CNN, συμπεριλαμβανομένων των VGG-16 [128], VGG-19 [128], ResNet-50 [133] και ResNet-101 [133], συντονίζονται λεπτομερώς (fine-tuned) με το σύνολο δεδομένων ccRCC, επιτρέποντάς τους να μάθουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με το σύστημα ταξινόμησης Fuhrman με χαμηλό υπολογιστικό κόστος. Η είσοδος κάθε CNN ορίζεται σε $64 \times 64 \times 3$ για την αναπαράσταση των εικόνων με επαναδειγματοληψία Lanczos5 και μετά τη βάση κάθε μοντέλου προστίθεται ένα 2D επίπεδο συγκέντρωσης του καθολικού μέσου όρου (global average pooling). Το τελικό πλήρως συνδεδεμένο επίπεδο εφαρμόζει τη συνάρτηση ενεργοποίησης softmax σε 3 νευρώνες, προσαρμόζοντας κάθε λεπτομερώς συντονισμένη αρχιτεκτονική στο πρόβλημα αναγνώρισης βαθμού Fuhrman.

Στο Optuna, οι υπερπαραμέτροι για τον λεπτομερή συντονισμό των τεσσάρων προεκπαιδευμένων CNN βελτιστοποιούνται καθορίζοντας τα διαστήματα των συνελικτικών μπλοκ στα μοντέλα VGG-16, VGG-19, ResNet-50 και ResNet-101. Το πρώτο μπλοκ διατηρείται παγωμένο, καθώς είναι γενικευμένο στα περισσότερα χαρακτηριστικά χαμηλού επιπέδου και η ενημέρωση των βαρών του μπορεί να οδηγήσει σε υπερμοντελοποίηση των νέων ιστοπαθολογικών δεδομένων. Αντίθετα, τα βάρη του πέμπτου μπλοκ ενημερώνονται σε όλες τις επαναλήψεις για να αποτυπώσουν τις λεπτομέρειες υψηλού επιπέδου των κυτταρικών δομών Fuhrman. Οι αλγόριθμοι οπισθοδιάδοσης σφάλματος, συμπεριλαμβανομένων των αλγορίθμων προσαρμοστικής εκτίμησης ροπής (Adaptive moment estimation - Adam) και στοχαστικής κατάβασης κλίσης με ορμή (Stochastic Gradient Descent with Momentum - SGDM), δηλώνονται με μικρό ρυθμό μάθησης $1e-5$ (0,00001) για την προσαρμογή των προεκπαιδευμένων χαρακτηριστικών, διατηρώντας παράλληλα τη γενίκευση από τα αρχικά βάρη. Οι υπερπαραμέτροι προς βελτιστοποίηση εμφανίζονται στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.4: Βελτιστοποίηση υπερπαραμέτρων κατά τον λεπτομερή συντονισμό CNN

Υπερπαραμέτροι Λεπτομερούς Συντονισμού	Τιμές	Μετρικές Μπειϋζιανής Βελτιστοποίησης	Μετρικές Pareto front
Αρχιτεκτονική CNN	VGG-16, VGG-19, ResNet-50, ResNet-101	Ακρίβεια, F1-score, Cohen's kappa	Ακρίβεια, F1-score
Διάστημα επιπέδων πάγωσης	συνελ. μπλοκ 0 - συνελ. μπλοκ 1, συνελ. μπλοκ 0 - συνελ. μπλοκ 2, συνελ. μπλοκ 0 - συνελ. μπλοκ 3, συνελ. μπλοκ 0 - συνελ. μπλοκ 4		
Βελτιστοποιητής	Adam, SGDM		

Η διαδικασία ξεκινά με την εκπαίδευση πολλαπλών εκδοχών των μοντέλων CNN με δύο NVIDIA GeForce RTX 2070 Super GPUs, χρησιμοποιώντας ένα μέγιστο των 50 εποχών και ένα μέγεθος μίνι-παρτίδας (mini-batch) 16 επιθεμάτων εικόνας. Μετά από κάθε εποχή, υπολογίζονται η ακρίβεια, η κατανομή-F1 και ο συντελεστής κάπα του Cohen (Cohen's kappa) χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση απώλειας αραιής κατηγορηματικής διασταυρούμενης εντροπίας (sparse categorical cross-entropy loss). Η επιλογή αυτή γίνεται επειδή οι ετικέτες-στόχοι κωδικοποιούνται ως ακέραιοι αριθμοί που αντιπροσωπεύουν τους δείκτες των κλάσεων. Στη συνέχεια, το Optuna χρησιμοποιεί αυτές τις τιμές για να αναζητήσει το σύνολο των υπερπαραμέτρων που μεγιστοποιεί την αντικειμενική συνάρτηση που ορίζεται από τις τρεις μετρικές. Ακολούθως, το σύνολο Pareto προσδιορίζει το σύνολο των μη-κυρίαρχων (non-dominant) λύσεων που αντιπροσωπεύουν την καλύτερη αντιστάθμιση μεταξύ της ακρίβειας και της κατανομής-F1 και παρέχει ανατροφοδότηση στο Optuna σχετικά με ανεξερεύνητες περιοχές του χώρου υπερπαραμέτρων που είναι πιθανό να περιέχουν μη-κυρίαρχες διαμορφώσεις υπερπαραμέτρων.

Λαμβάνοντας υπόψη τις χαμηλές αποκλίσεις υψής στα κύτταρα των διαδοχικών σταδίων Fuhrman, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το επίπεδο softmax σε κάθε παραλλαγή των αρχιτεκτονικών VGG-16, VGG-19, ResNet-50, ResNet-101 αντικαθίσταται από ένα επίπεδο εξαγωγής χαρακτηριστικών. Αυτό περιλαμβάνει τη χρήση του 2D επιπέδου συγκέντρωσης του καθολικού μέσου όρου μετά το τελευταίο επίπεδο συνέλιξης τους για την παραγωγή ενός πεπλατυσμένου (1D) διανύσματος χαρακτηριστικών για κάθε ένα από τα 2100 επιθέματα εικόνας στο σύνολο δεδομένων, με το ίδιο βάθος με τον αριθμό των φίλτρων στο προηγούμενο επίπεδο συνέλιξης [159]. Ως αποτέλεσμα, τα πεπλατυσμένα χαρακτηριστικά ποικίλλουν σε μέγεθος ανάλογα με κάθε μοντέλο CNN που χρησιμοποιείται (512 για τα VGG-16 και VGG-19 και 2048 για τα ResNet-50 και ResNet-101). Αυτά τροφοδοτούνται στη συνέχεια ως είσοδος στη συμβατική διοχέτευση μηχανικής μάθησης του μοντέλου ExpanderNet, το οποίο προσφέρει μια μεγάλη ποικιλία τεχνικών προεπεξεργασίας και ταξινόμησης δεδομένων. Η χρήση αυτών των τεχνικών μπορεί ενδεχομένως να βελτιώσει τη γενίκευση των δεδομένων εικόνας και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων της σταδιοποίησης Fuhrman.

Η διοχέτευση μηχανικής μάθησης λαμβάνει τα διανύσματα 1D από τους τέσσερις εξαγωγείς χαρακτηριστικών CNN και χρησιμοποιεί το Optuna για να βρει τον καλύτερο συνδυασμό μεθόδων για την ταξινόμηση των δειγμάτων ccRCC. Η διοχέτευση περιλαμβάνει τεχνικές προεπεξεργασίας όπως η Min-Max κανονικοποίηση (normalization) και η τυποποίηση (standardization) μέσω της Z-score κανονικοποίησης, καθώς και μεθόδους επιλογής χαρακτηριστικών όπως η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Analysis - PCA), η Παλινδρόμηση Lasso (Lasso Regression) και ο Γενετικός Αλγόριθμος (Genetic Algorithm - GA) για τη μείωση της υπερμοντελοποίησης και την ενίσχυση της απόδοσης ενός ταξινομητή.

Η PCA είναι μια τεχνική μείωσης της διαστασιμότητας που αποσκοπεί στον καθορισμό ενός συνόλου ορθογώνιων διανυσμάτων, γνωστών ως κύριες συνιστώσες, τα οποία καταγράφουν τη μέγιστη διακύμανση στα πολυμεταβλητά δεδομένα και μπορούν να θεωρηθούν ως ένα νέο σύνολο πιο πληροφοριακών χαρακτηριστικών [160]. Οι Γενετικοί Αλγόριθμοι χρησιμοποιούν τους τελεστές αναζήτησης με βάση τον πληθυσμό (population), διασταύρωσης (crossover) και μετάλλαξης (mutation) για την δημιουργία νέων γενεών χαρακτηριστικών που βελτιώνουν την απόδοση ενός μοντέλου ταξινόμησης [161]. Η Παλινδρόμηση Lasso εφαρμόζει κανονικοποίηση (regularization) προσθέτοντας έναν όρο ποινής στη συνάρτηση κόστους ενός μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης, ανάλογο της απόλυτης τιμής των συντελεστών των χαρακτηριστικών. Αυτό συρρικνώνει τους συντελεστές προς το μηδέν, αφαιρώντας ενδεχομένως ορισμένα χαρακτηριστικά από τη διαδικασία εκπαίδευσης [160].

Τέλος, η διοχέτευση χρησιμοποιεί τους αλγόριθμους Naive Bayes, k-Πλησιέστερων Γειτόνων (k-Nearest Neighbors - k-NN), Μηχανής Διανυσματικής Υποστήριξης (Support

Vector Machine - SVM), Τυχαίου Δάσους (Random Forest) και AdaBoost με εκτιμητές βάσης (base estimators) τα Δέντρα Απόφασης (Decision Trees) ως τα συμβατικά μοντέλα ταξινόμησης. Οι υπερπαραμέτροι της διοχέτευσης μηχανικής μάθησης προς βελτιστοποίηση παρατίθενται στον Πίνακα 5.5.

Πίνακας 5.5: Βελτιστοποίηση υπερπαραμέτρων στη διοχέτευση μηχανικής μάθησης

Υπερπαραμέτροι Συμβατικής Διοχέτευσης	Τιμές	Μετρικές Μπεϋζιανής Βελτιστοποίησης	Μετρικές Pareto front
Μέθοδος κλιμάκωσης	Κανονικοποίηση Min-Max [0, 1], Κανονικοποίηση Z-score [-1, 1]	Ακρίβεια, Πιστότητα, Ανάκληση, F1-score,	Ακρίβεια, F1-score
Επιλογέας χαρακτηριστικών	PCA, Παλινδρόμηση Lasso, Γενετικός Αλγόριθμος	Cohen's kappa	
Αλγόριθμος ταξινόμησης	Naive Bayes, k-NN, SVM, Random Forest, AdaBoost		

Το Optuna προσεγγίζει μια αντικειμενική συνάρτηση για την εύρεση του βέλτιστου συνόλου των παραπάνω υπερπαραμέτρων, με στόχο τη μεγιστοποίηση της ακρίβειας, της πιστότητας (precision), της ανάκλησης (recall), της κατανομής-F1 και του Cohen's kappa που λαμβάνονται με τη μέθοδο διαστρωματωμένης διασταυρούμενης επικύρωσης 10-τιμημάτων (stratified 10-fold cross-validation). Η μέθοδος αυτή εξασφαλίζει ότι κάθε τμήμα περιέχει μια ισόποση κατανομή των δειγμάτων κλάσης. Ομοίως με τη διαδικασία λεπτομερούς συντονισμού των CNN, το σύνορο Pareto παρέχει ανατροφοδότηση με βάση τις μη-κυρίαρχες λύσεις που αντιπροσωπεύουν την καλύτερη αντιστάθμιση μεταξύ της ακρίβειας και της κατανομής-F1.

5.2.2 Αποτελέσματα

Σε αυτήν την υποενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της υβριδικής μεθόδου ταξινόμησης ExpanderNet στα επισημειωμένα δείγματα εικόνων Fuhrman. Αυτό περιλαμβάνει τη διαφοροποίηση των κυκλικών δομών όγκου με βάση τον βέλτιστο ταξινομητή εντός της συμβατικής διοχέτευσης μηχανικής μάθησης. Αυτή η διαδικασία ταξινόμησης βασίζεται στα διανύσματα χαρακτηριστικών που εξάγονται από τις αρχικά λεπτομερώς συντονισμένες αρχιτεκτονικές CNN.

Μετρήσεις απόδοσης ταξινόμησης

Οι επιδόσεις ταξινόμησης της υβριδικής μεθόδου, που προκύπτουν με βάση τη προσέγγιση του συνόρου Pareto, συνοψίζονται στον Πίνακα 5.6. Οι πέντε καλύτερες καταγραφές παρουσιάζονται με φθίνουσα σειρά, μαζί με τις βέλτιστες υπερπαραμέτρους τους. Αναλυτικότερα, η διαμόρφωση με την υψηλότερη απόδοση περιλαμβάνει: α) το πάγωμα των βαρών του βαθύτατου ResNet-101 CNN μέχρι το τέταρτο συνελικτικό μπλοκ, β) την εφαρμογή της

τυποποίησης (κανονικοποίηση Z-score) στους εξαγόμενους χάρτες χαρακτηριστικών στο εύρος $[-1, 1]$, γ) τη χρήση του Γενετικού Αλγόριθμου (GA) ως επιλογή χαρακτηριστικών, μειώνοντας τη διαστασιμότητα των χαρακτηριστικών από 2048 σε 1633 και δ) τη χρήση του AdaBoost ως καλύτερου ταξινομητή στον συμβατικό αγωγό μηχανικής μάθησης. Με το συνδυασμό αυτών των υπερπαραμέτρων, επιτυγχάνεται αξιοσημείωτη ακρίβεια ταξινόμησης 92,4% για τα κύτταρα ‘Fuhrman 1’, ‘Fuhrman 2’ και ‘Fuhrman 3’ και κατανομή-F1 91,9%.

Πίνακας 5.6: Βέλτιστες λύσεις Pareto του υβριδικού ταξινομητή ExpanderNet με χρήση της Μπεύζιανής βελτιστοποίησης

	Λεπτομερώς	Κάτω Όριο	Άνω Όριο
	Συντονισμένο CNN	Συνελικτικού Μπλοκ	Συνελικτικού Μπλοκ
1	ResNet-101	0	4
2	ResNet-101	0	4
3	ResNet-101	0	4
4	ResNet-101	0	4
5	ResNet-101	0	4

Μέθοδος	Επιλογέας	Αριθμός	Συμβατικός	Ακρίβεια	Κατανομή-F1	
Κλιμάκωσης	Χαρακτηριστικών	Χαρακτηριστικών	Ταξινομητής	(%)	(%)	
1	Z-score	GA	1633	AdaBoost	92,4	91,9
2	Z-score	GA	1357	AdaBoost	92,4	91,9
3	Z-score	GA	1529	AdaBoost	92,4	91,9
4	Z-score	GA	1567	AdaBoost	92,4	91,9
5	Z-score	GA	1653	AdaBoost	92,4	91,9

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι πέντε πρώτες καταχωρίσεις στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές ακρίβειας και κατανομής-F1. Ωστόσο, διαφέρουν ως προς τον αριθμό των επιλεγμένων χαρακτηριστικών που λαμβάνονται μέσω του Γενετικού Αλγόριθμου. Αυτή η διαφοροποίηση αναδεικνύει την ευελιξία του αλγορίθμου στην εύρεση διαφορετικών υποσυνόλων χαρακτηριστικών που επιτυγχάνουν συγκρίσιμες επιδόσεις σε εργασίες ταξινόμησης.

Κεφάλαιο 6

Συμπεράσματα και Μελλοντική Έρευνα

Σύνοψη

Το τελευταίο κεφάλαιο συνοψίζει τα κύρια ευρήματα της διδακτορικής διατριβής, αναδεικνύοντας τις μεθοδολογικές προσεγγίσεις που αναπτύχθηκαν για την ποσοτική αξιολόγηση της ηπατικής και παγκρεατικής στεάτωσης, καθώς και τις βάσεις που τέθηκαν για την επερχόμενη αυτοματοποιημένη σταδιοποίηση του διαυγοκυτταρικού νεφρικού καρκινώματος σε μικροσκοπικά δείγματα ιστολογίας. Συζητείται επίσης η συμβολή των προτεινόμενων υπολογιστικών μεθόδων, σε σύγκριση με τις αντίστοιχες δημοσιευμένες, στην επιστημονική κοινότητα. Τέλος, επισημαίνονται οι μελλοντικοί στόχοι για την επέκταση της έρευνας σε νέες μελέτες, συμπεριλαμβανομένου ενός εν εξελίξει έργου για τη σταδιοποίηση του καρκίνου του παχέος εντέρου σε ένα νέο σύνολο εικόνων βιοψίας.

6.1 Συμπεράσματα Διδακτορικής Διατριβής

6.1.1 Συμπεράσματα μελέτης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο ήπαρ

Στην παρούσα μελέτη προτείνεται μια αυτοματοποιημένη μέθοδος ανάλυσης εικόνας για την ποσοτική εκτίμηση της εναπόθεσης λίπους σε δείγματα βιοψίας στεατωτικού ήπατος. Στο αρχικό της στάδιο, πραγματοποιείται κατάτμηση των υποψήφιων δομών λίπους στον ηπατικό ιστό με τη χρήση κλασικών τεχνικών επεξεργασίας εικόνας (βλ. Ενότητα 3.1). Η μεθοδολογική διαδικασία παρουσιάζει ενθαρρυντικές επιδόσεις, με μέσο σφάλμα ποσοτικοποίησης 2,08% και τυπική απόκλιση 1,18%, σε σύγκριση με οπτικές εκτιμήσεις ειδικών ιστοπαθολόγων. Ωστόσο, για τη μείωση των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ανίχνευσης από τα ποσοστά επικράτησης της στεατώσεως, είναι επωφελής μια πιο λεπτομερής διερεύνηση των άγνωστων αντικειμένων.

Χάρη στη σύγκλιση των ενεργών περιγραμμάτων στα όρια των κατατμημένων αντικειμένων, καθίσταται δυνατός ο υπολογισμός ενός συνόλου στατιστικών ιδιοτήτων για τη διαφοροποίηση των αληθώς θετικών λιποκυττάρων από άλλες ιστολογικές δομές και αλλοιώσεις σε ένα μεταγενέστερο στάδιο μηχανικής μάθησης (βλ. Ενότητα 4.1). Συγκεκριμένα, ο αλγόριθμος GenClass που βασίζεται στη Γραμματική Εξέλιξη (Grammatical Evolution - GE) χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των περιοχών εναπόθεσης λίπους από εκείνες της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης (hepatocellular ballooning), αλλά και για τον αποκλεισμό υγιών ευρημάτων (κολποειδή και φλέβες) από τους υπολογισμούς του λόγου στεατώσεως σε δείγματα μη-αλκοολικής λιπώδους ηπατικής νόσου (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease - NAFLD) και μη-αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (Non-Alcoholic Steatohepatitis - NASH).

Ο συνδυασμός τεχνικών επεξεργασίας εικόνας, μηχανικής μάθησης και αλγόριθμων εξελικτικής βελτιστοποίησης οδηγεί εν τέλει σε ικανοποιητικές επιδόσεις στον ποσοτικό προσδιορισμό της αναλογίας λίπους, όπως καταδεικνύεται από τα διαγνωστικά αποτελέσματα (Πίνακες 4.2, 4.3). Η μέθοδος GenClass-GE επιτυγχάνει μέσο απόλυτο σφάλμα 1,93% σε σύγκριση με τις ημιποσοτικές γνωματεύσεις εξειδικευμένων ηπατολόγων. Πρόκειται, μάλιστα, για το χαμηλότερο ποσοτικό σφάλμα σε σύγκριση με άλλους ταξινομητές, συμπεριλαμβανομένων των Naive Bayes, κ-Πλησιέστερων Γειτόνων (k-Nearest Neighbors - k-NN), C4.5 Δέντρου Απόφασης (Decision Tree) και Μηχανής Διανυσματικής Υποστήριξης (Support Vector Machine - SVM) με σφάλματα 2,01%, 2,18%, 2,01% και 1,99%, αντίστοιχα, καθώς και το στάδιο της κατάτμησης εικόνας (με σφάλμα 2,08%) πριν από την ταυτοποίηση των ανιχνευόμενων ιστολογικών αντικειμένων.

Τονίζεται ότι αυτή η μελέτη αποτελεί την πρώτη δημοσιευμένη εργασία που χρησιμοποιεί την εξελικτική μέθοδο βελτιστοποίησης της GE για την ταξινόμηση ασθενικών περιοχών

NAFLD και NASH. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου GenClass-GE είναι η ικανότητά της να παράγει αυτόματα ένα πρόγραμμα ταξινόμησης από ένα προκαθορισμένο διάλυμα χαρακτηριστικών μέσω μιας προσέγγισης γραμματικής σύνταξης, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε νέους τρόπους διάκρισης χαρακτηριστικών που μπορεί να μην έχουν ληφθεί υπόψη από έναν ανθρώπινο παρατηρητή, βελτιώνοντας έτσι την ακρίβεια αναγνώρισης παθολογικών μοτίβων. Επιπλέον, η αυτόματη κατασκευή του προγράμματος ταξινόμησης στην GenClass-GE αποδίδει βελτιωμένη απόδοση σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο του χειροκίνητου συντονισμού μοντέλων ταξινόμησης, η οποία μπορεί να είναι επιρρεπής σε σφάλματα.

Περαιτέρω, το αυτοματοποιημένο διαγνωστικό εργαλείο παρουσιάζει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα στην ταξινόμηση εικόνων μεγέθυνσης 20x, θέτοντας μια ισχυρή βάση για την ενσωμάτωση νέων τεχνικών με στόχο τη διάκριση ιστολογικών ευρημάτων σε περιοχές με επικαλυπτόμενα αντικείμενα ενδιαφέροντος στις επόμενες μελέτες της διδακτορικής έρευνας. Για παράδειγμα, οι προσεχείς εργασίες περιλαμβάνουν τη συμπερίληψη νέων κλάσεων για περιοχές συσσωμάτωσης λίπους και τον διαχωρισμό των κακοήθων ευρημάτων με βάση τον μετασχηματισμό λεκάνης απορροής σε εικόνες υψηλότερης μεγέθυνσης 40x.

Εν κατακλείδι, η προτεινόμενη μέθοδος αποτελεί μια ευέλικτη επιλογή για την πλήρη αυτοματοποίηση μιας διοχέτευσης αναγνώρισης προτύπων και τον εντοπισμό πολλαπλών ανατομικών ευρημάτων σε βιοψίες ήπατος, διαχωρίζοντας τα σταγονίδια λίπους από άλλες ιστολογικές αλλοιώσεις. Η επιτυχία αυτής της προσέγγισης θα μπορούσε να έχει σημαντικά οφέλη στην ποσοτικοποίηση του επιπολασμού της NAFLD και της NASH σε κλινικές δοκιμές.

6.1.2 Συμπεράσματα μελέτης ταξινόμησης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο ήπαρ με τεχνικές βαθιάς μάθησης

Σκοπός της παρούσας μελέτης (βλ. Ενότητα 4.2) είναι η ανάπτυξη μιας βαθιάς αρχιτεκτονικής συνελικτικού νευρωνικού δικτύου (Convolutional Neural Network - CNN) για την ακριβή διάκριση τεσσάρων ιστολογικών αντικειμένων βιοψίας ήπατος: 1) διογκωμένο ηπατοκύτταρο, 2) φυσαλίδα λίπους, 3) κολποειδές και 4) φλέβα. Το νέο μοντέλο CNN εκπαιδεύεται σε δύο διαφορετικές περιπτώσεις χρησιμοποιώντας τους αλγόριθμους βελτιστοποίησης προσαρμοστικής εκτίμησης ροπής (Adaptive moment estimation - Adam) και στοχαστικής κατάβασης κλίσης με ορμή (Stochastic Gradient Descent with Momentum - SGDM), με τον SGDM να παράγει τη βέλτιστη ακρίβεια ταξινόμησης 95%. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η απόδοση των βελτιστοποιητών μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το σύνολο δεδομένων, την αρχιτεκτονική του μοντέλου και τις υπερπαραμέτρους που χρησιμοποιούνται. Επομένως, σε επόμενες μελέτες ένα σημαντικό βήμα αποτελεί ο πειραματισμός

με διαφορετικούς συνδυασμούς υπερπαραμέτρων για την εύρεση της βέλτιστης διαμόρφωσης για ένα δεδομένο πρόβλημα.

Για να αξιολογηθεί η απόδοση της νέας τοπολογίας CNN_{SGDM}, συγκρίνεται με εκείνη προεκπαιδευμένων μοντέλων, όπως το AlexNet και το VGG-16, καθώς και με ένα συμβατικό τεχνητό νευρωνικό δίκτυο Πολυεπίπεδου Αντίληπτρου (Multilayer Perceptron - MLP). Τα αποτελέσματά δείχνουν ότι το μοντέλο CNN_{SGDM} σημειώνει καλύτερη ακρίβεια ταξινόμησης από το VGG-16 (94%), ενώ το AlexNet αναδεικνύεται ως ο βέλτιστος ταξινομητής (97%). Τα ευρήματα αυτά καταδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της προτεινόμενης αρχιτεκτονικής CNN στην ακριβή διάκριση μεταξύ αποκομμένων τμημάτων από εικόνες ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (Whole Slide Images - WSIs) βιοψίας ήπατος και αναδεικνύουν τις δυνατότητες των CNN στην αυτοματοποιημένη παθολογική ανάλυση.

Συμπερασματικά, η μέθοδος αποτελεί μία από τις πρώτες μεθόδους διαχωρισμού πολλαπλών υγιών και ασθενικών ευρημάτων σε εικόνες βιοψιών NAFLD και NASH και η πρώτη που εμβαθύνει στην ταξινόμηση της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης με τεχνικές βαθιάς μάθησης. Χάρη στις υψηλές επιδόσεις της έχει ασκήσει επιρροή στην ερευνητική κοινότητα αποδεικνύοντας εμφατικά ότι οι αρχιτεκτονικές CNN προσφέρουν πλήρως αυτοματοποιημένες αναλύσεις που υπερτερούν των συμβατικών μοντέλων μηχανικής μάθησης τα οποία βασίζονται στη χειροκίνητη εξαγωγή χαρακτηριστικών. Η σχετικά χαμηλή απόδοση του MLP (90,3%) είναι ένας λόγος για τον οποίο οι ερευνητές έχουν στραφεί σε εξελικτικές μεθόδους για τη βελτιστοποίηση των διοχετεύσεων μηχανικής μάθησης (βλ. Ενότητα 4.1) και σε αλγόριθμους βαθιάς μάθησης για την πλήρη αυτοματοποίηση των διαγνωστικών διαδικασιών. Η επιτυχία αυτής της προσέγγισης είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη βελτίωση της αντικειμενικής διάκρισης της ηπατοκυτταρικής διόγκωσης και των σταγονιδίων λίπους, δύο ιστολογικών αλλοιώσεων που συμβάλλουν στην αύξηση του επιπολασμού της NAFLD και της NASH τα τελευταία χρόνια.

6.1.3 Συμπεράσματα μελέτης ιστοπαθολογικών ευρημάτων στο πάγκρεας

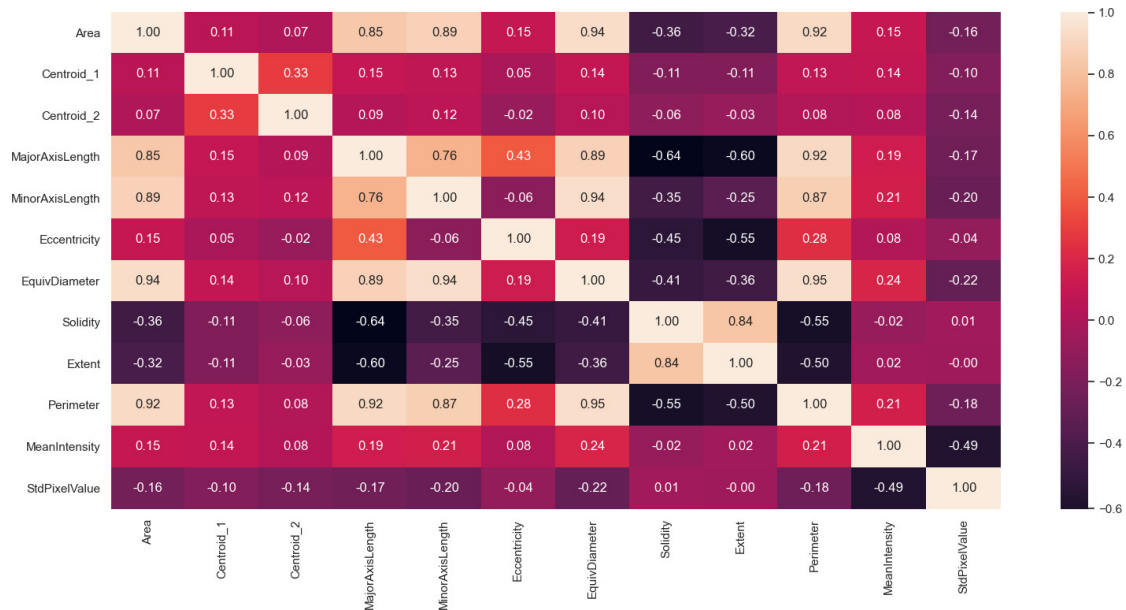
Στην παρούσα εργασία προτείνεται μια μεθοδολογία για την ανίχνευση δομών ιστολογικής στεάτωσης σε 20 εικόνες βιοψίας παγκρέατος με μη-αλκοολική λιπώδη παγκρεατική νόσο (Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease - NAFPD) σε μεγέθυνση αντικειμενικού φακού 20x. Η εν λόγω προσέγγιση συνδυάζει αρχικά τεχνικές βελτίωσης και κατάτμησης εικόνας για τον εντοπισμό της ιστολογικής περιοχής και την εξαγωγή της αναλογίας εξάπλωσης των κυκλικών δομών λίπους (βλ. Ενότητα 3.2). Τα ευρήματα της ανίχνευσης δείχνουν υποσχόμενα αποτελέσματα για μελλοντικές επεκτάσεις της μεθόδου, με μέσο απόλυτο διαγνωστικό σφάλμα 0,51% και τυπική απόκλιση 0,3% σε σύγκριση με τις εκτιμήσεις βασικής

αλήθειας των ιατρών. Ωστόσο, η τιμή αυτή επηρεάζεται από τη συμπερίληψη ορισμένων ιστολογικών περιοχών χαμηλής αντίθεσης και κυκλικών τεχνουργημάτων ως δομών στεάτωσης, γεγονός που επιδρά στον βαθμό εγκυρότητας του εργαλείου ποσοτικοποίησης λίπους. Για την αντιμετώπιση αυτού του διαγνωστικού εμποδίου, το στάδιο κατάτμησης ενσωματώνεται στη συνέχεια σε δύο συστήματα εποπτευόμενης μάθησης (βλ. Ενότητες 4.3, 4.4) για τη βελτίωση της ικανότητας του να διακρίνει τις περιοχές διήθησης λίπους από τα ιστολογικά τεχνουργήματα.

Ως πρώτη επέκταση της μεθόδου (βλ. Ενότητα 4.3), εφαρμόζονται τεχνικές προεπεξεργασίας δεδομένων και μηχανικής μάθησης για την ταξινόμηση των άγνωστων κατατμημένων κυκλικών δομών ως περιοχές λίπους (μονό σταγονίδιο λίπους, διπλά-συσσωματωμένο λίπος και πολλαπλά-συσσωματωμένο λίπος) και τον διαχωρισμό τους από τα ιστολογικά τεχνουργήματα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα μοντέλα ταξινόμησης παράγουν ποσοστά επικράτησης λίπους κοντά σε αυτά των ημιποσοτικών διαγνώσεων από τους ιατρούς, με ελάχιστο μέσο απόλυτο σφάλμα 0,23% που προέρχεται από τον αλγόριθμο Τυχαίου Δάσους (Random Forest) και χαμηλότερο από αυτό του σταδίου κατάτμησης εικόνας (0,51%).

Ο αλγόριθμος Random Forest αποδεικνύεται κατάλληλος για το χειρισμό δεδομένων υψηλής διάστασης, ενώ αποφεύγεται η υπερμοντελοποίησή τους με την τυχαία επιλογή ενός υποσυνόλου χαρακτηριστικών για κάθε δέντρο απόφασης. Ομοίως, το μοντέλο MLP αποδίδει ικανοποιητικά στις πολύπλοκες μη-γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ των δεδομένων εισόδου και εξόδου. Ωστόσο, υπερμοντελοποιεί ελαφρώς τα δεδομένα και ο προσδιορισμός της βέλτιστης και επαρκώς κανονικοποιημένης (regularized) αρχιτεκτονικής απαιτεί πολλές προσπάθειες δοκιμής και σφάλματος. Η λιγότερο βέλτιστη απόδοση του SVM μπορεί να αποδοθεί στις μορφολογικές και υφικές ομοιότητες μεταξύ ορισμένων ιστολογικών αλλοιώσεων, υποδεικνύοντας μη-ιδανικά διαχωρισμένες κλάσεις με τον προκαθορισμένο γραμμικό πυρήνα του. Αυτό, σε συνδυασμό με την είσοδο λιγότερο πληροφοριακών χαρακτηριστικών, σύμφωνα με τις κατά ζεύγη συσχετίσεις (pairwise correlations) Pearson της Εικόνας 6.1, μειώνει την απόδοση του SVM. Αντίθετα, ο Logistic Regression είναι πιο ικανός στο χειρισμό επικαλυπτόμενων χαρακτηριστικών κλάσης, προσαρμόζοντας τη σιγμοειδή συνάρτηση στα δεδομένα τους πιο αποτελεσματικά.

Ωστόσο, η οπτική αξιολόγηση της φάσης ταξινόμησης αποκαλύπτει ορισμένα ψευδώς θετικά αποτελέσματα ανίχνευσης λίπους που οδηγούν σε υπερεκτίμηση των ποσοστών στεάτωσης στα μικροσκοπικά δείγματα. Η ενσωμάτωση ευρετικών τεχνικών (βλ. Ενότητα 4.1) στη μέθοδο μελλοντικά θα συνέβαλε σημαντικά στη δημιουργία νέων βέλτιστων χαρακτηριστικών από το ισορροπημένο σύνολο δεδομένων και στο συντονισμό υπερπαραμέτρων για τη βελτίωση της απόδοσης των συμβατικών ταξινομητών. Η προτεινόμενη μέθοδος υπολογιστικής όρασης, καθώς και τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματά της, χρησιμεύει ως βασικό στοιχείο για περαιτέρω επέκταση σε επόμενη ενότητα.



Εικόνα 6.1. Παρουσίαση των κατά ζεύγη συσχετίσεων χαρακτηριστικών Pearson στο σύνολο δεδομένων παγκρέατος με τη χρήση ενός χάρτη θερμότητας (heatmap). Διαπιστώνεται ότι ορισμένα χαρακτηριστικά, όπως η έκταση (extent), το μήκος του μείζονος άξονα (major axis length), το μήκος του δευτερεύοντος άξονα (minor axis length), η διάμετρος (equivdiameter) και η περίμετρος (perimeter), συσχετίζονται ισχυρά (με τιμές άνω του 0,7), καθώς και με το εμβαδόν (area) των αντικειμένων κλάσης. Αυτή η ισχυρή συσχέτιση μπορεί να προκαλέσει πολυσυγγραμμικότητα (multicollinearity), η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αστάθεια και πλεονασμό στα μοντέλα. Κατά συνέπεια, ενδέχεται να οδηγήσει σε υπερμοντελοποίηση κατά την εκπαίδευσή τους. Αντίθετα, τα ασθενώς συσχετιζόμενα χαρακτηριστικά παρέχουν περισσότερες ανεξάρτητες πληροφορίες και βοηθούν τα μοντέλα να γενικεύουν καλύτερα σε νέα δεδομένα.

Η Ενότητα 4.4 αποτελεί μια επέκταση της μεθόδου, που διερευνά τη δυνατότητα της πλήρως αυτοματοποιημένης ανάλυσης των συνελικτικών νευρωνικών δικτύων στα δεδομένα υγιών και παθολογικών ευρημάτων NAFPD, με στόχο τον αποκλεισμό των υγιών τεχνουργημάτων και την αντιμετώπιση του προβλήματος υπερεκτίμησης του λίπους. Για να επιτευχθεί αυτό, κάθε αρχικά κατατημένο αντικείμενο ταξινομείται από τα μοντέλα AlexNet, VGG-16, VGG-19 και ResNet-50 CNN. Στη συνέχεια, οι χαρακτηρισμοί κάθε CNN λαμβάνονται υπόψη από ένα σύστημα ψηφοφορίας για τον προσδιορισμό της πλειοψηφικής κλάσης για κάθε κατατημένη δομή, σχηματίζοντας έτσι ένα μοντέλο απόφασης πολλαπλών βαθιών δικτύων σε ομάδα (ensemble CNN). Σε σύγκριση με τις μεμονωμένες βαθιές τοπολογίες, ο αλγόριθμος ensemble CNN φέρει την υψηλότερη ικανότητα πρόβλεψης μεταξύ των τεσσάρων ιστολογικών εναλλαγών (single, double, multiple και artifact), έχοντας ως αποτέλεσμα απόλυτο σφάλμα ποσοτικοποίησης λίπους 0,08% και μέση ομοιότητα κατάτησης λίπους κατά Dice 83,3% σε σχέση με τις ημιποσοτικές εκτιμήσεις ειδικών ιατρών.

Για να ενισχυθεί η ικανότητα του συστήματος ensemble CNN στον εντοπισμό ασθενικών ευρημάτων και στη βελτίωση της ομοιότητας κατάτησης Dice σε μελλοντικές μελέτες, μια προσέγγιση είναι η ανάθεση βαρών στις πιθανότητες πρόβλεψης softmax με βάση τα

στατιστικά στοιχεία από την έκθεση ταξινόμησης (Πίνακας 4.10). Επιπλέον, θα ήταν επίσης επωφελής η ενσωμάτωση νέων μετρικών απόδοσης, όπως ο συντελεστής κάπα του Cohen (Cohen's kappa), ο οποίος λαμβάνει υπόψη τόσο την ακρίβεια των προβλέψεων του μοντέλου όσο και την αναλογία των σωστών ταξινομήσεων που θα μπορούσαν να έχουν προκύψει τυχαία, πριν από τον προσδιορισμό των πλειοψηφικών κλάσεων. Αυτό θα επέτρεπε να ληφθεί περισσότερο υπόψη η γνώμη των βέλτιστων CNN σε σχέση με τα λιγότερο γενικευμένα.

Παρόλα αυτά, τα βελτιωμένα αποτελέσματα σε σύγκριση με το στάδιο κατάτμησης άγνωστων αντικειμένων δικαιολογούν τη συμπερίληψη εποπτευόμενων μοντέλων για την εξάλειψη των ιστολογικών τεχνουργημάτων στη διαδικασία ποσοτικοποίησης του λίπους. Επιπλέον, η απόφαση να διαφοροποιούνται όλες οι περιοχές συσσώρευσης λίπους (μονές, διπλές και πολλαπλές) με διαφορετικές ετικέτες κλάσης αποδεικνύεται σωστή, ιδίως όσον αφορά την αποτροπή της εσφαλμένης ταξινόμησης περιοχών συσσωμάτωσης λίπους ως ιστολογικά τεχνουργήματα με παρόμοιες μορφολογικές ιδιότητες. Αυτό το πλεονέκτημα, σε συνδυασμό με την ικανότητα των βαθέων CNN να ξεπερνούν τα προβλήματα που δημιουργούνται από τα χειροκίνητα επισημειωμένα χαρακτηριστικά, οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα ποσοτικοποίησης λίπους.

Η ιστολογική παρακολούθηση της μη-αλκοολικής λιπώδους παγκρεατικής νόσου (NAFPD) είναι ένας σχετικά ανεξερεύνητος τομέας, χωρίς να υπάρχουν επί του παρόντος δημοσιευμένες μέθοδοι που να εμβαθύνουν στη χρήση αλγορίθμων ταξινόμησης. Εντούτοις, αυτή η προσέγγιση υπολογιστικής όρασης θα μπορούσε να αποτελέσει το σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη νέων αυτοματοποιημένων εργαλείων για την ποσοτική αξιολόγηση της εξάπλωσης του λίπους της NAFPD και της μη-αλκοολικής στεατοπαγκρεατίτιδας (Non-Alcoholic Steatorpancreatitis - NASP), δύο παθήσεων που δεν έχουν διαγνωστεί εκτενώς με τη χρήση του χρυσού προτύπου των εικόνων βιοψίας.

6.1.4 Συμπεράσματα συγκριτικής μελέτης μεταφοράς μάθησης έναντι νέων CNN αρχιτεκτονικών σε προβλήματα ταξινόμησης ιστοπαθολογικών ευρημάτων

Η παρούσα εργασία (βλ. Ενότητα 4.5) επικεντρώνεται στην ταξινόμηση τεσσάρων αλλοιώσεων του ηπατικού ιστού με τη χρήση βαθέων συνελικτικών νευρωνικών δικτύων. Πρώτον, παρουσιάζεται μια νέα τοπολογία που ονομάζεται CNN_L_ReLU , η οποία έχει σχεδιαστεί για να επιτυγχάνει τόσο υψηλή ακρίβεια ταξινόμησης όσο και σύντομο χρόνο εκπαίδευσης. Στη συνέχεια, η απόδοση του νέου CNN συγκρίνεται με εκείνη τεσσάρων προ-εκπαιδευμένων μοντέλων (AlexNet, VGG-19, GoogleNet και Inception-v3) στα οποία εφαρμόζεται μεταφορά μάθησης.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το κατασκευασμένο μοντέλο CNN_{L_ReLU} επιφέρει ακρίβεια ταξινόμησης 95,8%, ενώ το AlexNet παράγει την υψηλότερη απόδοση ταξινόμησης (ακρίβεια: 97,8%). Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν τις δυνατότητες ανάπτυξης νέων μοντέλων CNN, με ένα ευρύ φάσμα υπερπαραμέτρων εκπαίδευσης, όπως τα βάρη αρχικοποίησης και οι συναρτήσεις ενεργοποίησης, για την ακριβέστερη προσομοίωση της ανθρώπινης οπτικής παρατήρησης των δομών μικροσκοπίας. Επιπλέον, αυτά τα μοντέλα μπορούν να επιτύχουν συντομότερες διαδικασίες εκπαίδευσης χωρίς να απαιτούν εξοπλισμό υλικού υψηλού προϋπολογισμού, ανοίγοντας νέες δυνατότητες για αυτοματοποιημένες λύσεις ανάλυσης εικόνας σε διάφορους τομείς.

6.1.5 Συμπεράσματα μελέτης σταδιοποίησης κακοήθειας στους νεφρούς

Στην παρούσα εργασία (βλ. Ενότητα 3.3) προτείνεται μια μέθοδος για την κατάτμηση καρκινικών κυττάρων σε ογκολογικά δείγματα βιοψίας 40× με διαυγοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (clear cell Renal Cell Carcinoma - ccRCC). Η μεθοδολογία εφαρμόζει αρχικά κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνας για την εξαγωγή των κυτταρικών περιοχών ενδιαφέροντος από τον ιστό τους. Ωστόσο, από μόνη της δεν μπορεί να παρέχει πρωτογενείς ποσοτικές εκτιμήσεις του σταδίου της πάθησης, όπως συμβαίνει με τις μεθόδους 3.1 και 3.2, καθώς ο στόχος δεν είναι η διάκριση μεταξύ δυνητικά καρκινικών αντικειμένων κατάτμησης.

Για την αντιμετώπιση αυτού του περιορισμού, η μεθοδολογία επεκτείνεται με την ενσωμάτωση ενός υβριδικού μοντέλου εποπτευόμενης μάθησης στο διαγνωστικό σύστημα (βλ. Ενότητα 5.2). Αυτό επιτρέπει την ακριβή ταξινόμηση κάθε αντικειμένου κατάτμησης σύμφωνα με την ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο διάκρισης κυτταρικών χαρακτηριστικών Fuhman. Με τον τρόπο αυτό, η μεθοδολογία ενισχύει το επίπεδο εξαγωγής πληροφοριών, με απώτερο στόχο τη βελτίωση της ακρίβειας της σταδιοποίησης του ccRCC σε μελλοντικές επεκτάσεις.

Το υβρικό μοντέλο ονόματι “ExpanderNet” εφαρμόζει αρχικά τη μέθοδο Μπεϋζιανής βελτιστοποίησης (Bayesian optimization) για τον προσδιορισμό του καλύτερου συνδυασμού υπερπαραμέτρων λεπτομερούς συντονισμού στα VGG-16, VGG-19, ResNet-50 και ResNet-101 CNNs. Αυτό αποτελεί έναν συνδυασμό διαδοχικών (sequential) (VGG-16 και VGG-19) και υπολειμματικών (residual) (ResNet-50 και ResNet-101) αρχιτεκτονικών CNN. Υπογραμμίζεται ότι για την ανάλυση των ιστοπαθολογικών δεδομένων προτιμάται ο λεπτομερής συντονισμός (fine-tuning) έναντι της μεταφοράς μάθησης (transfer learning). Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει την ενημέρωση των βαρών τόσο στα συνελικτικά όσο και στα πυκνά επίπεδα κάθε προεκπαιδευμένου CNN, καθώς τα μορφολογικά και υφολογικά χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων ογκολογικών δομών μπορεί να διαφέρουν σημαντικά από εκείνα

της πλειονότητας των κλάσεων του ImageNet. Αυτή η διαφορά μπορεί να επηρεάσει την απόδοση των βαθμών μοντέλων στην ακριβή σταδιοποίηση της κακοήθειας στα μικροσκοπικά δείγματα. Η κατεύθυνση αυτή οδηγεί επίσης στην εξαγωγή πιο κατατοπιστικών χαρτών χαρακτηριστικών που αφορούν τις πυρηνικές ιδιότητες των αντικειμένων κλάσης Fuhrman. Αυτοί οι προκύπτοντες χάρτες μπορούν να διαδραματίσουν βασικό ρόλο στη γενίκευση των ασθενικών ευρημάτων στο πλαίσιο της συμβατικής διοχέτευσης μηχανικής μάθησης της υβριδικής μεθόδου ταξινόμησης.

Με την εισαγωγή των εξαγόμενων χαρτών χαρακτηριστικών στον συμβατικό αγωγό, επιδιώκεται η ενίσχυση της απόδοσης της σταδιοποίησης Fuhrman στο υβριδικό μοντέλο. Η ενσωμάτωση αυτή προϋποθέτει τον προσδιορισμό ενός νέου συνόλου υπερπαραμέτρων για την περαιτέρω μείωση της υπερμοντελοποίησης των παθολογικών δεδομένων. Με τη μετατροπή της ταξινόμησης χαρτών χαρακτηριστικών συνέλιξης από ακατέργαστα δεδομένα εικόνας σε ανάλυση διανυσμάτων αριθμητικών χαρακτηριστικών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα ευρύτερο φάσμα τεχνικών εξόρυξης δεδομένων και ταξινόμησης. Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν μείωση της διαστασιμότητας, μεθόδους επιλογής χαρακτηριστικών και στρατηγικές ψηφοφορίας μεταξύ διαφορετικών αλγορίθμων ταξινόμησης.

Για την αξιολόγηση όλων των μοντέλων ταξινόμησης χρησιμοποιούνται οι μετρικές ακρίβειας και κατανομής-F1 (F1-score). Αν και η ακρίβεια ταξινόμησης είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μετρική αξιολόγησης, χαρακτηρίζεται από ορισμένους περιορισμούς. Για παράδειγμα, η λανθασμένη ταξινόμηση ενός κυττάρου με υψηλότερο βαθμό κακοήθειας ως έχοντος χαμηλότερο βαθμό μπορεί να έχει πολύ σοβαρότερες συνέπειες από τη διάγνωση ενός κυττάρου με χαμηλότερο βαθμό κακοήθειας ως έχοντος υψηλότερο βαθμό, αντίστοιχα. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το ζήτημα, η κατανομή-F1 ενσωματώνει την πιστότητα (precision) και την ανάκληση (recall) με τον αρμονικό μέσο όρο τους, όπου η πιστότητα μετρά το ποσοστό των αληθώς θετικών μεταξύ όλων των προβλεπόμενων θετικών και η ανάκληση το ποσοστό των αληθώς θετικών μεταξύ όλων των αληθώς θετικών. Επιπλέον, η απόκτηση του συνόρου Pareto (Pareto front) κατά το τελικό στάδιο της διαδικασίας εκπαίδευσης επιτρέπει την αντιστάθμιση μεταξύ των δύο μετρικών, διευκολύνοντας μια επιθυμητή ισορροπία και μια πιο αντικειμενική αξιολόγηση των μοντέλων ταξινόμησης. Το σύνορο Pareto, αν και χρήσιμο για την εξισορρόπηση πολλαπλών μετρικών αξιολόγησης, δεν μπορεί να αντιμετωπίσει τον κίνδυνο υπερμοντελοποίησης στα δεδομένα εκπαίδευσης. Για να ξεπεραστεί το ζήτημα αυτό, το πλαίσιο Optuna ενσωματώνει έναν μηχανισμό κλαδέματος (pruning) που τερματίζει τις μη-υποσχόμενες δοκιμές [157]. Ουσιαστικά, παρακολουθεί τις ενδιάμεσες αντικειμενικές τιμές και τερματίζει τις δοκιμές που δεν πληρούν τις προκαθορισμένες συνθήκες.

Με βάση τα παραπάνω, ο συνδυασμός του ResNet-101 και του AdaBoost, με τον Γενετικό Αλγόριθμο ως επιλογέα χαρακτηριστικών, αναδεικνύεται ως η πιο αποτελεσματική υβριδική προσέγγιση, επιτυγχάνοντας απόδοση ταξινόμησης με ακρίβεια 92,4% και κατανομή-F1

91,9% σε ένα σύνολο 2100 επιθεμάτων εικόνας χρησιμοποιώντας τη μέθοδο διαστρωματωμένης διασταυρούμενης επικύρωσης 10-τμημάτων (stratified 10-fold cross-validation).

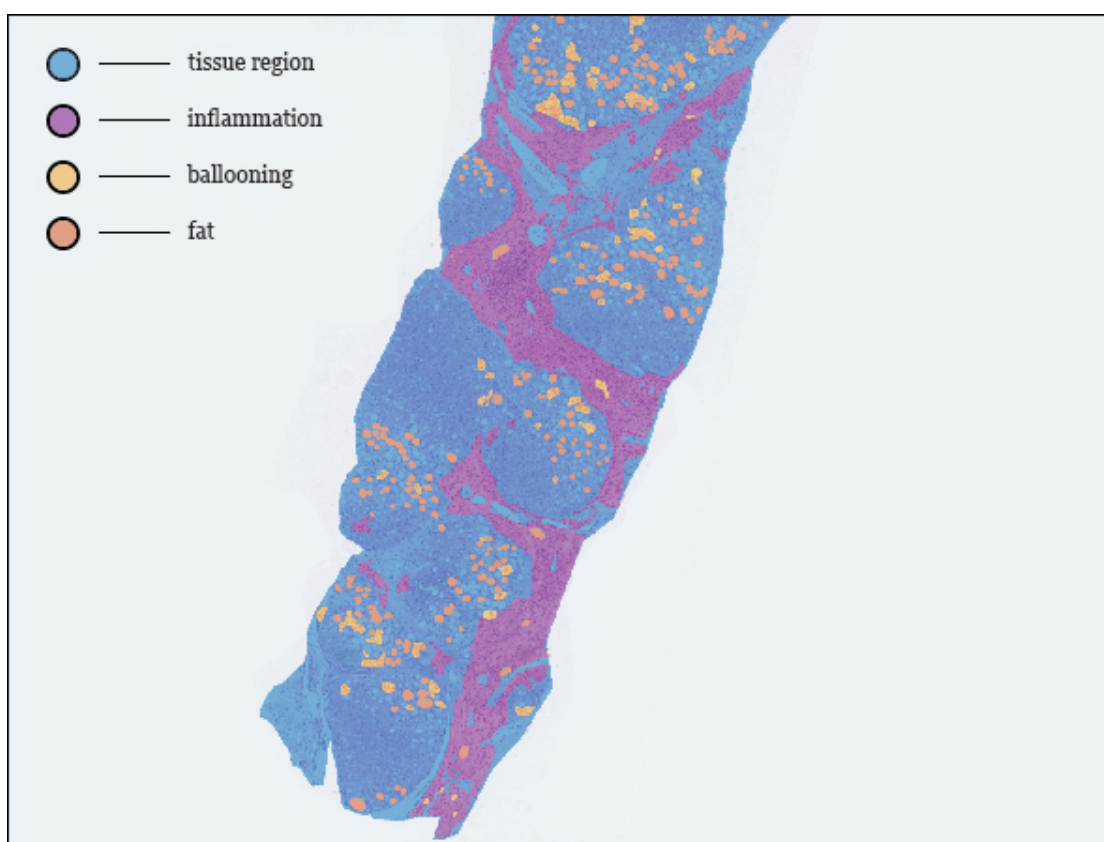
Με την ανάδειξη του ResNet-101 ως τον ιδανικότερο εξαγωγέα χαρτών χαρακτηριστικών, είναι δυνατό να εκτιμηθεί το υπολογιστικό βάθος που απαιτείται για την ανάλυση των κυτταρικών μοτίβων που καθορίζουν τα διάφορα ευρήματα κλάσης Fuhrman (1 έως 3) σε μικροσκοπικές εικόνες 40×. Σε σύγκριση με τις αντίστοιχες αρχιτεκτονικές VGG, εκτιμάται ότι οι δύο αρχιτεκτονικές ResNet προσομοιώνουν περισσότερο την οπτική αξιολόγηση του παθολόγου των πυρηνικών χαρακτηριστικών και των κυτταρικών πυρηνίων σε διαφορετικές μεγεθύνσεις του αντικειμενικού φακού (Πίνακας 5.3), λαμβάνοντας υπόψη τα μοτίβα που παρατηρήθηκαν σε προηγούμενους συντελεστές μεγέθυνσης. Από την άλλη πλευρά, ο AdaBoost, συντομογραφία της προσαρμοστική ενίσχυσης (adaptive boosting), είναι αποτελεσματικός στην αντιμετώπιση περιπτώσεων κλάσης με χαμηλές διαφορές ή διακύμανση (variance), όπως τονίστηκε για τα κύτταρα διαδοχικών σταδίων κατά Fuhrman. Δίνει έμφαση σε περιπτώσεις (instances) που είναι δύσκολο για τους αδύναμους μαθητευόμενους (weak learners) να τις ταξινομήσουν με ακρίβεια. Κατά τη διάρκεια κάθε επανάληψης του AdaBoost, οι αδύναμοι μαθητευόμενοι συνδυάζονται για να σχηματίσουν έναν ισχυρό ταξινομητή. Αυτός ο συνδυασμός επιτυγχάνεται με την ανάθεση βαρών στις προβλέψεις των αδύναμων μαθητευόμενων που αντικατοπτρίζουν την ατομική τους απόδοση, αξιοποιώντας αποτελεσματικά τη συνεισφορά τους. Αυτά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην ταξινόμηση καρκινικών δειγμάτων που εξάγονται από εικόνες 40× θέτουν τις βάσεις για μελλοντικές επεκτάσεις της διαγνωστικής μεθόδου.

Τα επόμενα βήματα περιλαμβάνουν δύο κύριους στόχους. Πρώτον, θα γίνει επανεξέταση των υπερπαραμέτρων, ιδίως εντός του συμβατικού αγωγού μηχανικής μάθησης, με σκοπό τη βελτίωση της προαναφερθείσας απόδοσης ταξινόμησης. Η βελτίωση αυτή θα συγκριθεί με την αντίστοιχη (ακρίβεια, κατανομή-F1) που προκύπτει από την ταξινόμηση softmax του βέλτιστου λεπτομερώς συντονισμένου CNN. Δεύτερον, σημαντικό έργο παραμένει ο προσδιορισμός του σταδίου κακοήθειας στα 105 τμήματα 1920 × 1080 εικονοστοιχείων που εξάγονται από τις αρχικές εικόνες ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (WSIs), με βάση τα κύτταρα που ανιχνεύονται κατά το στάδιο της κατάτμησης εικόνας. Επιπλέον, η μέθοδος θα εφαρμοστεί στην τελική της μορφή απευθείας στις 31 WSIs, παρέχοντας πολύτιμη υποστήριξη στις κλινικές εγκαταστάσεις για τη θεραπεία του ccRCC.

6.2 Μελλοντικοί Στόχοι

Η παρούσα διδακτορική διατριβή θέτει γερά θεμέλια για την περαιτέρω διερεύνηση της NA-FLD και της NASH, οι οποίες αποτελούν διαγνωστικές προκλήσεις λόγω του ποικίλου

φάσματος ιστολογικών αλλοιώσεων σε δείγματα βιοψίας ήπατος. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σημασιολογική κατάτμηση (semantic segmentation) των περιοχών οξείας και χρόνιας φλεγμονής (Εικόνα 6.2) με τη χρήση πολλαπλών CNN ως μοντέλα βάσης (backbone) σε όλο το εύρος των ψηφιοποιημένων εικόνων ολόκληρων αντικειμενοφόρων πλακών (WSIs). Αυτή η προσέγγιση διαφέρει από την υποδιαίρεση μιας WSI σε επιθέματα εικόνας και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην καταγραφή της αυξημένης συσσώρευσης πλασματοκυττάρων και του σχηματισμού ηωσινόφιλων συστάδων αίματος με ακανόνιστα σχήματα και μεγέθη. Επιπλέον, είναι ζωτικής σημασίας η ενσωμάτωση συνεχών μέτρων στα εν λόγω συστήματα βαθμολόγησης, όπως το σύστημα Kleiner (βλ. Ενότητα 5.1.1), ώστε να διασφαλίζεται η ακριβής διαβάθμιση και να είναι δυνατή η έγκαιρη παρέμβαση με την κατάλληλη φαρμακευτική θεραπεία ή χειρουργική αντιμετώπιση.



Εικόνα 6.2. Σημασιολογική κατάτμηση ευρημάτων ενδιαφέροντος σε δείγμα βιοψίας NAFLD-NASH. Η διαδικασία ξεκινά με τον προσδιορισμό της περιοχής του ιστολογικού δείγματος (tissue region), ακολουθούμενη από τη δημιουργία μασκών κατάτμησης που οριοθετούν τις περιοχές φλεγμονής (inflammation), ηπατοκυτταρικής διόγκωσης (ballooning) και σταγονιδίων λίπους (fat).

Κατά τη διάρκεια της διδακτορικής έρευνας, ψηφιοποιήθηκε μια νέα συλλογή διαφανειών βιοψίας σε αντικειμενική μεγέθυνση 40× για τη διερεύνηση του καρκίνου του παχέος εντέρου (Colorectal Cancer - CRC), ο οποίος είναι ο δεύτερος πιο συχνός καρκίνος στις γυναίκες και ο τρίτος πιο συχνός στους άνδρες [162]. Η συχνότητα εμφάνισης του CRC προβλέπεται

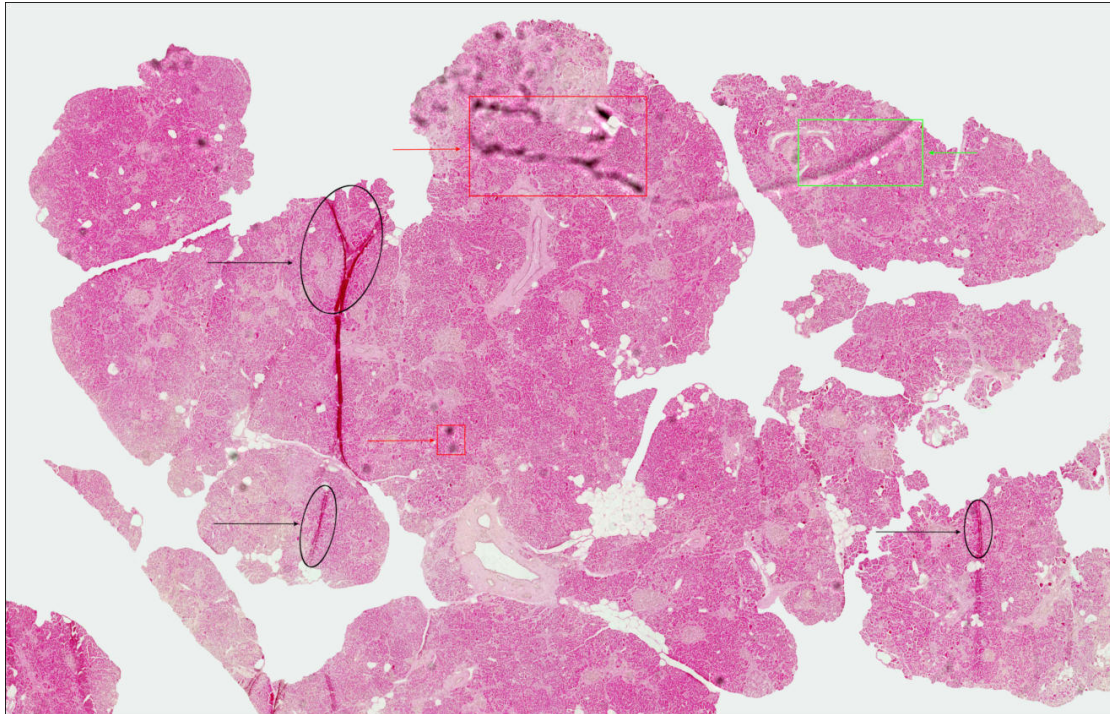
επίσης να αυξηθεί κατά 80% παγκοσμίως έως το 2035 [163]. Παρόμοια με το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα (RCC), το CRC περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα καρκινικών υποτύπων, καθένas από τους οποίους χαρακτηρίζεται από διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά και μοριακές αλλοιώσεις. Για την αντιμετώπιση αυτής της σύνθετης διαγνωστικής πρόκλησης, δημιουργήθηκε μια συνεργασία μεταξύ του Εργαστηρίου Αλληλεπίδρασης Ανθρώπου Υπολογιστή (HCILAB) και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με σκοπό την ανάπτυξη μοντέλων για τη σταδιοποίηση του CRC με βάση το “χρυσό πρότυπο” των εικόνων βιοψίας.

Ένα σημαντικό και πολύ ενδιαφέρον πεδίο εφαρμογής αποτελούν οι μέθοδοι μείωσης της διαφοράς κυματιδίων (Wavelet Difference Reduction - WDR) [164, 165], ιδίως για την επεξεργασία WSIs με υψηλούς συντελεστές μεγέθυνσης, όπως 40x, οι οποίες μπορούν να ξεπεράσουν τα 100.000 × 100.000 εικονοστοιχεία και να συμβάλλουν στην αποτελεσματική μείωση του χρόνου επεξεργασίας και στη διευκόλυνση των υπολογιστικών διαγνωστικών διαδικασιών. Αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούν μια σειρά βημάτων που περιλαμβάνουν την αποσύνθεση (decomposition), την κβαντοποίηση (quantization) και την ανακατασκευή (reconstruction). Καταγράφοντας τόσο τις συνιστώσες (bins) χαμηλής όσο και υψηλής συχνότητας, οι μέθοδοι WDR επιτυγχάνουν υψηλούς λόγους συμπίεσης, διατηρώντας παράλληλα τις βασικές πληροφορίες στις συνιστώσες χαμηλής συχνότητας, οι οποίες θεωρούνται πιο σημαντικές από πλευράς οπτικής αντίληψης. Αντιθέτως, οι συνιστώσες υψηλής συχνότητας, οι οποίες είναι λιγότερο σημαντικές, μπορούν να υποστούν υψηλότερο επίπεδο κβαντοποίησης και έτσι να συμβάλλουν στη συνολική συμπίεση των δεδομένων.

Οι εξελίξεις αυτές προετοιμάζουν το έδαφος για την εφαρμογή σύγχρονων μεθόδων βελτίωσης εικόνων, συμπεριλαμβανομένων τεχνικών επιδιόρθωσης αλλοιωμένων εικόνων (image inpainting) βασισμένων στα βαθιά παραγωγικά αντιπαραθετικά δίκτυα (Generative Adversarial Networks - GANs). Αυτές οι τεχνικές εφαρμόζουν διασταλμένες (dilated) και κλεισμένες (gated) συνελίξεις στα ενδιάμεσα επίπεδα των βαθέων αρχιτεκτονικών για να δημιουργήσουν τα εικονοστοιχεία που λείπουν σε μια εικόνα, εξασφαλίζοντας τη συνοχή και διατηρώντας τις τοπικές λεπτομερείς υφές [166]. Στο μέλλον, αυτό θα μπορούσε να βοηθήσει σημαντικά στην αφαίρεση θορυβωδών περιοχών σε ψηφιοποιημένα ιστολογικά δείγματα (Εικόνα 6.3), που προκαλούνται από τη χειροκίνητη προετοιμασία των πλακιδίων βιοψίας και τη διαδικασία ψηφιοποίησης.

Ενδιαφέρουν παρουσιάζουν επίσης οι οπτικοί μετασχηματιστές (Visual Transformers - ViTs) [167] σε εργασίες ταξινόμησης αντικειμένων. Συγκεκριμένα, μια αρχιτεκτονική ViT διαιρεί την εικόνα εισόδου σε επιθέματα σταθερού μεγέθους επιτρέποντας στο μοντέλο να παρακολουθεί διαφορετικά μέρη μιας σκηνής μέσω της μάθησης γραμμικών μετασχηματισμών (linear projections). Εφαρμόζοντας τον μηχανισμό αυτοπροσοχής (self attention), υπολογίζει τα βάρη προσοχής για κάθε επίθεμα εικόνας συγκρίνοντας τα χαρακτηριστικά

του με εκείνα άλλων επιθεμάτων εισόδου, αποτυπώνοντας αποτελεσματικά τις μεταξύ τους χωρικές συσχετίσεις. Οι έξοδοι προσοχής τροφοδοτούνται στη συνέχεια σε ένα νευρωνικό δίκτυο ανατροφοδότησης προς τα εμπρός (feed-forward) εντός του κωδικοποιητή μετασχηματιστή (transformer encoder), βελτιώνοντας την κατανόηση των χωρικών συσχετίσεων και επιτρέποντας τη σύλληψη αναπαραστάσεων εικόνας υψηλού επιπέδου.



Εικόνα 6.3. Δείγμα βιοψίας με θορυβώδη τεχνουργήματα εντός της ιστολογικής περιοχής, όπως μαύρες κηλίδες (κόκκινα πλαίσια) και ανεπιθύμητες γραμμές (κυκλικά και πράσινα πλαίσια). Αυτά τα τεχνουργήματα προκύπτουν από τη χειροκίνητη διαδικασία προετοιμασίας και ψηφιοποίησης της διαφάνειας βιοψίας και ενδέχεται να επικαλύπτουν εικονοστοιχεία ανατομικών δομών ενδιαφέροντος, προκαλώντας παρεμποδίσεις στην ακριβή διάκριση των ορίων τους.

Βιβλιογραφία

- [1] A. Arjmand, C. T. Angelis, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou, and N. Giannakeas. Deep learning in liver biopsies using convolutional neural networks. In *42nd International Conference on Telecommunications and Signal Processing (TSP)*, pages 496–499, 2019. doi: 10.1109/TSP.2019.8768837.
- [2] A. Arjmand, C. T. Angelis, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou, and N. Giannakeas. Training of deep convolutional neural networks to identify critical liver alterations in histopathology image samples. *Applied Sciences*, 10(1), 2019. doi: 10.3390/app10010042.
- [3] A. Arjmand, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, C. T. Angelis, G. Tsoumanis, E. Glavas, R. Forlano, P. Manousou, and N. Giannakeas. Transfer learning versus custom cnn architectures in nafld biopsy images. In *43rd International Conference on Telecommunications and Signal Processing (TSP)*, pages 480–483, 2020. doi: 10.1109/TSP49548.2020.9163489.
- [4] A. Arjmand, V. Christou, I. G. Tsoulos, M. G. Tsipouras, A. T. Tzallas, C. Gogos, E. Glavas, and N. Giannakeas. An evolutionary algorithm-based optimization method for the classification and quantification of steatosis prevalence in liver biopsy images. *Array*, 11, 2021. doi: 10.1016/j.array.2021.100078.
- [5] A. Arjmand, M. Pappas, O. Tsakai, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, R. Forlano, P. Manousou, R. Goldin, and E. Glavas et al. Automated quantification of pancreatic steatosis in biopsy images using a classification based system. In *6th South-East Europe Design Automation, Computer Engineering, Computer Networks and Social Media Conference (SEEDA-CECNSM)*, pages 1–5, 2021. doi: 10.1109/SEEDA-CECNSM53056.2021.9566280.
- [6] A. Arjmand, O. Tsakai, V. Christou, A. T. Tzallas, M. G. Tsipouras, R. Forlano, P. Manousou, R. D. Goldin, C. Gogos, and E. Glavas et al. Ensemble convolutional neural network classification for pancreatic steatosis assessment in biopsy images. *Information*, 13(4), 2022. doi: 10.3390/info13040160.

- [7] A. Arjmand, O. Tsakai, N. Giannakeas, M. G. Tsipouras, E. Glavas, C. Gogos, and A. T. Tzallas. A hybrid supervised learning method employing cnn-based feature extraction and hyperparameter optimization for renal cell carcinoma staging in biopsy images. *forthcoming*, 2023+.
- [8] P. Mazzoncini de Azevedo-Marques, A. Mencattini, M. Salmeri, and R. M. Rangayyan. *Medical Image Analysis and Informatics, Computer-aided Diagnosis and Therapy*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1st global edition, 2018. ISBN 978-1-4987-5319-7.
- [9] A. Arjmand, M. G. Tsipouras, A. T. Tzallas, R. Forlano, P. Manousou, and N. Giannakeas. Quantification of liver fibrosis—a comparative study. *Applied Sciences*, 10(2), 2020. doi: 10.3390/app10020447.
- [10] D. B. Murphy and M. W. Davidson. *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, USA, 2nd global edition, 2012. ISBN 9781118382905. doi: 10.1002/9781118382905.
- [11] L. Lu, Y. Zheng, G. Carneiro, and L. Yang. *Deep Learning and Convolutional Neural Networks for Medical Image Computing, Precision Medicine, High Performance and Large-scale Datasets*. Springer, Cham, Switzerland, 1st global edition, 2017. ISBN 978-3-319-42999-1. doi: 10.1007/978-3-319-42999-1.
- [12] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri. Nih image to imagej: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7):671–675, 2012. doi: 10.1038/nmeth.2089.
- [13] P. Bankhead, M. B. Loughrey, J. Fernandez, Y. Dombrowski, D. G. Mcart, P. D. Dunne, S. Mcquaid, R. T. Gray, L. J. Murray, and H. Coleman et al. Qupath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific Reports*, 7(1), 2017. doi: 10.1038/s41598-017-17204-5.
- [14] M. R. Lamprecht, D. M. Sabatini, and A. E. Carpenter. Cellprofiler™: Free, versatile software for automated biological image analysis”. *Biotechniques*, 42(1):71–75, 2018. doi: 10.2144/000112257.
- [15] C. Sommer, C. Straehle, U. Köthe, and F. A. Hamprecht. Ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. In *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, pages 230–233, 2011. doi: 10.1109/ISBI.2011.5872394.
- [16] A. M. Zaitoun, H. Al Mardini, S. Awad, S. Ukabam, S. Makadisi, and C. O. Record. Quantitative assessment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis c. *Journal of Clinical Pathology*, 54(6):461–465, 2001. doi: 10.1136/jcp.54.6.461.

- [17] H. Marsman, T. Matsushita, R. Dierkhising, W. Kremers, C. Rosen, L. Burgart, and S. Nyberg. Assessment of donor liver steatosis: Pathologist or automated software? *Human Pathology*, 35(4):430–435, 2004. doi: 10.1016/j.humpath.2003.10.029.
- [18] V. Roullier, C. Cavaro-Menard, C. Guillaume, and C. Aube. Fuzzy algorithms to extract vacuoles of steatosis on liver histological color images. In *29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pages 5575–5578, 2007. doi: 10.1109/IEMBS.2007.4353610.
- [19] A. M. El-Badry, S. Breitenstein, W. Jochum, M. Washington, V. Paradis, L. Rubbia-Brandt, M. A. Puhan, K. Slankamenac, R. Graf, and P. A. Clavien. Assessment of hepatic steatosis by expert pathologists: The end of a gold standard. *Annals of Surgery*, 250(5):691–697, 2009. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181bcd6dd.
- [20] G. E. Liquori, G. Calamita, D. Cascella, M. Mastrodonato, P. Portincasa, and D. Ferri. An innovative methodology for the automated morphometric and quantitative estimation of liver steatosis. *Histology and Histopathology*, 24(1):49–60, 2009. doi: 10.14670/HH-24.49.
- [21] B. Turlin, G. Ramm, D. M. Purdie, F. Lainé, M. Perrin, Y. Deugnier, and G. A. Macdonald. Assessment of hepatic steatosis: Comparison of quantitative and semiquantitative methods in 108 liver biopsies. *Liver International*, 29(4):530–535, 2009. doi: 10.1111/j.1478-3231.2008.01874.x.
- [22] J. Kong, M. J. Lee, P. Bagci, P. Sharma, D. Martin, N. V. Adsay, J. Saltz, and A. B. Farris. Computer-based image analysis of liver steatosis with large-scale microscopy imagery and correlation with magnetic resonance imaging lipid analysis. In *IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, pages 333–338, 2011. doi: 10.1109/BIBM.2011.37.
- [23] N. Batool. Detection and spatial analysis of hepatic steatosis in histopathology images using sparse linear models. In *6th International Conference on Image Processing Theory, Tools and Applications (IPTA)*, 2016. doi: 10.1109/IPTA.2016.7820969.
- [24] L. O. Schwen, A. Homeyer, M. Schwier, U. Dahmen, O. Dirsch, A. Schenk, L. Kuepfer, T. Preusser, and A. Schenk. Zonated quantification of steatosis in an entire mouse liver. *Computers in Biology and Medicine*, 73:108–118, 2016. doi: 10.1016/j.compbiomed.2016.04.004.
- [25] A. R. Hall, C. Covelli, R. Manuguerra, T. V. Luong, E. Buzzetti, E. A. Tsochatzis, M. Pinzani, and A. Dhillon. Transaminase abnormalities and adaptations of the

- liver lobule manifest at specific cut-offs of steatosis. *Scientific Reports*, 7, 2017. doi: 10.1038/srep40977.
- [26] M. Tsiplakidou, M. G. Tsipouras, N. Giannakeas, A. T. Tzallas, and P. Manousou. Automated detection of liver histopathological findings based on biopsy image processing. *Information*, 8(1), 2017. doi: 10.3390/info8010036.
- [27] M. Roy, F. Wang, G. Teodoro, M. B. Vos, A. B. Farris, and J. Kong. Segmentation of overlapped steatosis in whole-slide liver histopathology microscopy images. In *40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pages 810–813, 2018. doi: 10.1109/EMBC.2018.8512289.
- [28] F. Segovia-Miranda, H. A. Morales-Navarrete, M. Kücken, V. Moser, S. Seifert, U. Repnik, F. Rost, A. Hendriks, S. Hinz, and C. Röcken et al. 3d spatially-resolved geometrical and functional models of human liver tissue reveal new aspects of nafld progression. *bioRxiv*, 2019. doi: 10.1101/572073.
- [29] J. Esparza, U. Shrestha, D. E. Kleiner, J. M. Crawford, J. Vanatta, S. Satapathy, and A. Tipirneni-Sajja. Automated segmentation and morphological characterization of hepatic steatosis and correlation with histopathology. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 2022. doi: 10.1016/j.jceh.2022.12.003.
- [30] K. Xu, S. Raigani, A. Shih, S. G. Baptista, I. Rosales, N. M. Parry, S. G. Shroff, J. Misdraji, K. Uygun, and H. Yeh et al. A novel digital algorithm for identifying liver steatosis using smartphone-captured images. *Transplantation Direct*, 8(9), 2022. doi: 10.1097/TXD.0000000000001361.
- [31] N. I. Nativ, A. I. Chen, G. Yarmush, S. D. Henry, J. H. Lefkowitz, K. M. Klein, T. J. Maguire, R. Schloss, J. Guarrera, and F. Berthiaume et al. Automated image analysis method for detecting and quantifying macrovesicular steatosis in hematoxylin and eosin-stained histology images of human livers. *Liver Transplantation*, 20(2):228–236, 2014. doi: 10.1002/lt.23782.
- [32] P. Sumitpaibul, A. Damrongphithakkul, and U. Watchareeruetai. Fat detection algorithm for liver biopsy images. In *International Electrical Engineering Congress (iEECON)*, pages 1–4, 2014. doi: 10.1109/iEECON.2014.6925850.
- [33] A. Homeyer, A. Schenk, J. Arlt, U. Dahmen, O. Dirsch, and H. K. Hahn. Fast and accurate identification of fat droplets in histological images. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 121(2):59–65, 2015. doi: 10.1016/j.cmpb.2015.05.009.
- [34] M. Sciarabba, M. Vertemati, C. Moscheni, M. Cossa, and L. Vizzotto. Automated lipid droplets recognition in human steatotic liver: Some preliminary results.

In *Medical Image Understanding and Analysis Conference (MIUA)*, pages 20–24, 2015.

- [35] P. Shi, J. Chen, J. Lin, and L. Zhang. High-throughput fat quantifications of hematoxylin-eosin stained liver histopathological images based on pixel-wise clustering. *Science China Information Sciences*, 60(9), 2017. doi: 10.1007/s11432-016-9018-7.
- [36] I. Munsterman, M. van Erp, G. Weijers, C. Bronkhorst, C. de Korte, J. P. H. Drenth, J. A. van der Laak, and E. T. T. L. Tjwa. A novel automatic digital algorithm that accurately quantifies steatosis in nafld on histopathological whole-slide images. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 96(6):521–528, 2019. doi: 10.1002/cyto.b.21790.
- [37] E. J. Arista-Romeu, J. D. Rivera Fernández, K. Roa Tort, A. Valor, G. Escobedo, D. A. Fabila Bustos, S. Stolik, J. M. de la Rosa, and C. Guzmán. Combined methods of optical spectroscopy and artificial intelligence in the assessment of experimentally induced non-alcoholic fatty liver. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 198, 2021. doi: 10.1016/j.cmpb.2020.105777.
- [38] S. Vanderbeck, J. Bockhorst, R. Komorowski, D. E. Kleiner, and S. Gawrieh. Automatic classification of white regions in liver biopsies by supervised machine learning. *Human Pathology*, 45(4):785–792, 2014. doi: 10.1016/j.humpath.2013.11.011.
- [39] S. Vanderbeck, J. Bockhorst, D. Kleiner, R. Komorowski, N. Chalasani, and S. Gawrieh. Automatic quantification of lobular inflammation and hepatocyte ballooning in nafld liver biopsies. *Human Pathology*, 46(5):767–775, 2015. doi: 10.1016/j.humpath.2015.01.019.
- [40] M. Ishikawa, Y. Murakami, S. T. Ahi, M. Yamaguchi, N. Kobayashi, T. Kiyuna, Y. Yamashita, A. Saito, T. Abe, and A. Hashiguchi et al. Automatic quantification of morphological features for hepatic trabeculae analysis in stained liver specimens. *Journal of Medical Imaging*, 3(2), 2016. doi: 10.1117/1.JMI.3.2.027502.
- [41] N. Giannakeas, M. Tsipouras, A. T. Tzallas, M. G. Vavva, M. Tsimplakidou, E. Karvounis, R. Forlano, and P. Manousou. Measuring steatosis in liver biopsies using machine learning and morphological imaging. In *30th IEEE International Symposium on Computer-based Medical Systems (CBMS)*, pages 40–44, 2017. doi: 10.1109/CBMS.2017.98.

- [42] A. Arjmand and N. Giannakeas. Fat quantitation in liver biopsies using a pre-trained classification based system. *Engineering, Technology & Applied Science Research*, 8(6):3550–3555, 2018. doi: 10.48084/etasr.2274.
- [43] D. Sethunath, S. Morusu, M. Tuceryan, O. Cummings, H. Zhang, X. M. Yin, S. Vanderbeck, N. Chalasani, and S. Gawrieh. Automated assessment of steatosis in murine fatty liver. *PLOS ONE*, 13(5), 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0197242.
- [44] R. Forlano, B. Mullish, N. Giannakeas, J. B. Maurice, N. Angkathunyakul, J. Lloyd, A. T. Tzallas, M. Tsipouras, M. Yee, and M. Thursz et al. High-throughput, machine learning-based quantification of steatosis, inflammation, ballooning, and fibrosis in biopsies from patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 18(9):2081–2090, 2019. doi: 10.1016/j.cgh.2019.12.025.
- [45] F. Liu, G. B. B. Goh, D. G. Tiniakos, A. Wee, W. Q. Leow, J. M. Zhao, H. Y. Rao, X. X. Wang, Q. Wang, and W. K. Wan et al. qfibs: An automated technique for quantitative evaluation of fibrosis, inflammation, ballooning, and steatosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 71(6):1953–1966, 2019. doi: 10.1002/hep.30986.
- [46] T. Teramoto, T. Shinohara, and A. Takiyama. Computer-aided classification of hepatocellular ballooning in liver biopsies from patients with nash using persistent homology. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 195, 2020. doi: 10.1016/j.cmpb.2020.105614.
- [47] E. M. Brunt, A. D. Clouston, Z. Goodman, C. Guy, D. E. Kleiner, C. Lackner, D. G. Tiniakos, A. Wee, M. Yeh, and W. Q. Leow et al. Complexity of ballooned hepatocyte feature recognition: Defining a training atlas for artificial intelligence-based imaging in nafld. *Journal of Hepatology*, 76(5):1030–1041, 2022. doi: 10.1016/j.jhep.2022.01.011.
- [48] C. Vicas, I. Rusu, N. Al Hajjar, and M. Lupsor Platon. Deep convolutional neural nets for objective steatosis detection from liver samples. In *13th IEEE International Conference on Intelligent Computer Communication and Processing (ICCP)*, pages 385–390, 2017. doi: 10.1109/ICCP.2017.8117035.
- [49] X. Guo, F. Wang, G. Teodoro, A. Farris, and J. Kong. Liver steatosis segmentation with deep learning methods. In *16th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*, pages 24–27, 2019. doi: 10.1109/ISBI.2019.8759600.

- [50] F. Yang, X. Jia, P. Lei, Y. He, Y. Xiang, J. Jiao, S. Zhou, W. Qian, and Q. Duan. Quantification of hepatic steatosis in histologic images by deep learning method. *Journal of X-ray Science and Technology*, 27(3):1–13, 2019. doi: 10.3233/XST-190570.
- [51] M. Salvi, L. Molinaro, J. Metovic, D. Patrono, R. Romagnoli, M. Papotti, and F. Molinari. Fully automated quantitative assessment of hepatic steatosis in liver transplants. *Computers in Biology and Medicine*, 123, 2020. doi: 10.1016/j.compbiomed.2020.103836.
- [52] L. Sun, J. N. Marsh, M. K. Matlock, L. Chen, J. P. Gaut, E. M. Brunt, S. J. Swamidass, and T. C. Liu. Deep learning quantification of percent steatosis in donor liver biopsy frozen sections. *EBioMedicine*, 60, 2020. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103029.
- [53] H. Qu, C. Minacapelli, C. Tait, K. Gupta, A. Bhurwal, C. Catalano, R. Dafalla, D. Metaxas, and V. Rustgi. Training of computational algorithms to predict nafd activity score and fibrosis stage from liver histopathology slides. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 207, 2021. doi: 10.1016/j.cmpb.2021.106153.
- [54] A. Taylor-Weiner, H. Pokkalla, L. Han, C. Jia, R. Huss, C. Chung, H. Elliott, B. Glass, K. Pethia, and O. Carrasco-Zevallos et al. A machine learning approach enables quantitative measurement of liver histology and disease monitoring in nash. *Hepatology*, 74(1):133–147, 2021. doi: 10.1002/hep.31750.
- [55] F. Heinemann, P. Gross, S. Zeveleva, H. S. Qian, J. Hill, A. Klingbeil, D. Jonigk, A. M. Diehl, M. Abdelmalek, and M. C. Lenter et al. Deep learning-based quantification of nafd/nash progression in human liver biopsies. *Scientific Reports*, 12(1), 2022. doi: 10.1038/s41598-022-23905-3.
- [56] C. Yin, S. Liu, V. W. S. Wong, and P. C. Yuen. Learning sparse interpretable features for nas scoring from liver biopsy images. In *31st International Joint Conference on Artificial Intelligence (IJCAI)*, pages 1580–1586, 2022. doi: 10.24963/ijcai.2022/220.
- [57] T. S. Olsen. Lipomatosis of the pancreas in autopsy material and its relation to age and overweight. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavia*, 86A(5):367–373, 1978. doi: 10.1111/j.1699-0463.1978.tb02058.x.
- [58] J. S. Wilson, P. W. Colley, L. Sosula, R. C. Pirola, B. A. Chapman, and J. B. Somer. Alcohol causes a fatty pancreas. a rat model of ethanol-induced pancreatic steatosis. *Alcoholic, Clinical and Experimental Research*, 6(1):117–121, 1982. doi: 10.1111/j.1530-0277.1982.tb05389.x.

- [59] D. D. Nghiem, P. R. Olson, and D. Ormond. The “fatty pancreas allograft”: Anatomopathologic findings and clinical experience. *Transplantation Proceedings*, 36(4):1045–1047, 2004. doi: 10.1016/j.transproceed.2004.04.032.
- [60] A. Mathur, H. A. Pitt, M. B. Marine, R. Saxena, C. M. Schmidt, T. J. Howard, A. Nakeeb, N. J. Zyromski, and K. D. Lillemoe. Fatty pancreas: A factor in postoperative pancreatic fistula. *Annals of Surgery*, 246(6):1058–1064, 2007. doi: 10.1097/SLA.0b013e31814a6906.
- [61] A. Mathur, N. J. Zyromski, H. A. Pitt, H. Al-Azzawi, J. J. Walker, R. Saxena, and K. D. Lillemoe. Pancreatic steatosis promotes dissemination and lethality of pancreatic cancer. *Journal of the American College of Surgeons*, 208(5):989–994, 2009. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.026.
- [62] K. Pinnick, S. Collins, C. Londos, D. Gauguier, A. Clark, and B. A. Fielding. Pancreatic ectopic fat is characterized by adipocyte infiltration and altered lipid composition. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 16(3):522–30, 2008. doi: 10.1038/oby.2007.110.
- [63] E. Rosso, S. Casnedi, P. Pessaux, E. Oussoultzoglou, F. Panaro, M. Mahfud, D. Jaeck, and P. Bachellier. The role of “fatty pancreas” and of bmi in the occurrence of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 13(10):1845–1851, 2009. doi: 10.1007/s11605-009-0974-8.
- [64] J. C. Fraulob, R. Ogg-Diamantino, C. Fernandes-Santos, M. Barbosa Aguila, and C. A. Mandarin de Lacerda. A mouse model of metabolic syndrome: Insulin resistance, fatty liver and non-alcoholic fatty pancreas disease (nafpd) in c57bl/6 mice fed a high fat diet. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 46(3):212–223, 2010. doi: 10.3164/jcbtn.09-83.
- [65] S. Gaujoux, A. Cortes, A. Couvelard, S. Noullet, L. Clavel, V. Rebours, P. Lévy, A. Sauvanet, P. Ruszniewski, and J. Belghiti. Fatty pancreas and increased body mass index are risk factors of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Surgery*, 148(1):15–23, 2010. doi: 10.1016/j.surg.2009.12.005.
- [66] E. J. M. van Geenen, M. M. Smits, T. C. A. M. Schreuder, D. L. van der Peet, E. Bloemena, and C. J. J. Mulder. Nonalcoholic fatty liver disease is related to nonalcoholic fatty pancreas disease. *Pancreas*, 39(8):1185–1190, 2010. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181f6fce2.

- [67] D. A. Barrière, C. Noll, G. Roussy, F. Lizotte, A. Kessai, K. Kirby, K. Belleville, N. Beaudet, J. M. Longpré, and A. C. Carpentier et al. Combination of high-fat/high-fructose diet and low-dose streptozotocin to model long-term type-2 diabetes complications. *Scientific Reports*, 8(1), 2018. doi: 10.1038/s41598-017-18896-5.
- [68] B. Sokmen, T. Sahin, A. Oral, E. Kocak, and N. Inan. The comparison of pancreatic and hepatic steatosis in healthy liver donor candidates. *Scientific Reports*, 11(1), 2021. doi: 10.1038/s41598-021-83871-0.
- [69] R. Naik, A. Rajan, and N. Kalita. Automated image analysis method to detect and quantify fat cell infiltration in hematoxylin and eosin stained human pancreas histology images. *bioRxiv*, 2022. doi: 10.1101/2021.12.13.472341v2.
- [70] S. Waheed, R. A. Moffitt, Q. Chaudry, A. N. Young, and M. D. Wang. Computer aided histopathological classification of cancer subtypes. In *7th IEEE International Symposium on BioInformatics and BioEngineering (BIBE)*, pages 503–508, 2007. doi: 10.1109/BIBE.2007.4375608.
- [71] Q. Chaudry, S. H. Raza, A. N. Young, and M. D. Wang. Automated renal cell carcinoma subtype classification using morphological, textural and wavelets based features. *Journal of Signal Processing Systems*, 55(1):15–23, 2009. doi: 10.1007/s11265-008-0214-6.
- [72] Q. Chaudry, S. H. Raza, Y. Sharma, A. N. Young, and M. D. Wang. Improving renal cell carcinoma classification by automatic region of interest selection. In *8th IEEE International Symposium on Bioinformatics and Bioengineering (BIBE)*, 2008. doi: 10.1109/BIBE.2008.4696796.
- [73] M. Kruk, J. Kurek, S. Osowski, R. Koktyisz, B. Swiderski, and T. Markiewicz. Ensemble of classifiers and wavelet transformation for improved recognition of furman grading in clear-cell renal carcinoma. *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, 37(3):357–364, 2017. doi: 10.1016/j.bbe.2017.04.005.
- [74] D. A. Holdbrook, M. Singh, Y. Choudhury, E. M. Kalaw, V. Koh, H. S. Tan, R. Kanesvaran, P. H. Tan, J. Y. S. Peng, and M. H. Tan et al. Automated renal cancer grading using nuclear pleomorphic patterns. *JCO Clinical Cancer Informatics*, 2(2):1–12, 2018. doi: 10.1200/CCI.17.00100.
- [75] K. Tian, C. A. Rubadue, D. I. Lin, M. Veta, M. E. Pyle, H. Irshad, and Y. J. Heng. Automated clear cell renal carcinoma grade classification with prognostic significance. *PLOS ONE*, 14(10), 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0222641.

- [76] C. He, X. Wu, J. Zhou, Y. Chen, and J. Ye. Raman optical identification of renal cell carcinoma via machine learning. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 252, 2021. doi: 10.1016/j.saa.2021.119520.
- [77] J. Song, L. Xiao, and Z. Lian. Contour-seed pairs learning-based framework for simultaneously detecting and segmenting various overlapping cells/nuclei in microscopy images. *IEEE Transactions on Image Processing*, 2018. doi: 10.1109/TIP.2018.2857001.
- [78] S. Tabibu, P. K. Vinod, and C. Jawahar. Pan-renal cell carcinoma classification and survival prediction from histopathology images using deep learning. *Scientific Reports*, 9(1), 2019. doi: 10.1038/s41598-019-46718-3.
- [79] M. Fenstermaker, S. A. Tomlins, K. Singh, J. Wiens, and T. Morgan. Development and validation of a deep-learning model to assist with renal cell carcinoma histopathologic interpretation. *Urology*, 144:152–157, 2020. doi: 10.1016/j.urology.2020.05.094.
- [80] M. Y. Lu, D. F. K. Williamson, T. Y. Chen, R. Chen, M. Barbieri, and F. Mahmood. Data-efficient and weakly supervised computational pathology on whole-slide images. *Nature Biomedical Engineering*, 5(6):1–16, 2021. doi: 10.1038/s41551-020-00682-w.
- [81] A. Safarpour, S. Shafiei, R. Gonzalez, A. V. Parwani, and H. R. Tizhoosh. Renal cell carcinoma whole-slide image classification and search using deep learning. *Research Square*, 2021. doi: 10.21203/rs.3.rs-971708/v1.
- [82] M. Zhu, B. Ren, R. Richards, M. Suriawinata, N. Tomita, and S. Hassanpour. Development and evaluation of a deep neural network for histologic classification of renal cell carcinoma on biopsy and surgical resection slides. *Scientific Reports*, 11(1), 2021. doi: 10.1038/s41598-021-86540-4.
- [83] A. A. Bidgoli, S. Rahnamayan, T. Dehkharghanian, A. Riasatian, S. Kalra, M. Zaveri, C. J. V. Campbell, A. Parwani, L. Pantanowitz, and H. R. Tizhoosh. Evolutionary deep feature selection for compact representation of gigapixel images in digital pathology. *Artificial Intelligence in Medicine*, 132, 2022. doi: 10.1016/j.artmed.2022.102368.
- [84] J. DiPalma, A. A. Suriawinata, L. J. Tafe, L. Torresani, and S. Hassanpour. Resolution-based distillation for efficient histology image classification. *Artificial Intelligence in Medicine*, 119, 2021. doi: 10.1016/j.artmed.2021.102136.

- [85] Y. A. Haeyeh, M. Ghazal, A. El-Baz, and I. M. Talaat. Development and evaluation of a novel deep-learning-based framework for the classification of renal histopathology images. *Bioengineering*, 9(9), 2022. doi: 10.3390/bioengineering9090423.
- [86] M. U. Nasir, M. Zubair, T. M. Ghazal, M. F. Khan, M. Ahmad, A. Rahman, H. Al Hamadi, M. A. Khan, and W. Mansoor. Kidney cancer prediction empowered with blockchain security using transfer learning. *Sensors*, 22(19), 2022. doi: 10.3390/s22197483.
- [87] M. U. Oner, J. Chen, E. Revkov, A. James, S. Y. Heng, N. Kaya, J. J. S. Alvarez, A. Takano, X. M. Cheng, and T. K. H. Lim et al. Obtaining spatially resolved tumor purity maps using deep multiple instance learning in a pan-cancer study. *Patterns*, 3(2), 2022. doi: 10.1016/j.patter.2021.100399.
- [88] X. Wang, S. Yang, J. Zhang, M. Wang, J. Zhang, W. Yang, J. Huang, and X. Han. Transformer-based unsupervised contrastive learning for histopathological image classification. *Medical Image Analysis*, 81, 2022. doi: 10.1016/j.media.2022.102559.
- [89] M. E. Rinella. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. *JAMA*, 313(22):2263–2273, 2015. doi: 10.1001/jama.2015.5370.
- [90] A. A. Kolodziejczyk, D. Zheng, O. Shibolet, and E. Elinav. The role of the microbiome in nafld and nash. *EMBO Molecular Medicine*, 11(2), 2019. doi: 10.15252/emmm.201809302.
- [91] M. Arrese, D. Cabrera, A. M. Kalergis, and A. E. Feldstein. Innate immunity and inflammation in nafld/nash. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(5):1294–1303, 2016. doi: 10.1007/s10620-016-4049-x.
- [92] P. Angulo, D. E. Kleiner, S. Dam-Larsen, L. A. Adams, E. Björnsson, P. Charatcharoenwitthaya, P. R. Mills, J. C. Keach, H. Lafferty, and A. Stahler et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 149(2):389–397, 2015. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.043.
- [93] Y. Sumida and M. Yoneda. Current and future pharmacological therapies for nafld/nash. *Journal of Gastroenterology*, 53(3):362–376, 2018. doi: 10.1007/s00535-017-1415-1.
- [94] G. Germani, M. Laryea, L. Rubbia-Brandt, H. Egawa, P. Burra, J. O’Grady, and K. D. Watt. Management of recurrent and de novo nafld/nash after liver transplantation. *Transplantation*, 103(1):57–67, 2019. doi: 10.1097/TP.0000000000002485.

- [95] N. Chalasani, Z. Younossi, J. E. Lavine, M. Charlton, K. Cusi, M. Rinella, S. A. Harrison, E. M. Brunt, and A. J. Sanyal. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the american association for the study of liver diseases. *Hepatology*, 67(1):328–357, 2018. doi: 10.1002/hep.29367.
- [96] Z. M. Younossi, M. Stepanova, N. Rafiq, L. Henry, R. Loomba, H. Makhoul, and Z. Goodman. Nonalcoholic steatofibrosis independently predicts mortality in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology Communications*, 1(5):421–428, 2017. doi: 10.1002/hep4.1054.
- [97] R. Ramkissoon and T. B. Gardner. Pancreatic steatosis: An emerging clinical entity. *The American Journal of Gastroenterology*, 114(11):1726–1734, 2019. doi: 10.14309/ajg.000000000000262.
- [98] J. Paul and A. V. H. Shihaz. Pancreatic steatosis: A new diagnosis and therapeutic challenge in gastroenterology. *Arquivos de Gastroenterologia*, 57(2):216–220, 2020. doi: 10.1590/s0004-2803.202000000-27.
- [99] R. Catanzaro, B. Cuffari, A. Italia, and F. Marotta. Exploring the metabolic syndrome: Nonalcoholic fatty pancreas disease. *World Journal of Gastroenterology*, 22(34):7660–7675, 2016. doi: 10.3748/wjg.v22.i34.7660.
- [100] V. Prachayakul and P. Aswakul. Pancreatic steatosis: What should gastroenterologists know? *Journal of the Pancreas*, 16(3):227–231, 2015. doi: 10.6092/1590-8577/2987.
- [101] P. Díte, M. Blaho, M. Bojková, P. Jabandžiev, and L. Kunovsky. Nonalcoholic fatty pancreas disease: Clinical consequences. *Digestive Diseases*, 38(2):143–149, 2020. doi: 10.1159/000505366.
- [102] V. Guglielmi and P. Sbraccia. Type 2 diabetes: Does pancreatic fat really matter? *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 34(2), 2017. doi: 10.1002/dmrr.2955.
- [103] R. Lightwood and H. A. Reber L. W. Way. The risk and accuracy of pancreatic biopsy. *The American Journal of Surgery*, 132(2):189–194, 1976. doi: 10.1016/0002-9610(76)90046-5.
- [104] M. A. Perazella, R. Dreicer, and M. H. Rosner. Renal cell carcinoma for the nephrologist. *Kidney International*, 94(3):471–483, 2018. doi: 10.1016/j.kint.2018.01.023.
- [105] J. J. Hsieh, M. P. Purdue, S. Signoretti, C. Swanton, L. Albiges, M. Schmidinger, D. Y. Heng, J. Larkin, and V. Ficarra. Renal cell carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 2017. doi: 10.1038/nrdp.2017.9.

- [106] C. S. Ng, C. G. Wood, P. M. Silverman, N. M. Tannir, P. Tamboli, and C. M. Sandler. Renal cell carcinoma: Diagnosis, staging, and surveillance. *American Journal of Roentgenology*, 191(4):1220–1232, 2008. doi: 10.2214/AJR.07.3568.
- [107] R. C. Gonzalez and R. E. Woods. *Digital Image Processing*. Pearson, New York, NY, USA, 4th global edition, 2017. ISBN 978-1-292-22304-9.
- [108] D. Liu and J. Yu. Otsu method and k-means. In *9th International Conference on Hybrid Intelligent Systems (HIS)*, pages 344–349, 2009. doi: 10.1109/HIS.2009.74.
- [109] S. T. Acton. Diffusion partial differential equations for edge detection. In *The Essential Guide to Image Processing*, pages 525–552, 2009. doi: 10.1016/B978-0-12-374457-9.00020-2.
- [110] B. Jähne. *Digital Image Processing*. Springer, Berlin Heidelberg, Germany, 5th global edition, 2002. ISBN 3-540-67754-2. doi: 10.1007/978-3-662-04781-1.
- [111] D. Bradley and G. Roth. Adaptive thresholding using the integral image. *Journal of Graphics GPU and Game Tools*, 12(2):13–21, 2007. doi: 10.1080/2151237X.2007.10129236.
- [112] J. B. MacQueen. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. In *5th Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*, volume 1, pages 281–297, 1967.
- [113] I. G. Tsoulos, A. Tzallas, and D. Tsalikakis. Nnc: A tool based on grammatical evolution for data classification and differential equation solving. *SoftwareX*, 10, 2019. doi: 10.1016/j.softx.2019.100297.
- [114] J. Brownlee. *Clever Algorithms: Nature-inspired Programming Recipes*. Lulu.com, 1st global edition, 2011. ISBN 978-1-4467-8506-5. doi: 10.5555/1983645.
- [115] M. O’Neill and C. Ryan. Grammatical evolution. *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, 5(4):349–358, 2001. doi: 10.1109/4235.942529.
- [116] D. McCracken and E. Reilly. Backus-naur form (bnf). *Encyclopedia of Computer Science*, pages 129–131, 2003.
- [117] A. Géron. *Hands-on Machine Learning with Scikit-Learn and TensorFlow : Concepts, Tools, and Techniques to Build Intelligent Systems*. O’Reilly Media, Sebastopol, CA, USA, 1st global edition, 2017. ISBN 978-1491962299.
- [118] S. K. Zhou, H. Greenspan, and D. Shen. *Deep Learning for Medical Image Analysis*. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands, 1st global edition, 2017. ISBN 9780128104088.

- [119] J. Patterson and A. Gibson. *Deep Learning: A Practitioner's Approach*. O'Reilly Media, Sebastopol, CA, USA, 1st global edition, 2017. ISBN 978-1-4919-1425-0.
- [120] G. E. Hinton, N. Srivastava, A. Krizhevsky, I. Sutskever, and R. R. Salakhutdinov. Improving neural networks by preventing co-adaptation of feature detectors. *arXiv*, 2012. doi: arXiv:1207.0580.
- [121] M. V. Hernández and V. González-Castro. Communications in computer and information science. In *21st Annual Conference on Medical Image Understanding and Analysis (MIUA)*, volume 723, pages 11–13, 2017. doi: 10.1007/978-3-319-60964-5.
- [122] D. Kingma and J. Ba. Adam: A method for stochastic optimization. In *3rd International Conference on Learning Representations (ICLR)*, 2015.
- [123] I. Goodfellow, Y. Bengio, and A. Courville. *Deep Learning*. The MIT Press, Cambridge, MA, USA, 2016. ISBN 978-0-262-03561-3.
- [124] A. C. Wilson, R. Roelofs, M. Stern, N. Srebro, and B. Recht. The marginal value of adaptive gradient methods in machine learning. *arXiv*, 2017. doi: arXiv:1705.08292.
- [125] N. Keskar and R. Socher. Improving generalization performance by switching from adam to sgd. *arXiv*, 2017. doi: arXiv:1712.07628.
- [126] K. Potter. Methods for presenting statistical information: The box plot. *GI-Edition Lecture Notes in Informatics*, 4:97–106, 2006.
- [127] A. Krizhevsky, I. Sutskever, and G. Hinton. Imagenet classification with deep convolutional neural networks. *Neural Information Processing Systems*, 25(2), 2012. doi: 10.1145/3065386.
- [128] K. Simonyan and A. Zisserman. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition. *arXiv*, 2014. doi: arXiv:1409.1556.
- [129] F. Chollet. *Deep Learning with Python*. Manning, Greenwich, CT, USA, 1st global edition, 2017. ISBN 978-1-61729-443-3.
- [130] K. K. L. B. Adikaram, M. A. Hussein, M. Effenberger, and T. Becker. Data transformation technique to improve the outlier detection power of grubbs' test for data expected to follow linear relation. *Journal of Applied Mathematics*, 2015, 2015. doi: 10.1155/2015/708948.
- [131] H. Han, W. Y. Wang, and B. H. Mao. Borderline-smote: A new over-sampling method in imbalanced data sets learning. *Lecture Notes in Computer Science*, 3644(5):878–887, 2005. doi: 10.1007/11538059_91.

- [132] D. Gómez and A. Rojas. An empirical overview of the no free lunch theorem and its effect on real-world machine learning classification. *Neural Computation*, 28(1): 1–13, 2015. doi: 10.1162/NECO_a_00793.
- [133] K. He, X. Zhang, S. Ren, and J. Sun. Deep residual learning for image recognition. In *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 770–778, 2016. doi: 10.1109/CVPR.2016.90.
- [134] I. Unal. Defining an optimal cut-point value in roc analysis: An alternative approach. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2017(4):1–14, 2017. doi: 10.1155/2017/3762651.
- [135] C. M. Bishop. *Pattern Recognition and Machine Learning (Information Science and Statistics)*. Springer-Verlag, New York, NY, USA, 1st global edition, 2006. ISBN 978-1-4939-3843-8.
- [136] R. R. Selvaraju, M. Cogswell, A. Das, R. Vedantam, D. Parikh, and D. Batra. Grad-cam: Visual explanations from deep networks via gradient-based localization. In *IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*, pages 618–626, 2017. doi: 10.1109/ICCV.2017.74.
- [137] M. T. Ribeiro, S. Singh, and C. Guestrin. “why should i trust you?”: Explaining the predictions of any classifier. In *Conference of the North American Chapter of the Association for Computational Linguistics: Demonstrations*, pages 97–101, 2016. doi: 10.18653/v1/N16-3020.
- [138] B. Efron, T. Hastie, I. Johnstone, and R. Tibshirani. Least angle regression. *The Annals of Statistics*, 32(2):407–499, 2004. doi: 10.1214/009053604000000067.
- [139] R. R. Shamir, Y. Duchin, J. Kim, G. Sapiro, and N. Harel. Continuous dice coefficient: A method for evaluating probabilistic segmentations. *arXiv*, 2018. doi: arXiv:1906.11031.
- [140] S. S. Salehi, D. Erdogmus, and A. Gholipour. Tversky loss function for image segmentation using 3d fully convolutional deep networks. In *International Workshop on Machine Learning in Medical Imaging (MLMI)*, pages 379–387, 2017. doi: 10.1007/978-3-319-67389-9_44.
- [141] C. Szegedy, W. Liu, Y. Jia, P. Sermanet, S. Reed, D. Anguelov, D. Erhan, V. Vanhoucke, and A. Rabinovich. Going deeper with convolutions. In *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 1–9, 2015. doi: 10.1109/CVPR.2015.7298594.

- [142] C. Szegedy, V. Vanhoucke, S. Ioffe, J. Shlens, and ZB Wojna. Rethinking the inception architecture for computer vision. In *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 2818–2826, 2016. doi: 10.1109/CVPR.2016.308.
- [143] K. N. Gibson-Corley, A. K. Olivier, and D. K. Meyerholz. Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology*, 50(6):1007–1015, 2013. doi: 10.1177/0300985813485099.
- [144] D. K. Meyerholz and A. P. Beck. Fundamental concepts for semiquantitative tissue scoring in translational research. *ILAR journal*, 59(5):13–17, 2019. doi: 10.1093/ilar/ily025.
- [145] D. E. Kleiner, E. M. Brunt, M. Van Natta, C. Behling, M. J. Contos, O. W. Cummings, L. D. Ferrell, Y. C. Liu, M. S. Torbenson, and A. Unalp-Arida et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41(6):1313–1321, 2005. doi: 10.1002/hep.20701.
- [146] K. Ishak, A. Baptista, L. Bianchi, F. Callea, J. De Groote, F. Gudat, H. Denk, V. Desmet, G. Korb, and R. N.M. MacSween et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*, 22(6):696–699, 1995. doi: 10.1016/0168-8278(95)80226-6.
- [147] R. G. Knodell, K. G. Ishak, W. C. Black, T. S. Chen, R. Craig, N. Kaplowitz, T. W. Kiernan, and J. Wollman. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, 1(5):431–435, 1981. doi: 10.1002/hep.1840010511.
- [148] P. Bedossa and T. Poynard. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis c. *Hepatology*, 24(2):289–293, 1996. doi: 10.1002/hep.510240201.
- [149] S. A. Fuhrman, L. C. Lasky, and C. Limas. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 6(7):655–664, 1982. doi: 10.1097/00000478-198210000-00007.
- [150] G. Novara, G. Martignoni, W. Artibani, and V. Ficarra. Grading systems in renal cell carcinoma. *The Journal of Urology*, 177(2):430–436, 2007. doi: 10.1016/j.juro.2006.09.034.
- [151] M. Kruk, S. Osowski, W. Kozłowski, R. Koktyisz, T. Markiewicz, and J. Słodkowska. Computer-assisted fuhrman grading system for the analysis of clear-cell renal carcinoma: A pilot study. *Przegląd Elektrotechniczny*, 89(3):268–270, 2013. ISSN 0033-2097.

- [152] K. Turkowski. Filters for common resampling tasks. In *Graphics Gems*, pages 147–165. Morgan Kaufmann, San Diego, CA, USA, 1990. ISBN 978-0-08-050753-8. doi: 10.1016/B978-0-08-050753-8.50042-5.
- [153] B. Shahriari, K. Swersky, Z. Wang, R. P. Adams, and N. de Freitas. Taking the human out of the loop: A review of bayesian optimization. *Proceedings of the IEEE*, 104(1):148–175, 2016. doi: 10.1109/JPROC.2015.2494218.
- [154] E. Brochu, V. M. Cora, and N. de Freitas. A tutorial on bayesian optimization of expensive cost functions, with application to active user modeling and hierarchical reinforcement learning. *arXiv*, 2010. doi: 10.48550/arXiv.1012.2599.
- [155] I. Dewancker, M. McCourt, and S. Clark. Bayesian optimization primer. *SigOpt*, 2015.
- [156] J. Bergstra, R. Bardenet, B. Kégl, and Y. Bengio. Algorithms for hyper-parameter optimization. In *Advances in Neural Information Processing Systems*, volume 24, 2011.
- [157] T. Akiba, S. Sano, T. Yanase, T. Ohta, and M. Koyama. Optuna: A next-generation hyperparameter optimization framework. In *25th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, pages 2623–2631, 2019. doi: 10.1145/3292500.3330701.
- [158] M. Ruchte and J. Grabocka. Scalable pareto front approximation for deep multi-objective learning. In *IEEE International Conference on Data Mining (ICDM)*, pages 1306–1311, 2021. doi: 10.1109/ICDM51629.2021.00162.
- [159] F. Chollet. *Deep Learning with Python, Second Edition*. Manning, Shelter Island, NY, USA, 2nd global edition, 2021. ISBN 9781617296864.
- [160] A. Geron. *Hands-On Machine Learning with Scikit-Learn, Keras, and TensorFlow: Concepts, Tools, and Techniques to Build Intelligent Systems*. O’Reilly Media, Inc., 2nd global edition, 2019. ISBN 1492032646. doi: 10.5555/3378999.
- [161] C. Sheppard. *Genetic Algorithms with Python*. Clinton Sheppard, 2018. ISBN 9781732029804.
- [162] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, and F. Bray. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3):209–249, 2021. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.

- [163] J. Douaiher, A. Ravipati, B. Grams, S. Chowdhury, O. Alatisse, and C. Are. Colorectal cancer—global burden, trends, and geographical variations. *Journal of Surgical Oncology*, 115(5):619–630, 2017. doi: 10.1002/jso.24578.
- [164] T. Sultana. Image compression technique wdr and ezw for different wavelet codes. *Journal of Multimedia Processing and Technologies*, 6(2):43–52, 2015.
- [165] M. Zerva, V. Christou, N. Giannakeas, A. T. Tzallas, and L. P. Kondi. An improved medical image compression method based on wavelet difference reduction. *IEEE Access*, 11:18026–18037, 2023. doi: 10.1109/ACCESS.2023.3246948.
- [166] Jiahui Yu, Zhe Lin, Jimei Yang, Xiaohui Shen, Xin Lu, and Thomas Huang. Free-form image inpainting with gated convolution. In *IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV)*, pages 4470–4479, 2019. doi: 10.1109/ICCV.2019.00457.
- [167] A. Dosovitskiy, L. Beyer, A. Kolesnikov, D. Weissenborn, X. Zhai, T. Unterthiner, M. Dehghani, M. Minderer, G. Heigold, and S. Gelly et al. An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale. *arXiv*, 2020. doi: arXiv:2010.11929v2.