



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΣΙΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Ανάπτυξη νέων μεθόδων ανάλυσης ψηφιακού σήματος και
εικόνας και αναγνώριση προτύπων σε ιατρικές εφαρμογές**

Κωνσταντίνος Δ. Νίνος

ΠΑΤΡΑ

2015

Στους γονείς μου

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ

- 1/ **Οικονόμου Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Πατρών (επιβλέπων),
- 2/ **Παναγιωτάκης Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
- 3/ **Κάβουρας Διονύσιος**, Καθηγητής, Τμήμα Μηχανικών Βιοϊατρικής Τεχνολογίας Τ.Ε., ΤΕΙ Αθήνας.

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1/ **Αναστασόπουλος Βασίλειος**, Καθηγητής, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
- 2/ **Κάβουρας Διονύσιος**, Καθηγητής, Τμήμα Μηχανικών Βιοϊατρικής Τεχνολογίας Τ.Ε., ΤΕΙ Αθήνας,
- 3/ **Νικηφορίδης Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
- 4/ **Οικονόμου Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
- 5/ **Παναγιωτάκης Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
- 6/ **Τόμπρας Γεώργιος**, Καθηγητής, Τμήμα Φυσικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
- 7/ **Σακελλαρόπουλος Γεώργιος**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα.....	VI
Ευχαριστίες.....	X
Περίληψη.....	2
Abstract	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	6
1.1. Περίληψη.....	6
1.2. Εισαγωγή	6
1.3. Στόχοι και συνεισφορά.....	8
1.4. Δομή της διδακτορικής διατριβής.....	10
ΜΕΡΟΣ Ι:	12
ΒΑΣΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ.....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - Ιστοπαθολογική εξέταση του καρκίνου του λάρυγγα.....	14
2.1. Περίληψη.....	14
2.2. Ο καρκίνος του λάρυγγα	14
2.3. Διάγνωση	17
2.4. Προετοιμασία δειγμάτων.....	18
2.5. Οπτικό μικροσκόπιο	20
2.6. Λήψη ψηφιακών εικόνων	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - Επεξεργασία ιστοπαθολογικής εικόνας καρκίνου του λάρυγγα με ανοσοϊστοχημική χρώση P63	26
3.1. Περίληψη.....	26
3.2. Επεξεργασία ιστοπαθολογικής εικόνας.....	27
3.2.1. Μετατροπή έγχρωμης εικόνας (rgb) σε εικόνα τόνων του γκρι	27
3.3. Φιλτράρισμα εικόνας	29
3.3.1. Μέθοδος Canny για εντοπισμό παρυφών πυρήνων	31
3.4. Μορφολογικά φίλτρα για εντοπισμό πυρήνων	34
3.4.1. Εντοπισμός πυρήνων στην εικόνα	37
3.4.2. Τμηματοποίηση εικόνας με μη-εποπτευόμενη ταξινόμηση των pixels	38
3.5. Συμπεράσματα	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - Ανάλυση ιστοπαθολογικής εικόνας καρκίνου του λάρυγγα.....	44
4.1. Περίληψη.....	44
4.2. Ανάλυση ιατρικής εικόνας.....	44

4.3.	Υπολογισμός χαρακτηριστικών	46
4.3.1.	Χαρακτηριστικά 1ης τάξης	47
4.3.2.	Χαρακτηριστικά 2ης τάξης – Από co-occurrence πίνακες	48
4.3.3.	Χαρακτηριστικά από διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων (dwt)	52
4.3.4.	Χαρακτηριστικά 2ης τάξης – Από run-length πίνακες	54
4.3.5.	Μορφολογικά χαρακτηριστικά	56
4.3.6.	Χαρακτηριστικά από το σχήμα του περιγράμματος του πυρήνα.....	58
4.3.7.	Χαρακτηριστικά από το δέντρο ελάχιστων αποστάσεων (Minimum Spanning Tree – MST).....	59
4.3.8.	Κανονικοποίηση χαρακτηριστικών	60
4.4.	Στατιστική ανάλυση χαρακτηριστικών.....	61
4.4.1.	Έλεγχος κατανομής δείγματος	62
4.4.2.	Στατιστική Δοκιμασία Student t-test.....	62
4.4.3.	Στατιστική Δοκιμασία Anova	63
4.4.4.	Στατιστική δοκιμασία Wilcoxon	65
4.4.5.	Στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis.....	66
4.4.6.	Συσχέτιση.....	68
4.5.	Συμπεράσματα	70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 -	Μέθοδοι σχεδιασμού συστημάτων υποστήριξης απόφασης	72
5.1.	Περίληψη.....	72
5.2.	Αρχές και αλγόριθμοι αναγνώρισης προτύπων.....	72
5.3.	Επιλογή χαρακτηριστικών	73
5.3.1.	Κριτήριο διαχωρισμού «Απόκλιση (Divergence)»	76
5.3.2.	Κριτήριο διαχωρισμού «Απόσταση Bhattacharyya».....	77
5.3.3.	Κριτήριο διαχωρισμού «Μήτρες Σκέδασης»	78
5.3.4.	Πρόσθια Σειριακή Επιλογή (Sequential Forward Selection - SFS).....	79
5.3.5.	Οπίσθια Σειριακή Επιλογή (Sequential Backward Selection - SBS).....	80
5.3.6.	Σειριακή Πρόσθια και Οπίσθια Κινητή Επιλογή (Sequential Forward and Sequential Backward Floating Selection)	81
5.4.	Ταξινόμηση.....	82
5.4.1.	Ταξινομητής Ελάχιστης Απόστασης	82
5.4.2.	Ταξινομητής K-πλησιέστερων γειτόνων (K-Nearest Neighbour Classifier ή K-NN)	83
5.4.3.	Ταξινομητής Πιθανοκρατικού Νευρωνικού Δικτύου (Probabilistic Neural Network-PNN)	85

5.4.4.	Ταξινομητής Bayesian	88
5.4.5.	Ταξινομητής LDA (Linear Discriminant Analysis)	90
5.4.6.	Ταξινομητής Μηχανών Διανυσμάτων Υποστήριξης (Support Vector Machines - SVM).....	92
5.4.7.	Ταξινομητής Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic regression)	94
5.4.8.	K-means	94
5.4.9.	Fuzzy c-means.....	95
5.5.	Μέθοδοι αξιολόγησης ακρίβειας ταξινομητή	96
5.6.	Παράλληλη επεξεργασία.....	100
5.7.	Περίληψη - Συμπεράσματα.....	105
ΜΕΡΟΣ II:		106
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		106
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 - Στατιστική συσχέτιση των χαρακτηριστικών των p63 εκφρασμένων πυρήνων με το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, σε κυτταρολογικές εικόνες μικροσκοπίας.....		
6.1.	Περίληψη.....	108
6.2.	Εισαγωγή	108
6.3.	Υλικό και μέθοδοι.....	109
6.4.	Αποτελέσματα	115
6.5.	Συζήτηση.....	120
6.6.	Συμπεράσματα 1ης πειραματικής μελέτης.....	124
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 - Σύστημα υποστήριξης απόφασης για την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα		
7.1.	Περίληψη.....	126
7.2.	Εισαγωγή και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας	126
7.3.	Υλικό και μέθοδοι.....	127
7.4.	Αποτελέσματα	133
7.5.	Συζήτηση.....	137
7.6.	Συμπεράσματα 2ης πειραματικής μελέτης.....	140
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 – Σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για πρόγνωση της πενταετούς επιβίωσης ασθενούς με καρκίνο του λάρυγγα.....		
8.1.	Περίληψη.....	142
8.2.	Εισαγωγή – γενικές παρατηρήσεις	142
8.3.	Υλικό και μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν	143
8.4.	Σχεδιασμός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων	145

8.5.	Αποτελέσματα	146
8.6.	Συζήτηση.....	150
8.7.	Συμπεράσματα 3ης πειραματικής μελέτης.....	154
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 - Ευρήματα - Συμπεράσματα - Μελλοντική Δουλειά		156
9.1.	Ευρήματα και Συμπεράσματα.....	156
9.2.	Μελλοντική Δουλειά	158
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		160
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ		166
Παράρτημα Ι.....		168
Παράρτημα ΙΙ.....		169
Παράρτημα ΙΙΙ.....		170
Παράρτημα ΙV.....		173

Ευχαριστίες

Θέλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου, τους συναδέλφους και συνεργάτες μου και να εκφράσω την βαθειά ευγνωμοσύνη μου για την βοήθεια που μου προσέφεραν καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής μου διατριβής.

Πρώτον, θέλω να εκφράσω την βαθύτατη εκτίμησή μου προς τον επιβλέποντα του διδακτορικού μου, Καθηγητή του Πανεπιστημίου Πάτρας κ. Γιώργο Οικονόμου, για την ενθάρρυνση, την καθοδήγηση και τις συμβουλές που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της ερευνητικής δουλειάς. Ειλικρινείς ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στον τέως Πρύτανη του Πανεπιστημίου Πάτρας, Καθηγητή κ. Γιώργο Παναγιωτάκη, μέλους της τριμελούς επιτροπής του διδακτορικού μου, για την κατανόηση, υποστήριξη και εμπιστοσύνη που έδειξε στο έργο μου, αλλά και για τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια του διδακτορικού μου. Θερμές ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στην παθολογοανατόμο ιατρό του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Πάτρας, Δρ. Παναγιώτα Ραβαζούλα, τόσο για την παροχή του απαραίτητου υλικού για την εκπόνηση της ερευνητικής δουλειάς του διδακτορικού όσο και για τις συνεχείς επεξηγήσεις και συζητήσεις για τα μυστικά της ιστοπαθολογικής εξέτασης.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω το μέλος της τριμελούς επιτροπής Καθηγητή του ΤΕΙ Αθήνας κ. Διονύσιο Κάβουρα, Διευθυντή του εργαστηρίου Επεξεργασίας Ιατρικού Σήματος και Εικόνας όπου πραγματοποιήθηκε σημαντικό μέρος της ερευνητικής δουλειάς, καθώς και τους συνεργάτες του Σπύρο Κωστόπουλο, Ιωάννη Καλατζή και Κώστα Σιδηρόπουλο, για την επιστημονική υποστήριξη της δουλειάς μου, για τις συζητήσεις και την βοήθειά τους στην διόρθωση των κειμένων των δημοσιευμένων εργασιών.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω την σύζυγό μου και τους γονείς μου για την υπομονή, την ηθική υποστήριξη και την κατανόηση που συνεχώς μου παρείχαν κατά τη διάρκεια, και ιδίως κατά την περαίωση, της διδακτορικής μου διατριβής.

Κ. Δ. Νίνος

Περίληψη

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η ανάπτυξη και υλοποίηση μεθόδων επεξεργασίας και ανάλυσης ιατρικών εικόνων μικροσκοπίου από υλικό βιοψίας καρκίνου του λάρυγγα καθώς και ο σχεδιασμός και υλοποίηση συστημάτων υποστήριξης διάγνωσης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων με στόχο: α) την διερεύνηση της μεταβολής της δομής του κυττάρου με αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας του καρκίνου, β) την διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του όγκου και γ) την εκτίμηση της πενταετούς, από πρώτη διάγνωση, επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα.

Υλικό και μέθοδοι: Το υλικό προήρχετο από *πενήντα πέντε (55)* βιοψίες καρκίνου του λάρυγγα, από ισάριθμους ασθενείς, με επιβεβαίωση ως προς τον βαθμό κακοήθειας του όγκου (21-18-16 όγκοι με I-II-III βαθμού κακοήθειας, αντίστοιχα). Όλο το ιστοπαθολογικό υλικό παραχωρήθηκε από το τμήμα Παθολογοανατομίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Πάτρας. Το υλικό βιοψίας είχε ειδικά παρασκευαστεί, είχε χρώση p63, και είχε συσκευαστεί σε ειδικές καλυπτρίδες. Το υλικό ελέγχθηκε σε οπτικό μικροσκόπιο και τέσσερις εικόνες, ειδικά επιλεγμένες από την έμπειρη παθολογοανατόμο ιατρό, ψηφιοποιήθηκαν προς περαιτέρω επεξεργασία. Υλοποιήθηκαν μέθοδοι επεξεργασίας εικόνας και μη-επιβλεπόμενης ταξινόμησης για την τμηματοποίηση της εικόνας και την εύρεση των πυρήνων του κυττάρου που είχαν εκφραστεί με p63 χρώση. Από τους πυρήνες προέκυψαν *εξήντα δύο (62)* χαρακτηριστικά από την υφή, περίγραμμα, σχήμα, μορφή και διασπορά (συγκέντρωση) των πυρήνων στο κύτταρο και κάθε ασθενής αντιπροσωπεύθηκε από ένα διάνυσμα 62 τιμών, που ήταν οι μέσες τιμές των χαρακτηριστικών από όλους τους πυρήνες στις 4 εικόνες μικροσκοπίου του όγκου. Εξετάστηκε η μεταξύ κατηγοριών (3 κατηγορίες I, II, III βαθμού κακοήθειας) διαχωριστική ικανότητα των χαρακτηριστικών, βρέθηκαν εκείνα που είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των κατηγοριών και αναλύθηκε η επίδραση του βαθμού κακοήθειας στην σύσταση της δομής του πυρήνα. Στη συνέχεια, η επεξεργασία μεταφέρθηκε στους επεξεργαστές μίας κάρτας γραφικών και έγινε χρήση παράλληλου προγραμματισμού για τον βέλτιστο σχεδιασμό συστημάτων υποστήριξης απόφασης, λόγω του υπερβολικού φόρτου επεξεργασίας που ήταν χρονικά απαγορευτικός για να

πραγματοποιηθεί ο σχεδιασμός στους επεξεργαστές του H/Y. Σχεδιάστηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης για την διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα καθώς και ένα άλλο για την εκτίμηση της πιθανότητας πενταετούς επιβίωσης του ασθενούς, χρησιμοποιώντας τον ταξινομητή πιθανοκρατικών νευρωνικών δικτύων (PNN), την εξαντλητική αναζήτηση συνδυασμών χαρακτηριστικών, και των LOO και ECV μεθόδων αξιολόγησης της ακρίβειας ταξινόμησης.

Αποτελέσματα-Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με αυξανόμενο το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα το ποσοστό P63 έκφρασης μειώνεται, η ένταση απεικόνισης των p63 εκφρασμένων πυρήνων μειώνεται, η υφή των καθίσταται πιο ανομοιογενής, αποτελούμενη από μικρότερα ανόμοια δομικά στοιχεία τυχαία κατανεμημένα, και το σχήμα των πυρήνων καθίσταται περισσότερο ακανόνιστο.

Στο σύστημα υποστήριξης διάγνωσης για το βαθμό κακοήθειας, τα ποσοστά διάγνωσης ήταν υψηλά με περίπου 90% συνολική ακρίβεια στην εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας στα δεδομένα της μελέτης και για χαρακτηριστικά που σχετίζονταν με την ομοιογένεια της υφής των πυρήνων, των δομών εντός του πυρήνα, και της διασποράς ή συγκέντρωσης των πυρήνων.

Στο σύστημα υποστήριξης διάγνωσης για την εκτίμηση της πενταετούς επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα η ακρίβεια στα δεδομένα της μελέτης ήταν περίπου 90% και τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν στον καλύτερο σχεδιασμό σχετίζονταν με το περιεχόμενο υψηλής συχνότητας της εικόνας του πυρήνα, με την ανισοτροπία στην τυχειότητα των τόνων της υφής του πυρήνα, με το σχήμα του πυρήνα, και τον βαθμό κακοήθειας του όγκου. Η μελέτη έδειξε επίσης ότι χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την ύπαρξη ακμών στην επιφάνεια του πυρήνα διαχώριζαν στατιστικά σημαντικά τις δύο κατηγορίες πενταετούς επιβίωσης αναδεικνύοντας έτσι το ότι η υφή των πυρήνων των αποβιωσάντων ασθενών ήταν περισσότερο τραχεία σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

Abstract

Objective: The objective of the present PhD Thesis was the development and application of image analysis and pattern recognition methods, using histopathology images of laryngeal tumors which had been immunohistochemically (IHC) stained for p63 expression, for: a) investigating the association between P63 stained nuclei and histologic grade in laryngeal tumor lesions, b) designing a decision support system (DSS) for discriminating between low and high grade laryngeal cancer cases, and c) developing DSS-system for predicting the 5-year survival of patients with laryngeal squamous cell carcinoma.

Material and Methods: Biopsy specimens from laryngeal tumor lesions of 55 patients diagnosed with laryngeal squamous cell carcinomas were Hematoxylin & Eosin (HE) stained for histological tumour grade and stage assessment, and immunohistochemically (IHC) stained for P63 expression. Four non-overlapping microscopy images were digitized from each patient's IHC specimens, in regions indicated by the expert physician. In each image, P63 positively expressed nuclei were identified, by specially designed segmentation method, and the percentage of P63 expressed nuclei was computed. A number of textural and morphological features were generated from each of the P63 stained nuclei and data thus formed was used to form three classes (**21 lesions of grade I, 34 lesions of grade II and grade III**). Features of high discriminatory power amongst the classes were determined, employing non-parametric statistical methods, and the effect of tumour grade on the nucleus structure was analysed. Next, two DSS-systems were developed, employing the CUDA parallel programming capabilities of Nvidia GPU cards for achieving high precision designs. One DSS was designed to discriminate low from high grade laryngeal cancer lesions and another to predict 5-year survival of patients with laryngeal cancer.

Results-Conclusions: Textural features that sustained statistically significant differences between low and high grade lesions revealed that with advancing grade, %P63 expression decreased, P63 stained nuclei appeared of lower image intensity, more inhomogeneous, of higher local contrast, containing smaller randomly distributed dissimilar structures and having more irregular shape. DSS performance in classifying laryngeal cancer cases as low grade and high grade was 85.7% and 94.1%

respectively. The system's overall accuracy was 90.9% and its estimated accuracy to "unseen" by the system cases was 80%. The DSS accuracy in assessing the 5-year survival of patients with laryngeal cancer was 90.5%, and texture in p63 expressed nuclei appeared coarser and with more edges in the 5-year non-survivors.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζεται το ερευνητικό αντικείμενο της διατριβής. Συγκεκριμένα: **1/**αναλύεται το πρόβλημα της έγκυρης και έγκαιρης διάγνωσης του καρκίνου του λάρυγγα, οι χρώσεις που χρησιμοποιούνται στην ιστοπαθολογική εικόνα για την διάγνωση του βαθμού κακοήθειας και οι ανοσοϊστοχημικές χρώσεις, όπως η p63, που χρησιμοποιούνται στην πρόγνωση των νεοπλασμάτων του λάρυγγα. **2/**δίνεται μία περιγραφή των υπολογιστικών μεθόδων που έχουν χρησιμοποιηθεί στην ανάλυση της ιστοπαθολογικής εικόνας του καρκίνου του λάρυγγα, ώστε να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για την βιολογική διεργασία του καρκίνου επί των κυττάρων, **3/**γίνεται αναφορά στα συστήματα υποστηριζόμενης διάγνωσης του καρκίνου του λάρυγγα που έχουν αναπτυχθεί, διαπιστώνοντας ότι αυτά αφορούσαν μόνο σε έγχρωμες εικόνες λαρυγγοσκοπίου, και **4/**ορίζεται το θέμα της ερευνητικής δουλειάς του διδακτορικού που αφορούσε: α) στην ανάλυση της ιστοπαθολογικής εικόνας με χρώση p63 του καρκίνου του λάρυγγα για την εκτίμηση της διεργασίας του καρκίνου επί των πυρήνων των κυττάρων, β) στην ανάπτυξη ενός συστήματος υποστηριζόμενης διάγνωσης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για την διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα και γ) στην ανάπτυξη ενός συστήματος για την εκτίμηση του χρόνου επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα. Τέλος, στο κεφάλαιο αυτό αναλύονται οι στόχοι και η συνεισφορά της διδακτορικής διατριβής, περιγράφεται η δομή της και δίνεται μία μικρή περιγραφή του περιεχομένου του κάθε κεφαλαίου.

1.2. Εισαγωγή

Ο καρκίνος του λάρυγγα αναλογεί στο περίπου 3% των νέων διαγνωσμένων καρκίνων και έχει κακή πρόγνωση, με το 60% των ασθενών να επιβιώνει την πενταετία από την πρώτη διάγνωση του όγκου [1]. Είναι προφανές ότι η έγκαιρη και ακριβής διάγνωση είναι σημαντικές για την κατάλληλη θεραπεία και την βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών.

Σχετικά με την ακριβή διάγνωση, αυτή βασίζεται κυρίως στην εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας από τον εξειδικευμένο παθολογοανατόμο ιατρό, που εξετάζει στο οπτικό μικροσκόπιο δείγματα βιοψίας του όγκου, που έχουν ειδικά παρασκευαστεί με χρώση Hematoxylin & Eosin (H&E). Εντούτοις, η διάγνωση εξαρτάται από την εμπειρία του ιατρού αλλά και μεταξύ έμπειρων ιατρών έχει αποδειχτεί [2-4] ότι υπάρχει διαφορά στην επαναληψιμότητα της διάγνωσης, τόσο στη διάγνωση του ίδιου υλικού μεταξύ διαφορετικών γιατρών όσο και του ίδιου γιατρού σε διαφορετικές χρονικές στιγμές.

Σχετικά με την έγκαιρη διάγνωση, πολλοί ερευνητές έχουν εστιαστεί στην εύρεση νέων προγνωστικών παραγόντων, όπως είναι η παραγωγή της πρωτεΐνης p63 από το TP63 γονίδιο και η συσχέτιση της υπερ-έκφρασης του p63 με τα επιθηλιακά νεοπλάσματα του λάρυγγα [5-8]. Σε μία μελέτη έχει ευρεθεί [5] ότι στο 96% των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα, η p63 χρώση ήταν υπαρκτή στο 30% των κυττάρων, ενώ σε μία άλλη μελέτη [8], με το κατώφλι να έχει τεθεί στο 50% των p63 εκφρασμένων πυρήνων, βρέθηκε ότι η p63 χρώση ήταν υπαρκτή στο 95% των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα.

Ενώ η p63 χρώση έχει χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός παράγοντας, εντούτοις είναι χρώση που βάφει κυρίως τους πυρήνες του κυττάρου. Έτσι εγείρεται το ερώτημα αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ χαρακτηριστικών του πυρήνα, όπως είναι οι ιδιότητες της υφής, παρυφής και διασποράς (συγκέντρωσης) των πυρήνων και του βαθμού κακοήθειας του πυρήνα. Ένα τέτοιο πιθανό εύρημα θα ήταν πολύ χρήσιμο στην βελτίωση της διαγνωστικής ακρίβειας του καρκίνου του λάρυγγα, επειδή μπορεί να σχετίζεται με την βιολογική διεργασία που είναι καταγραμμένη στον p63 εκφρασμένο πυρήνα. Ένα τέτοιο εγχείρημα, όμως, θα προϋπέθετε τη χρήση υπολογιστή (H/Y) για την ανάλυση των εικόνων των p63 εκφρασμένων πυρήνων.

Σχετικά με τις μεθόδους ανάλυσης εικόνας, σε προηγούμενες μελέτες έχουν εφαρμοστεί υπολογιστικές μέθοδοι για την ανάλυση ψηφιοποιημένων ιστοπαθολογικών εικόνων του λάρυγγα με χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης (H&E), είτε για να εκτιμηθεί η επιβίωση των ασθενών είτε για την εύρεση παραμέτρων που διαφοροποιούν τους διάφορους τύπους καρκίνου του λάρυγγα. Σε μία εργασία [9] εκτιμήθηκε η σημασία της παραμέτρου “fractal dimension”, που αντικατοπτρίζει την ετερογένεια της υφής, σε δείγματα βιοψίας καρκίνου του λάρυγγα με χρώση H&E και βρέθηκε ότι ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα που είχαν χαμηλότερες τιμές της

παραμέτρου είχαν μεγαλύτερη επιβίωση. Στην εργασία [10], σε δείγματα βιοψίας καρκίνου του λάρυγγα με χρώση H&E, χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι ανάλυσης εικόνας για την αυτόματη καταμέτρηση των κυττάρων και υπολογισμό παραμέτρων των πυρήνων όπως είναι η επιφάνεια, η περίμετρος, η καμπυλότητα και συσχετίστηκαν οι παράμετροι αυτές με την επιβίωση του ασθενή. Στη μελέτη [11], χρησιμοποιήθηκε χρώση Galectin-3, μελετήθηκε ο βαθμός έκφρασης της χρώσης, και βρέθηκε ότι υψηλός βαθμός έκφρασης σχετίζονταν με την επιθετικότητα του καρκίνου του λάρυγγα. Σε μία άλλη μελέτη [12], υπολογίστηκε η παράμετρος fractal-area για την διάκριση μεταξύ αλλοιώσεων με καλοήθεια, δυσπλασία, και κακοήθεια. Στη μελέτη [13], χρησιμοποιήθηκαν οι AgNOR και Ki-67 χρώσεις σε δείγματα βιοψίας αλλοιώσεων καρκίνου του λάρυγγα, και υπολογίστηκαν το ποσοστό των εκφρασμένων Ki-67 πυρήνων και μια σειρά από μορφολογικές παράμετροι, από πυρήνες με AgNOR χρώση, για να εκτιμηθεί ο δείκτης πολλαπλασιασμού των κυττάρων του επιθηλίου στο καρκίνο του λάρυγγα. Μία καλή ανασκόπηση των μεθοδολογιών αυτόματης ανάλυσης κυτταρολογικών εικόνων από δείγματα βιοψίας με H/Y δίνεται στις εργασίες [14, 15].

Σχετικά με την ανάπτυξη συστημάτων υποστηριζόμενης διάγνωσης (DSS, Decision Support Systems), σε προηγούμενες μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί για την σχεδίαση των συστημάτων, μέθοδοι αναγνώρισης προτύπων με βάση την ιστοπαθολογική εικόνα. Τα συστήματα αυτά έχουν βρει εφαρμογή σε καρκίνους του μαστού [16, 17], της ουροδόχου κύστεως [18, 19], του θυρεοειδή αδένα [20], του εγκεφάλου [18, 21], του ενδομητρίου [22], αλλά δεν έχουν εφαρμοστεί στον καρκίνο του λάρυγγα. Οι μόνες μελέτες που αφορούσαν μεθόδους αναγνώρισης προτύπων και καρκίνο του λάρυγγα έχουν γίνει με βάση τις έγχρωμες εικόνες λαρυγγοσκοπίου [23, 24] και όχι εικόνες ιστοπαθολογίας. Σχετικά με την επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα δεν υπάρχει δημοσιευμένη μελέτη στηριζόμενη σε συστήματα υποστηριζόμενης απόφασης.

1.3. Στόχοι και συνεισφορά

Η παρούσα διατριβή χρησιμοποιεί υλικό βιοψίας από όγκους 55 ασθενών με επιβεβαιωμένο καρκίνο του λάρυγγα. Δείγματα βιοψίας από κάθε ασθενή υπέστησαν χρώση με H&E, για καθορισμό του βαθμού κακοήθειας του όγκου, και με p63 για να

διερευνηθεί αν η χρώση P63 μπορεί να χρησιμοποιηθεί: α) ως εναλλακτικός διαγνωστικός δείκτης στην εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, που έως τώρα πραγματοποιείται κλινικά κυρίως με την H&E χρώση και β) ως προγνωστικός δείκτης για την εκτίμηση της επιβίωσης του ασθενή πέραν της πενταετίας από την πρώτη διάγνωση του καρκίνου του λάρυγγα. Για την διερεύνηση των ανωτέρω, πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα, που αποτελούν και συνεισφορά στη διεθνή επιστημονική βιβλιογραφία της διδακτορικής διατριβής.

1. Εξετάστηκαν, με μεθόδους επεξεργασίας και ανάλυσης των ψηφιακών ιστοπαθολογικών εικόνων, με χρώση p63, των δειγμάτων κάθε ασθενούς, αν τα χαρακτηριστικά υφής, παρυφής, σχήματος, μορφής και συγκέντρωσης των p63 εκφρασμένων πυρήνων των κυττάρων διαφοροποιούνταν μεταξύ των χαμηλής και υψηλής κακοήθειας όγκων και σε αυτά που υπήρχε διαφοροποίηση αναλύθηκε το πώς οι ιδιότητες της δομής του πυρήνα που εκφράζουν αλλοιώνονται με την επιδείνωση της ασθένειας. *Σχετική εργασία έχει δημοσιευθεί σε διεθνές αναγνωρισμένο επιστημονικό περιοδικό με δείκτη απήχησης [25].*
2. Σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης, στηριζόμενο σε μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, για την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα από ψηφιακές εικόνες υλικού βιοψίας με χρώση p63. Ο σκοπός ήταν να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο ενίσχυσης της διάγνωσης της κακοήθειας του όγκου από τον γιατρό, η οποία βασίζεται κυρίως σε ιστοπαθολογικές εικόνες με χρώση H&E. *Σχετική εργασία έχει δημοσιευθεί σε διεθνές αναγνωρισμένο επιστημονικό περιοδικό με δείκτη απήχησης [26].*
3. Τα δεδομένα βιοψίας των ίδιων ασθενών χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με το αν οι ασθενείς επιβίωσαν της πενταετίας από την πρώτη διάγνωση του καρκίνου του λάρυγγα. Σκοπός ήταν να βρεθούν εκείνα τα χαρακτηριστικά των πυρήνων που διαφοροποιούσαν τις δύο κατηγορίες και σε αυτά που είχαν διαφορές να αναδειχθούν οι συγκεκριμένες ιδιότητες της δομής των πυρήνων που σχετίζονται με την επιβίωση του ασθενή. Επιπλέον, σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης, στηριζόμενο σε μεθόδους αναγνώρισης

προτύπων, για την εκτίμηση της επιβίωσης πέραν της πενταετίας, από πρώτη διάγνωση, των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα χρησιμοποιώντας ψηφιακές εικόνες υλικού βιοψίας με χρώση p63. Ο σκοπός ήταν να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο πρόγνωσης της εξέλιξης της ασθένειας. *Σχετική εργασία έχει υποβληθεί σε διεθνές αναγνωρισμένο επιστημονικό περιοδικό με δείκτη απήχησης [27].*

1.4. Δομή της διδακτορικής διατριβής

Η διατριβή αποτελείται από δύο κύρια μέρη. **Το πρώτο μέρος**, περιέχει την θεωρία για το ιατρικό πρόβλημα, τις αρχές της μικροσκοπίας, την θεωρία της ανάλυσης εικόνας και αναγνώρισης προτύπων. Αποτελείται από τέσσερα κεφάλαια. Το **κεφάλαιο 2**, περιέχει στοιχεία για τον καρκίνο του λάρυγγα και για την προετοιμασία του υλικού βιοψίας για εξέταση στο οπτικό μικροσκόπιο από τον παθολογοανατόμο γιατρό, για τα βασικά μέρη του οπτικού μικροσκοπίου και για την λήψη της ιατρικής ιστοπαθολογικής εικόνας. Το **κεφάλαιο 3** αναφέρεται στις μεθόδους επεξεργασίας, και τμηματοποίησης της ιατρικής εικόνας. Στο **κεφάλαιο 4** περιγράφεται η ανάλυση της ιατρικής εικόνας, ο υπολογισμός των χαρακτηριστικών, και η στατιστική ανάλυση των χαρακτηριστικών. Στο **κεφάλαιο 5** περιγράφονται οι μέθοδοι σχεδιασμού συστημάτων αναγνώρισης προτύπων.

Το **δεύτερο μέρος** αναφέρεται στην πειραματική έρευνα και στις προτεινόμενες μεθόδους επεξεργασίας και ανάλυσης της ιστοπαθολογικής εικόνας και ανάπτυξης συστημάτων υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για την λύση συγκεκριμένου προβλήματος διαγνωστικής ιστοπαθολογίας, αυτό της διάγνωσης του βαθμού κακοήθειας και της εκτίμησης του χρόνου επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα. Στο **κεφάλαιο 6** γίνεται αναφορά στις διαδικασίες ανάλυσης της ιστοπαθολογικής εικόνας του καρκίνου του λάρυγγα και στα ευρήματα σχετικά με την αποδόμηση των πυρήνων του κυττάρου προϊούσης της ασθένειας, στο **κεφάλαιο 7** περιγράφεται ο σχεδιασμός και υλοποίηση του συστήματος υποβοηθούμενης διάγνωσης για αυτόματη εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, και στο **κεφάλαιο 8** αναλύεται ο σχεδιασμός και υλοποίηση του συστήματος υποβοηθούμενης διάγνωσης για την εκτίμηση της επιβίωσης του

ασθενούς με καρκίνο του λάρυγγα. Τέλος, στο **κεφάλαιο 9** συνοψίζονται τα ευρήματα και τα συμπεράσματα της ερευνητικής δουλειάς της διδακτορικής διατριβής.

Ακολουθεί αναγραφή των επιστημονικών **βιβλιογραφικών αναφορών** στις οποίες βασίστηκε η διδακτορική διατριβή και τα **παραρτήματα**. Το **παράρτημα I** περιέχει τις δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά που προέκυψαν από την ερευνητική δουλειά της διδακτορικής διατριβής. Τα **παραρτήματα II, III, και IV** περιέχουν τις συντομογραφίες, κατάλογο Σχημάτων και των Πινάκων της διατριβής, αντίστοιχα.

ΜΕΡΟΣ Ι:

ΒΑΣΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - Ιστοπαθολογική εξέταση του καρκίνου του λάρυγγα

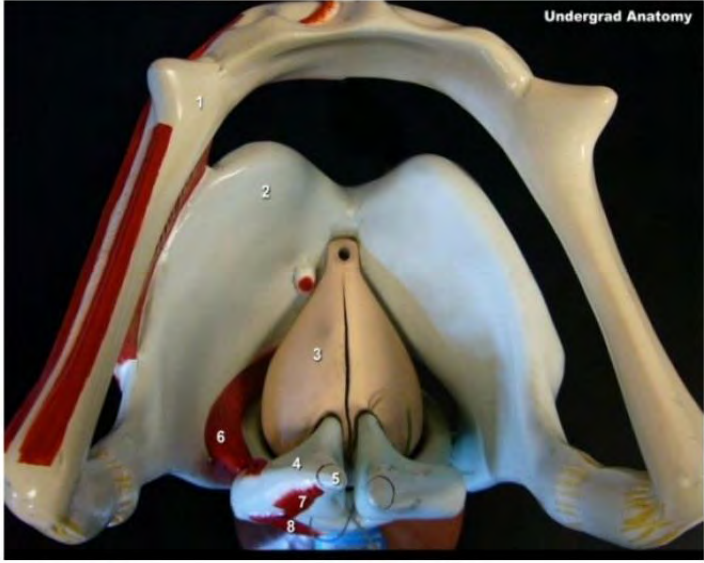
2.1. Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζεται η ανατομία του λάρυγγα και αναλύεται η συμπτωματολογία και οι αιτίες που προκαλούν τον καρκίνο του λάρυγγα. Περιγράφονται οι διάφορες εξετάσεις για έλεγχο ύπαρξης της νόσου, όπως είναι οι ακτινολογικές, οι βιοχημικές, ο έλεγχος με ψηλάφηση, η ενδοσκοπική εξέταση, καθώς και η διαδικασία λήψης βιοψίας. Στη συνέχεια περιγράφεται η παθολογοανατομική εξέταση δειγμάτων υλικού από βιοψία, η προετοιμασία του υλικού, η εξέταση κάτω από μικροσκόπιο και η ταξινόμηση του υλικού σε βαθμούς κακοήθειας. Τέλος παρουσιάζεται το οπτικό μικροσκόπιο καθώς και η τεχνολογία λήψης και αποθήκευσης σε υπολογιστή των εικόνων του μικροσκοπίου.

2.2. Ο καρκίνος του λάρυγγα

Ο λάρυγγας βρίσκεται στο λαιμό και αποτελείται από χόνδρους, μύες και βλεννογόνο. Σχηματίζει ένα είδος σωλήνα, όπου βρίσκονται οι φωνητικές χορδές (γλωττίδα). Επικοινωνεί με το στόμα και μέσω της τραχείας με τους πνεύμονες. Στην εικόνα πάνω αριστερά (**Σχήμα 2.1**) δίνεται μία *σχηματική απεικόνιση* του λάρυγγα ενώ πάνω δεξιά (**Σχήμα 2.2**) μια *ενδοσκοπική εικόνα* φυσιολογικού λάρυγγα.

Ο καρκίνος του λάρυγγα προέρχεται από τον ανώμαλο πολλαπλασιασμό κυρίως των επιθηλιακών κυττάρων του βλεννογόνου του λάρυγγα και ιδιαίτερα των φωνητικών χορδών σε ποσοστό 97%. Ο καρκίνος του λάρυγγα είναι συχνός [28, 29]. Προσβάλλει κυρίως άνδρες σε αναλογία 4/1 σε σχέση με τις γυναίκες. Η μεγαλύτερη συχνότητα παρατηρείται στην 6η δεκαετία της ζωής. Στην Ευρώπη η ετήσια συχνότητα της νόσου ποικίλει από 5,93 έως 20,3 ανά 100.000 κατοίκους. Περιοχές υψηλού κινδύνου θεωρούνται οι χώρες της Μεσογείου, μεταξύ αυτών και η Ελλάδα.

 Undergrad Anatomy 1. Υίοειδές οστό 2. Θυροειδής χόνδρος 3. Φωνητικές χορδές (κλειστές) 4. Αρυταινοειδής χόνδρος 5. Κερατοειδής χόνδρος 6. Πλευρικός κρικαρυταινοειδής μυς 7. Εγκάρσιος αρυταινοειδής μυς 8. Πλάγιος αρυταινοειδής μυς	
Σχήμα 2.1: Σχηματική απεικόνιση του λάρυγγα.	Σχήμα 2.2: Ενδοσκοπική εικόνα φυσιολογικού λάρυγγα.

Ο καρκίνος του λάρυγγα είναι μια σοβαρή ασθένεια που απειλεί τη ζωή για την οποία όμως υπάρχει μια αποτελεσματική πρόληψη. Οι περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου του λάρυγγα όπως επίσης και το 90% των καρκίνων της κεφαλής και του λαιμού, οφείλονται σε γνωστούς παράγοντες που προκαλούν καρκίνο. Για το λόγο αυτό, η πρόληψη είναι δυνατή χάρις σε μια αλλαγή του τρόπου ζωής που στόχο έχει την αποφυγή της έκθεσης στους νοσηρούς καρκινογόνους παράγοντες. Η βραχνάδα φωνής είναι η σπουδαιότερη και κατά κανόνα και η πρώτη εκδήλωση του καρκίνου του λάρυγγα. Άλλα συμπτώματα είναι ο χρόνιος ερεθιστικός βήχας, η δυσφαγία, η δύσπνοια, η αιμόπτυση, ο πόνος στο λαιμό και τέλος οι διογκωμένοι λεμφαδένες του λαιμού. Οποιοδήποτε ενόχλημα από το λάρυγγα ή το φάρυγγα που επιμένει περισσότερο από δύο εβδομάδες θα πρέπει να ελέγχεται από ωτορινολαρυγγολόγο. Συνοπτικά παρουσιάζονται παρακάτω οι κυριότερες επιπλοκές.

Τα συχνότερα σημεία και συμπτώματα του καρκίνου του λάρυγγα είναι:

- *Επίμονη βραχνάδα της φωνής που εγκαθίσταται προοδευτικά*
- *Δυσκολία στην κατάποση*

- *Επίμονος πόνος στο λαιμό ή πόνος που εκδηλώνεται κατά την κατάποση*
- *Πόνος στο αυτί*
- *Εμφάνιση μάζας στο λαιμό*
- *Αλλαγές στη φωνή*

Όσον αφορά τις κυριότερες αιτίες που προκαλούν τον καρκίνο του λάρυγγα αυτές εστιάζονται ακολούθως:

Α) Το κάπνισμα: Περισσότεροι από 95% των ασθενών που προσβάλλονται από καρκίνο του λάρυγγα, είναι καπνιστές. Το κάπνισμα προκαλεί καρκίνο διότι δημιουργεί μεταλλάξεις στα γονίδια των κυττάρων της βλεννογόνου του αναπνευστικού συστήματος. Επίσης μειώνει το σύστημα άμυνας του οργανισμού με αποτέλεσμα αυτό να μη μπορεί να καταπολεμά νεοεμφανιζόμενα καρκινικά κύτταρα. Οι πιθανότητες κάποιου καπνιστή να αναπτύξει καρκίνο του λάρυγγα αυξάνονται όχι μόνο από το πόσο καπνίζει αλλά και από τη συνολική χρονική διάρκεια για την οποία καπνίζει.

Β) Το αλκοόλ: Το αλκοόλ είναι ένας παράγοντας που ευνοεί την ανάπτυξη του καρκίνου του λάρυγγα. Στην πραγματικότητα το αλκοόλ δρα σε συνέργια με τον καπνό και μεγεθύνει τις αρνητικές του επιδράσεις.

Γ) Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων: Ο ιός αυτός (HPV) έχει συσχετισθεί με την γένεση του καρκίνου του λάρυγγα.

Δ) Ο αμύαντος: Ο αμύαντος, όπως και για άλλους καρκίνους, θεωρείται ένας παράγοντας που ευνοεί την ανάπτυξη του καρκίνου λάρυγγα.

Ε) Η γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση: Η πάθηση αυτή που χαρακτηρίζεται από την επιστροφή όξινου περιεχομένου του στομαχίου προς τον οισοφάγο και κάποτε προς το λάρυγγα, θεωρείται ότι είναι δυνατόν να συμβάλλει στη γένεση του καρκίνου του λάρυγγα.

Η **βιταμίνη Α** και η **β-καροτίνη** θεωρούνται ότι έχουν προστατευτικό ρόλο εναντίον του καρκίνου του λάρυγγα.

2.3. Διάγνωση

Η πρώτη διάγνωση γίνεται από τον ειδικό ωτορινολαρυγγολόγο που αξιοποιεί τα πρώιμα συμπτώματα του ασθενούς. Κατόπιν γίνεται η φυσική εξέταση του τραχήλου του λάρυγγα για έλεγχο ευαισθησίας στην ψηλάφηση ύπαρξης κάποιας ύποπτης μάζας, πιθανή εξωλαρυγγική επέκταση, ή επέκταση όγκου μεταξύ λάρυγγα και φάρυγγα ή οισοφάγου.

Ο ακτινολογικός έλεγχος του λάρυγγα [30] γίνεται με απλές ακτινογραφίες λάρυγγα και θώρακα, Υπολογιστική (Αξονική) τομογραφία (CT - Computed Tomography) για την απεικόνιση του λαρυγγικού σκελετού, Μαγνητικό συντονισμό (MRI - Magnetic Resonance Imaging) για την άριστη ανάδειξη των μαλακών μορίων του και Υπερηχογραφία.

Για τον εργαστηριακό έλεγχο του λάρυγγα γίνεται κυρίως γενική εξέταση αίματος και ήπατο-βιοχημικό προφίλ των ασθενών.

Τέλος η πιο σημαντική εξέταση είναι η **ιστολογική** [28]. Εάν παρατηρηθεί κάτι ύποπτο από την φυσική εξέταση (ψηλάφηση) ή την ενδοσκοπική εξέταση τότε συνήθως απαιτείται **ιστολογική εξέταση** (βιοψία). Στην ιστολογική εξέταση λαμβάνεται βιοψία του όγκου υπό άμεση λαρυγγοσκόπηση και γίνεται η οριστική διάγνωση. Κατόπιν, το δείγμα εξετάζεται στο μικροσκόπιο από ειδικό παθολογοανατόμο ιατρό για τον έλεγχο των κυττάρων και του περιβάλλοντα ιστού. Η ιστολογική εξέταση ταυτοποιεί τον ιστολογικό τύπο του όγκου και δίνει πληροφορίες για τη βαθμίδα διαφοροποίησης, που επηρεάζει την πρόγνωση. Η αρνητική βιοψία θα πρέπει να επαναλαμβάνεται και να δίνεται σημασία στην κλινική διάγνωση.

Τα δείγματα της βιοψίας εξετάζονται στο μικροσκόπιο για τον εντοπισμό πιθανών καρκινικών κυττάρων. Με την εξέταση ορισμένων χαρακτηριστικών γνωρισμάτων των κυττάρων και του περιβάλλοντα ιστού γίνεται ο ορισμός της ιστολογικής διαβάθμισης του όγκου.

Ο βαθμός της ιστολογικής διαβάθμισης του όγκου στο καρκίνο του λάρυγγα περιγράφεται συνήθως ως εξής:

- **Grade 1** (βαθμός χαμηλής διαβάθμισης). Τα κύτταρα φαίνονται παρόμοια με τα κανονικά κύτταρα στο λάρυγγα. Τα καρκινικά κύτταρα θεωρούνται "καλής διαφοροποίησης". Τα καρκινικά κύτταρα τείνουν να αυξάνονται και να πολλαπλασιάζονται αρκετά αργά και δεν είναι τόσο επιθετικά.
- **Grade 2** (βαθμός ενδιάμεσης διαβάθμισης).
- **Grade 3** (βαθμός υψηλής διαβάθμισης). Τα κύτταρα φαίνονται πολύ ανώμαλα και θεωρούνται "πτωχής διαφοροποίησης". Τα καρκινικά κύτταρα έχουν την τάση να αυξάνονται και να πολλαπλασιάζονται αρκετά γρήγορα και είναι περισσότερο "επιθετικά".

Ο προσδιορισμός του βαθμού διαβάθμισης του όγκου βοηθά τους ογκολόγους ιατρούς να προτείνουν τις καλύτερες μεθόδους θεραπείας. Επίσης είναι μια ένδειξη της προοπτικής της νόσου (πρόγνωση).

2.4. Προετοιμασία δειγμάτων

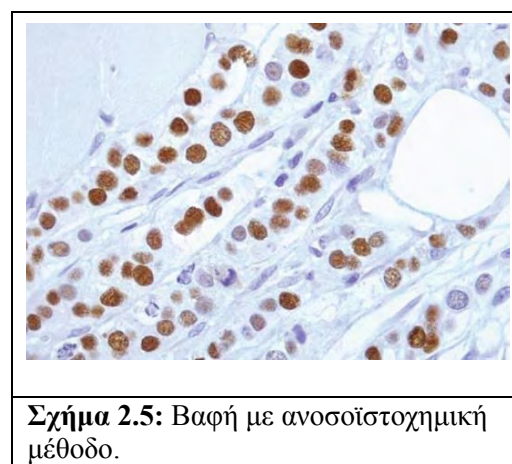
Η προετοιμασία των δειγμάτων ακολουθεί τα εξής στάδια:

1. **Μονιμοποίηση ιστών.** Τα δείγματα τοποθετούνται σε διάλυμα ουδέτερης εξουδετερωμένης φορμόλης 10%.
2. **Αφυδάτωση ιστών.** Το νερό απομακρύνεται από τους μονιμοποιημένους ιστούς με διαδοχικές εμβαπτίσεις σε αλκοόλες αυξανόμενου βαθμού, πριν την τελική τους τοποθέτηση σε απόλυτη αλκοόλη.
3. **Καθαρισμός των δειγμάτων.** Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται με τη χρήση ξυλόλης ώστε να διευκολυνθεί η ανάμιξη της αλκοόλης με την παραφίνη, που ακολουθεί στο επόμενο στάδιο.
4. **Σκλήρυνση ιστών.** Η διαδικασία γίνεται με εμποτίση των δειγμάτων σε ρευστοποιημένη παραφίνη, στους 54-56 °C, μέσα στα ειδικά πλακίδια, στα οποία εξ αρχής βρίσκονται τα δείγματα. Μετά οι παραφινωμένες κασέτες κρυώνουν και στερεοποιούνται σε ψυχρή πλάκα.
5. **Δημιουργία των ιστολογικών τομών.** Πραγματοποιούνται τομές πάχους 5 μm , με τη χρήση μικροτόμου (Shanon Hypercut). Ακολουθεί η τοποθέτησή τους σε μάνιο

νερού θερμοκρασίας 48 °C, ενώ στη συνέχεια τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρες πλάκες, που παραμένουν για 12 ώρες σε κλίβανο στους 56 °C.

6. **Απασβέστωση και κοπή παρασκευασμάτων.** Η απασβέστωση είναι απαραίτητη για τη διευκόλυνση της κοπής.

7. **Βαφή τομών.** Η βαφή τους πραγματοποιείται με χρώση αιματοξυλίνης-ιωσίνης, ώστε οι πυρήνες βάφονται μπλε, το κυτταρόπλασμα και ο συνδετικός ιστός ερυθρά, ενώ ο ιστός ροζ. Ακολουθεί η τοποθέτηση των καλυπτρίδων (ειδικά πλακάκια) (Σχήμα 2.3) στα παρασκευάσματα και η παρατήρηση στο μικροσκόπιο της ιστολογικής εικόνας (Σχήμα 2.4). Ένας διαφορετικός τρόπος βαφής είναι με ανοσοϊστοχημική μέθοδο (Σχήμα 2.5).



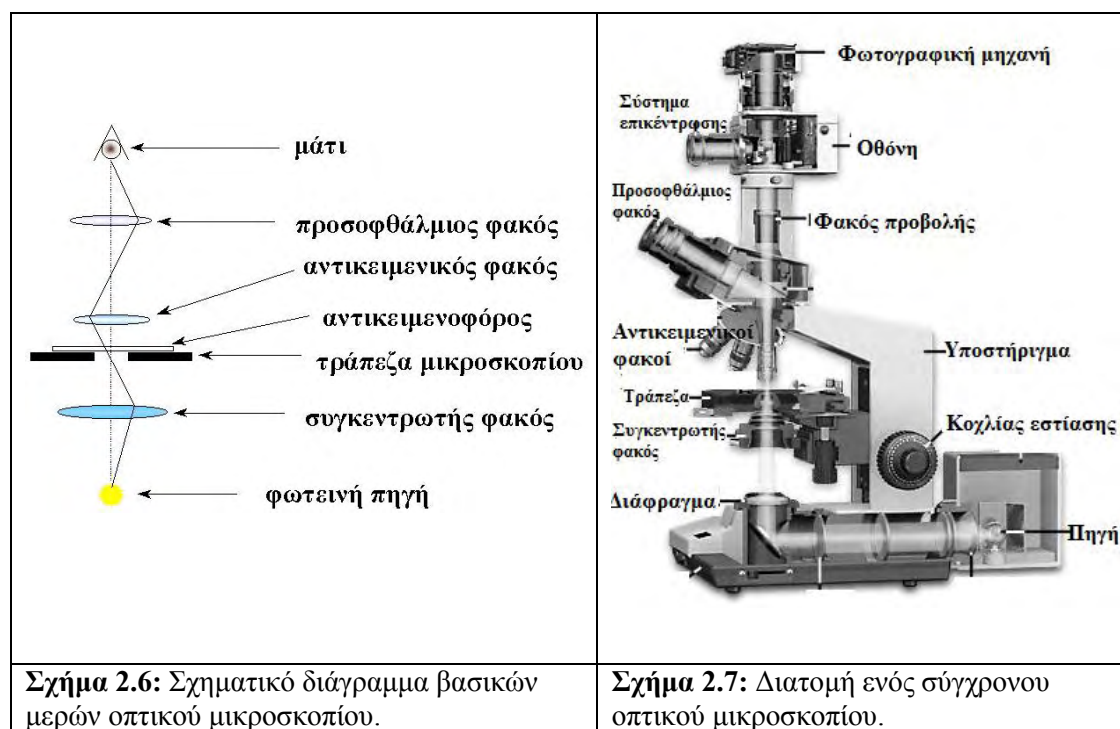
Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων ακολουθεί η οπτική εξέταση από τον παθολογοανατόμο γιατρό σε οπτικό μικροσκόπιο. Η διασύνδεση του οπτικού

μικροσκοπίου σε υπολογιστή επιτρέπει την λήψη ψηφιακών εικόνων σε επιλεγμένες περιοχές ενδιαφέροντος για αποθήκευση και περαιτέρω χρήση.

2.5. Οπτικό μικροσκόπιο

Από τις πρώτες εφαρμογές του οπτικού μικροσκοπίου ήταν στο πεδίο της παθολογοανατομίας. Με την σημαντική ανάπτυξη της τεχνολογίας του οπτικού μικροσκοπίου την τελευταία εικοσαετία και την πτώση τις τιμές του, έχει πλέον καταστεί βασικός και απαραίτητος εξοπλισμός σε όλα τα παθολογοανατομικά εργαστήρια [31]. Στα περισσότερα, το μικροσκόπιο συνδέεται μέσω ενός ψηφιοποιητή εικόνων με έναν υπολογιστή, όπου οι εικόνες του ασθενούς μπορούν να αποθηκευτούν για περαιτέρω ανάλυση.

Ο κύριος σκοπός του οπτικού μικροσκοπίου είναι η μεγέθυνση του δείγματος βιοψίας ώστε οι λεπτομέρειες του κυττάρου και των πυρήνων του κυττάρου να καταστούν ορατές με καλή χωρική και αντιθετική ευκρίνεια [32]. Το σύγχρονο σύστημα οπτικού μικροσκοπίου αποτελείται από οπτικά, μηχανικά και ηλεκτρονικά μέρη. Στο **Σχήμα 2.6** φαίνονται τα βασικά μέρη του μικροσκοπίου η φωτεινή πηγή, οι φακοί, η τράπεζα και στο **Σχήμα 2.7** φαίνεται μία διατομή ενός σύγχρονου μικροσκοπίου.



Η φωτεινή πηγή του μικροσκοπίου είναι λάμπα πυρακτώσεως βολφραμίου-αλογόνου και προβάλλει φώς μέσω του συγκεντρωτή φακού. Το δείγμα βιοψίας τοποθετείται σε ειδική συσκευασία καλυπτρίδας (πλακάκια) επί της τράπεζας και μπορεί να μετατοπιστεί σε σχέση με τον φακό προς διάφορες κατευθύνσεις επί του επιπέδου της τράπεζας μέσω ενός κοχλία ελέγχου.

Η περιστρεφόμενη κεφαλή με τους αντικειμενικούς φακούς, οι οποίοι επηρεάζουν την ποιότητα της εικόνας, όπως είναι η ευκρίνεια, η μεγέθυνση, η επικέντρωση. Συνήθεις μεγεθύνσεις είναι 10x, 20x, 40x, 100x.

Η ευκρίνεια ορίζεται ως:

$$R = 1.22 \frac{\lambda}{NA_{obj} + NA_{cond}} \quad (2.1)$$

Όπου λ είναι το μήκος κύματος του φωτός, NA_{obj} , NA_{cond} είναι το διάφραγμα του αντικειμενικού φακού και του συγκεντρωτή φακού. Συνήθως η ανάλυση (resolution) είναι της τάξης του μικρού (μm) του μέτρου.

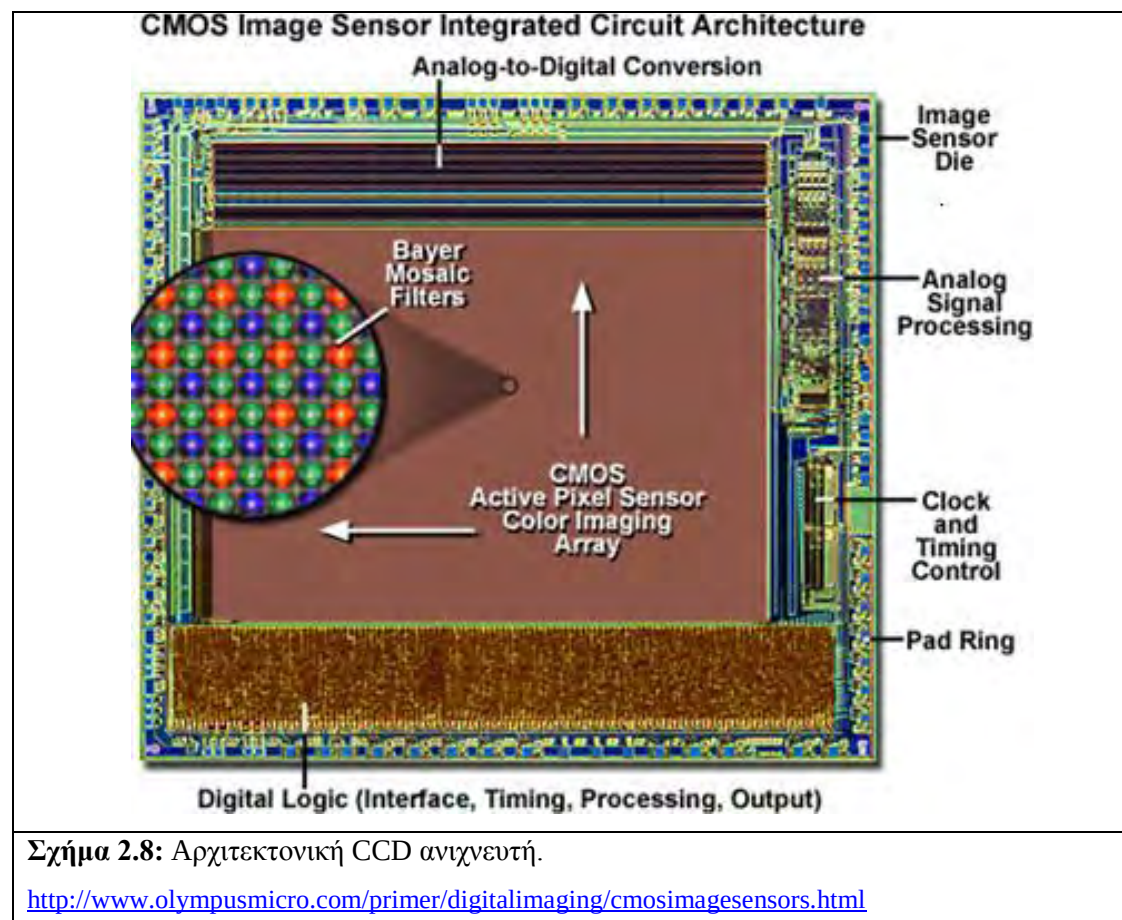
Ο στόχος των φακών είναι η λήψη του φωτός διαμέσου του δείγματος βιοψίας, η αναστροφή του ειδώλου, και η προβολή του προς το υπόλοιπο μέρος του μικροσκοπίου. Ένα άλλο σημαντικό μέγεθος είναι το εστιακό μήκος, που ορίζεται ως το διάστημα μεταξύ του φακού και του επιπέδου εστίασης. Ένα τρίτο μέγεθος είναι το διάφραγμα, που ορίζεται ως $NA = n \sin(\theta)$, όπου n ο δείκτης διάθλασης μεταξύ του αντικειμενικού φακού και του γυαλιού της καλυπτρίδας του δείγματος βιοψίας και θ είναι το ήμισυ της γωνίας του φωτεινού κώνου που προσπίπτει στον φακό.

Ο προσοφθάλμιος φακός μπορεί να είναι μονός ή διπλός για περισσότερη άνετη παρατήρηση. Επίσης, μπορεί να επιφέρει μεγέθυνση μεγέθους 10x ή και 15x, που επηρεάζει την τελική μεγέθυνση, η οποία είναι το γινόμενο της μεγέθυνσης του αντικειμενικού φακού επί τη μεγέθυνση του προσοφθάλμιου φακού.

2.6. Λήψη ψηφιακών εικόνων

Για την λήψη ιστοπαθολογικής εικόνας σε ψηφιακή μορφή, έγινε διασύνδεση του οπτικού μικροσκοπίου σε υπολογιστή μέσω κατάλληλου υλικού και λογισμικού για

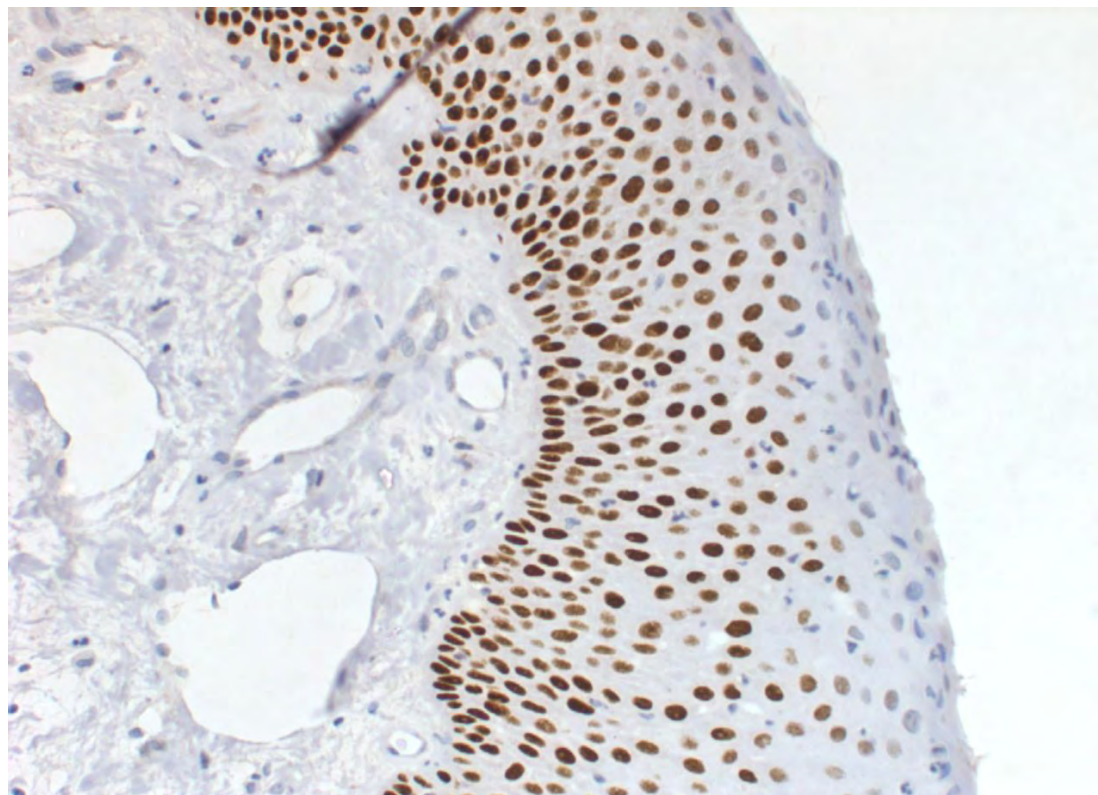
αυτόματη ρύθμιση στοιχείων της εικόνας, ψηφιοποίηση της εικόνας, και μεταφορά της στον προσαρτημένο στο μικροσκόπιο υπολογιστή. Αυτή η διαδικασία προϋποθέτει την ύπαρξη ενός ψηφιακού ανιχνευτή φωτός και την διασύνδεση του οπτικού μικροσκοπίου σε υπολογιστή. Ένας τυπικός ψηφιακός ανιχνευτής φωτός τύπου CCD (Charge Couple Device) προσλαμβάνει το οπτικό φάσμα που διέρχεται μέσα από το εξεταζόμενο δείγμα και το ψηφιοποιεί. Το φως αντιδρά με την φωτοευαίσθητη επιφάνεια (CMOS, complementary metal oxide semiconductors) και μετατρέπεται σε ηλεκτρικό φορτίο, ανάλογο με την ένταση του προσπίπτοντος φωτός, το οποίο ψηφιοποιείται και αποθηκεύεται μαζί με την πληροφορία της θέσης του επί του πλέγματος του ανιχνευτή. Στο **Σχήμα 2.8** παρουσιάζεται η αρχιτεκτονική ενός CCD ανιχνευτή και στο **Σχήμα 2.9** παρουσιάζεται το σύστημα μικροσκοπίου-ψηφιακής κάμερας-υπολογιστή που χρησιμοποιήθηκε για το πειραματικό μέρος της διδακτορικής διατριβής.



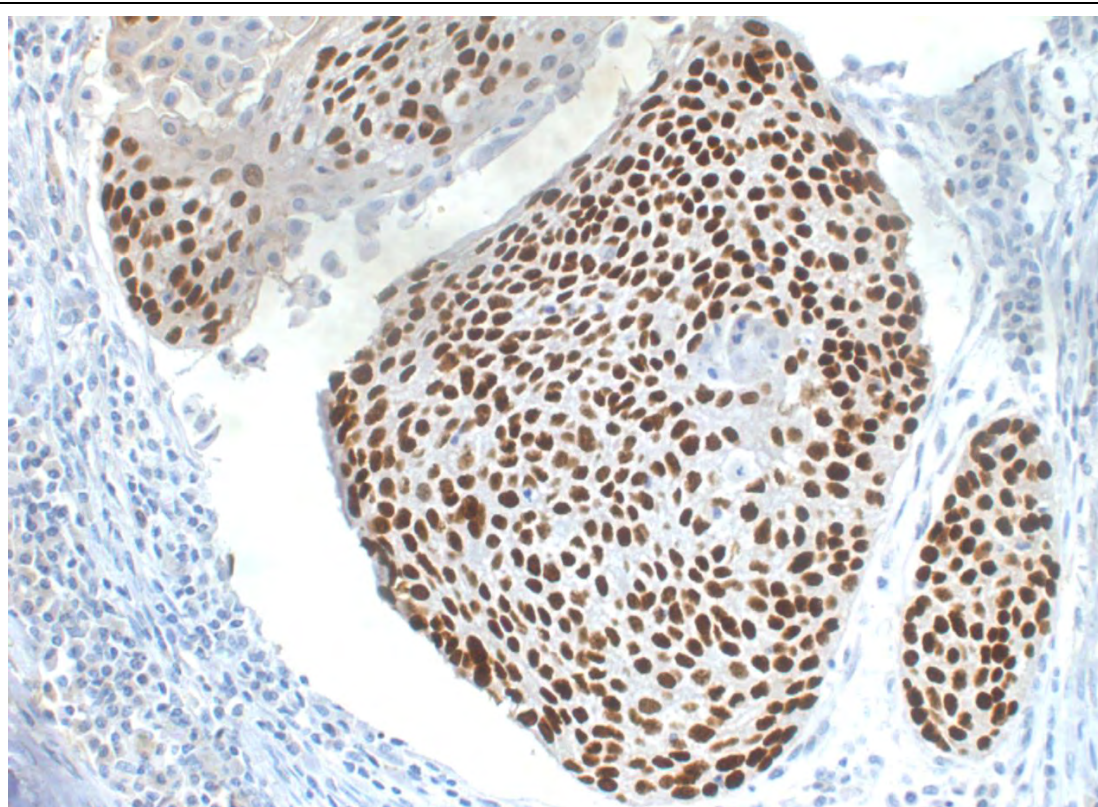


Σχήμα 2.9: Σύστημα μικροσκοπίου - ψηφιακής κάμερας - υπολογιστή.

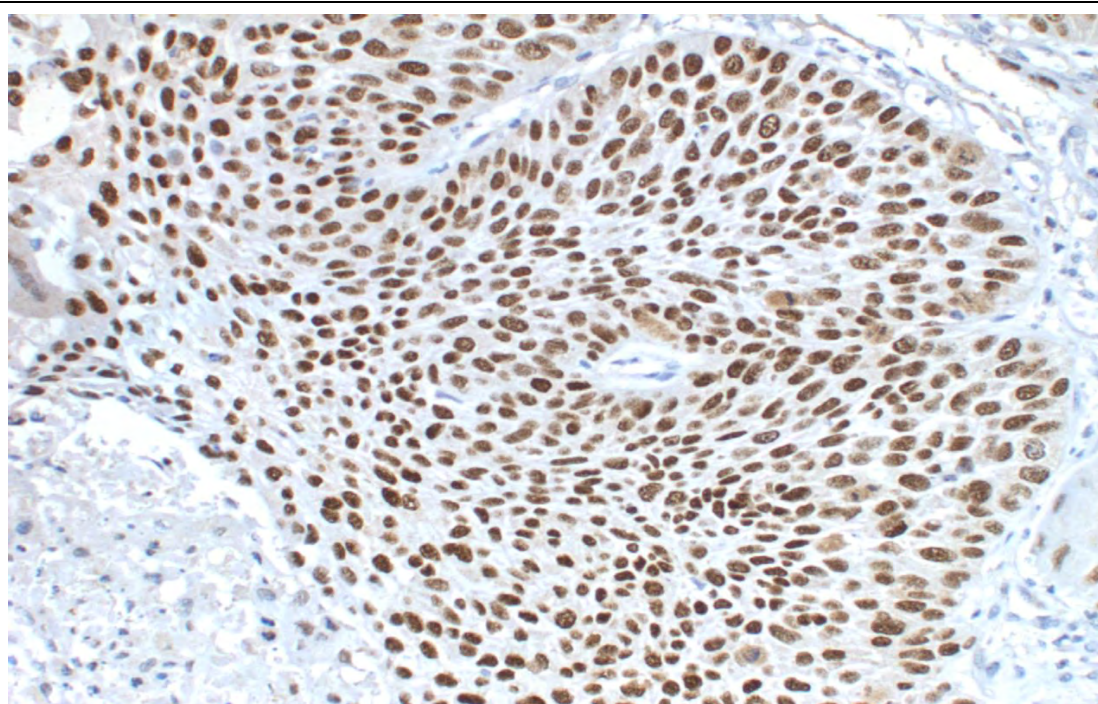
Ακολούθως, δίνονται αντιπροσωπευτικές εικόνες καρκίνου του λάρυγγα με P63 χρώση, χαμηλού, μεσαίου και υψηλού βαθμού κακοήθειας.



Σχήμα 2.10: Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, χαμηλού βαθμού κακοήθειας (grade I).



Σχήμα 2.11: Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, μεσαίου βαθμού κακοήθειας (grade II).



Σχήμα 2.12: Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, υψηλού βαθμού κακοήθειας (grade III).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - Επεξεργασία ιστοπαθολογικής εικόνας καρκίνου του λάρυγγα με ανοσοϊστοχημική χρώση P63

3.1. Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο περιγράφονται αναλυτικά οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία της ιστοπαθολογικής εικόνας με στόχο τον εντοπισμό των πυρήνων εντός του κυττάρου, και ιδίως αυτών που έχουν εκφραστεί με την ανοσοϊστοχημική χρώση p63. Περιγράφονται δύο δόκιμες μεθοδολογίες τμηματοποίησης εικόνας. Η πρώτη βασίζεται στην μετατροπή της έγχρωμης RGB εικόνας σε εικόνα τόνων γκρι, την κατάλληλη επεξεργασία της εικόνας-γκρι με ψηφιακό φίλτρο Laplacian of Gaussian, για την καλύτερη ανάδειξη των πυρήνων σε σχέση με τον περιβάλλοντα ιστό, την εφαρμογή της μεθόδου Canny, για την εύρεση των παρυφών των πυρήνων της εικόνας, την εφαρμογή μορφολογικών φίλτρων για την καταστολή του δομικού θορύβου, την εξομάλυνση των περιγραμμάτων των πυρήνων και την μετατροπή της εικόνας σε δυαδική, με άσπρους τους p63-εκφρασμένους πυρήνες και μαύρο το περιβάλλον, και τέλος τον συνδυασμό της αρχικής έγχρωμης RGB-εικόνας με την δυαδική μέσω μίας λογικής AND πράξης, ώστε να προκύψει η RGB εικόνα με κυρίως τους p63-εκφρασμένους πυρήνες. Κατά την δεύτερη μεθοδολογία τμηματοποίησης εικόνας, η έγχρωμη κλίμακας RGB εικόνα μετασχηματίστηκε σε κλίμακα $L^*a^*b^*$. Το πλεονέκτημα της $L^*a^*b^*$ έναντι της RGB είναι ότι η $L^*a^*b^*$ διαθέτει μεγαλύτερη ευαισθησία επειδή περιλαμβάνει μεγαλύτερο εύρος χρωμάτων από την RGB. Ακολούθησε επί της $L^*a^*b^*$ εικόνας μία επεξεργασία μη-εποπτευόμενης ταξινόμησης με βάση τον αλγόριθμο Fuzzy-c-means, για τον διαχωρισμό των pixels σε 3 κλάσεις, στους εκφρασμένους πυρήνες (καφέ απόχρωση), στους μη-εκφρασμένους πυρήνες (απόχρωση γαλάζια) και στο παρέγχυμα του κυττάρου (απόχρωση λευκή). Επί της εικόνας με τους εκφρασμένους πυρήνες, εφαρμόστηκαν μορφολογικά φίλτρα ως προηγουμένως, για τον τελικό σχηματισμό της τελικής τμηματοποιημένης εικόνας, που περιέχει μόνο τους εκφρασμένους πυρήνες.

3.2. Επεξεργασία ιστοπαθολογικής εικόνας

Η επεξεργασία της ιστοπαθολογικής εικόνας αποσκοπεί στην κατάλληλη μετατροπή της εικόνας, μέσω της εφαρμογής φίλτρων και τρόπου απεικόνισης, έτσι ώστε να διευκολυνθεί η τμηματοποίησή της σε μη-επικαλυπτόμενα τμήματα, όπως είναι οι πυρήνες του κυττάρου και ο περιβάλλον αυτους ιστός. Οι πυρήνες είναι η περιοχή ενδιαφέροντος που εστιάζεται η παρούσα διατριβή, επειδή η υφή τους, το σχήμα τους, και η χωρική διασπορά τους, περιέχουν χρήσιμη πληροφορία στο χαρακτηρισμό της φύσης των αλλοιώσεων του λάρυγγα. Το πρώτο μέρος της τμηματοποίησης είναι η μετατροπή της εικόνας σε δυαδική μορφή, με εφαρμογή μεθόδου κατωφλίου, όπου οι πυρήνες εμφανίζονται άσπροι και το περιβάλλον μαύρο. Η μεθοδολογία τμηματοποίησης για ανίχνευση των πυρήνων περιγράφεται αναλυτικά ακολούθως. Περιλαμβάνει τα στάδια: α) της μετατροπής της ιστοπαθολογικής εικόνας από rgb σε κλίμακα γκρι, β) το φιλτράρισμα της εικόνας ώστε να αναδειχθούν καλύτερα οι παρυφές των πυρήνων, γ) την εφαρμογή μορφολογικών φίλτρων για εντοπισμό των πυρήνων, δ) την δημιουργία μίας νέας εικόνας από την λογική πράξη AND της δυαδικής εικόνας με την αρχική rgb εικόνα ώστε να απεικονίζονται κυρίως οι εκφρασμένοι πυρήνες χρώματος καφέ και ε) την εύρεση και καταμέτρηση των αντικειμένων/πυρήνων, με στόχο την εξαγωγή χαρακτηριστικών από την υφή, παρυφή, σχήμα, μορφολογία, κάθε πυρήνα και την διασπορά των πυρήνων στο κύτταρο.

3.2.1. Μετατροπή έγχρωμης εικόνας (rgb) σε εικόνα τόνων του γκρι

Το πρώτο στάδιο της τμηματοποίησης της εικόνας περιλαμβάνει την μετατροπή της έγχρωμης εικόνας σε κλίμακα του γκρι. Η έγχρωμη εικόνα προκύπτει από συνδυασμό των 256 αποχρώσεων του κόκκινου, πράσινου και μπλε. Έτσι το χρώμα κάθε pixel σχηματίζεται από συνδυασμό τριών τιμών του r, g, και b. Το καθαρό κόκκινο είναι ο συνδυασμός (255,0,0), το πράσινο είναι (0,255,0) και το μπλε είναι (0,0,255). Αποχρώσεις των καθαρών χρωμάτων rgb σχηματίζονται μεταβάλλοντας τους αριθμούς της κλίμακας μεταξύ 0-255. Έτσι το (128,0,0) είναι το μέτριας έντασης κόκκινο. Παρόμοια ισχύει και για τα άλλα χρώματα g και b. Συνδυασμοί αποχρώσεων των τριών χρωμάτων (X,Y,X) δημιουργούν τα χρώματα των pixels της εικόνας. Συγκεκριμένα για την δημιουργία των γκρι αποχρώσεων, πρέπει οι τιμές των

θέσεων rgb να έχουν τις ίδιες τιμές, μεταβαλλόμενες μεταξύ του μαύρου (0,0,0) και του άσπρου (255,255,255).

Η μετατροπή σε κλίμακα του γκρι προϋποθέτει τον υπολογισμό ενός αριθμού, τιμής μεταξύ 0 και 255, από κατάλληλο συνδυασμό των τιμών rgb του κάθε pixel. Υπάρχουν τρεις διαφορετικοί τύποι υπολογισμού της αντίστοιχης τιμής του γκρι.

Κατά την μέθοδο **lightness**, υπολογίζεται από την μέση τιμή της μέγιστης και ελάχιστης τιμής των rgb-τιμών του κάθε pixel, ως ακολούθως:

$$grayvalue = round\left(\frac{\min(r, g, b) + \max(r, g, b)}{2}\right) \quad (3.1)$$

Όπου η συνάρτηση $\min(r, g, b)$ επιλέγει την ελάχιστη τιμή και η συνάρτηση $\max(r, g, b)$ την μέγιστη τιμή των τιμών rgb του συγκεκριμένου pixel. Η *round* είναι συνάρτηση Matlab που χρησιμοποιείται για εύρεση του πλησιέστερου ακέραιου, επειδή η γκρι εικόνα που θα προκύψει πρέπει να έχει ακέραιες τιμές, που είναι προαπαιτούμενο για εικόνες.

Κατά την μέθοδο **average**, υπολογίζεται ο μέσος όρος των τιμών των τριών χρωμάτων, ως ακολούθως:

$$grayvalue = round\left(\frac{r + g + b}{3}\right) \quad (3.2)$$

Κατά την μέθοδο **luminosity**, σχηματίζεται ένα σταθμισμένο άθροισμα των rgb τιμών, που οι συντελεστές στάθμισης έχουν ευρεθεί με βάση την ανθρώπινη αντίληψη της απεικόνισης. Το ανθρώπινο οπτικό σύστημα είναι περισσότερο ευαίσθητο στο πράσινο (0.5870), λιγότερο στο κόκκινο (0.2989) και ακόμα λιγότερο στο μπλε (0.114).

$$0.2989 * r + 0.5870 * g + 0.1140 * b \quad (3.3)$$

Η **luminosity** είναι η μέθοδος επιλογής σε πολλές περιπτώσεις επειδή οι άλλες δύο μέθοδοι βασίζονται σε μέσες τιμές, τείνουν να μειώνουν το κοντράστ της παραγόμενης γκρι εικόνας.

Ένας αλγόριθμος υπολογισμού της luminosity δίνεται ακολούθως:

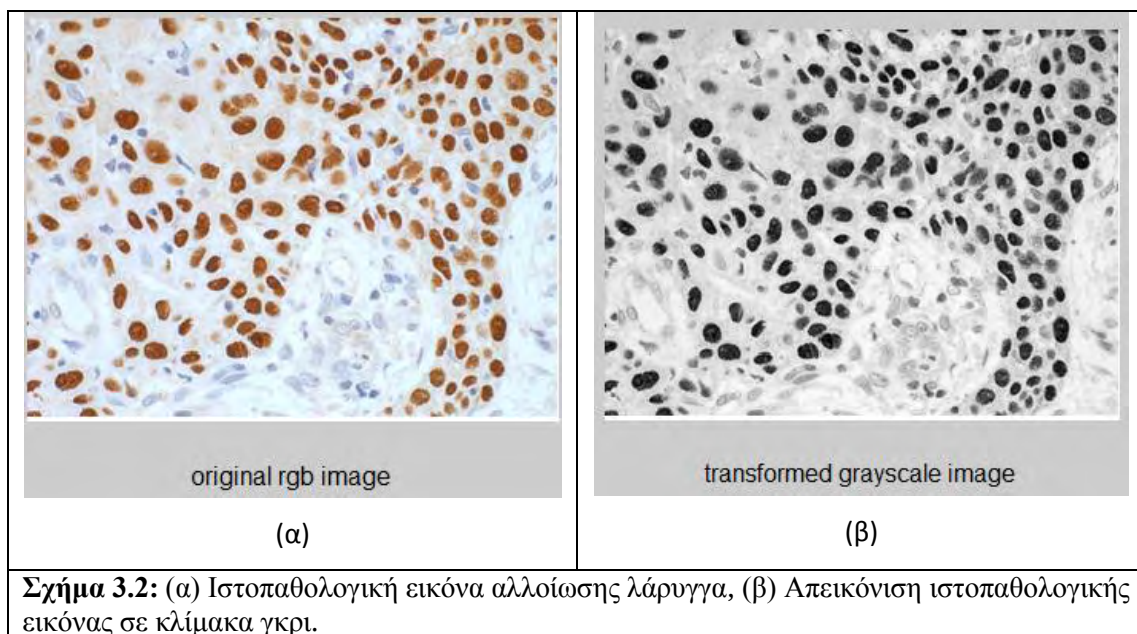
```

function [imGRAY] = rgbTogray(imRGB)
imRGB = double(im); %convert to double for processing
[M,N,Z] = size(imRGB); %get size of image
imGRAY = zeros(M,N); %initialize grayscale image
%convert rgb image to gray scale image
for j = 1 : N
    for i = 1 : M
        imGRAY(i,j) = 0.29 * imRGB(i,j,1) + ...
            0.59 * imRGB(i,j,2) + 0.11 * imRGB(i,j,3);
    end
end
end

```

Σχήμα 3.1: Συνάρτηση για μετατροπή έγχρωμης εικόνας σε γκρι εικόνα.

Και το αποτέλεσμα της μετατροπής από έγχρωμη rgb εικόνα σε εικόνα γκρι δίνεται ακολούθως:



3.3. Φιλτράρισμα εικόνας

Το φιλτράρισμα της εικόνας έχει ως στόχο την επεξεργασία της μήτρας της γκρι ψηφιακής εικόνας ώστε να προκύψει μία εικόνα που να διευκολύνει τον εντοπισμό των πυρήνων της εικόνας. Το φιλτράρισμα στο πεδίο του χώρου επιτελείται με τη σχέση της συνέλιξης ενός φίλτρου $h_f(k,l)$ με την μήτρα της εικόνας $x(i,j)$, με βάση την ακόλουθη σχέση:

$$y(i, j) = \sum_{l=-\frac{L-1}{2}}^{\frac{L-1}{2}} \sum_{k=-\frac{K-1}{2}}^{\frac{K-1}{2}} x(i-l, j-k) h_f(l, k) \quad (3.4)$$

όπου l, k είναι οι μεταβλητές τοπικής ολίσθησης της μήτρας του φίλτρου, L, K (συνήθως $K=L$) είναι οι διαστάσεις του φίλτρου, $i=1,2,\dots,M$, $j=1,2,\dots,N$ είναι οι μεταβλητές χώρου της εικόνας, και $M \times N$ είναι οι διαστάσεις της εικόνας.

Το φίλτρο που χρησιμοποιείται είναι το *Laplacian of Gaussian* (LoG filter) φίλτρο και είναι ένας συνδυασμός επεξεργασίας της εικόνας πρώτα από ένα *Gaussian* χαμηλοπερατό φίλτρο, που χρησιμοποιείται για να καταστείλει τις υψηλές συχνότητες της εικόνας με θόρυβο, ακολουθούμενο από ένα υψηλοπερατό φίλτρο, το *Laplacian*, ώστε να αναδειχθούν καλύτερα οι παρυφές των πυρήνων χωρίς να αλλοιωθούν από την ενίσχυση του θορύβου που επιφέρει το *Laplacian*. Ο συνδυασμός των δύο φίλτρων δίνεται από την ακόλουθη σχέση:

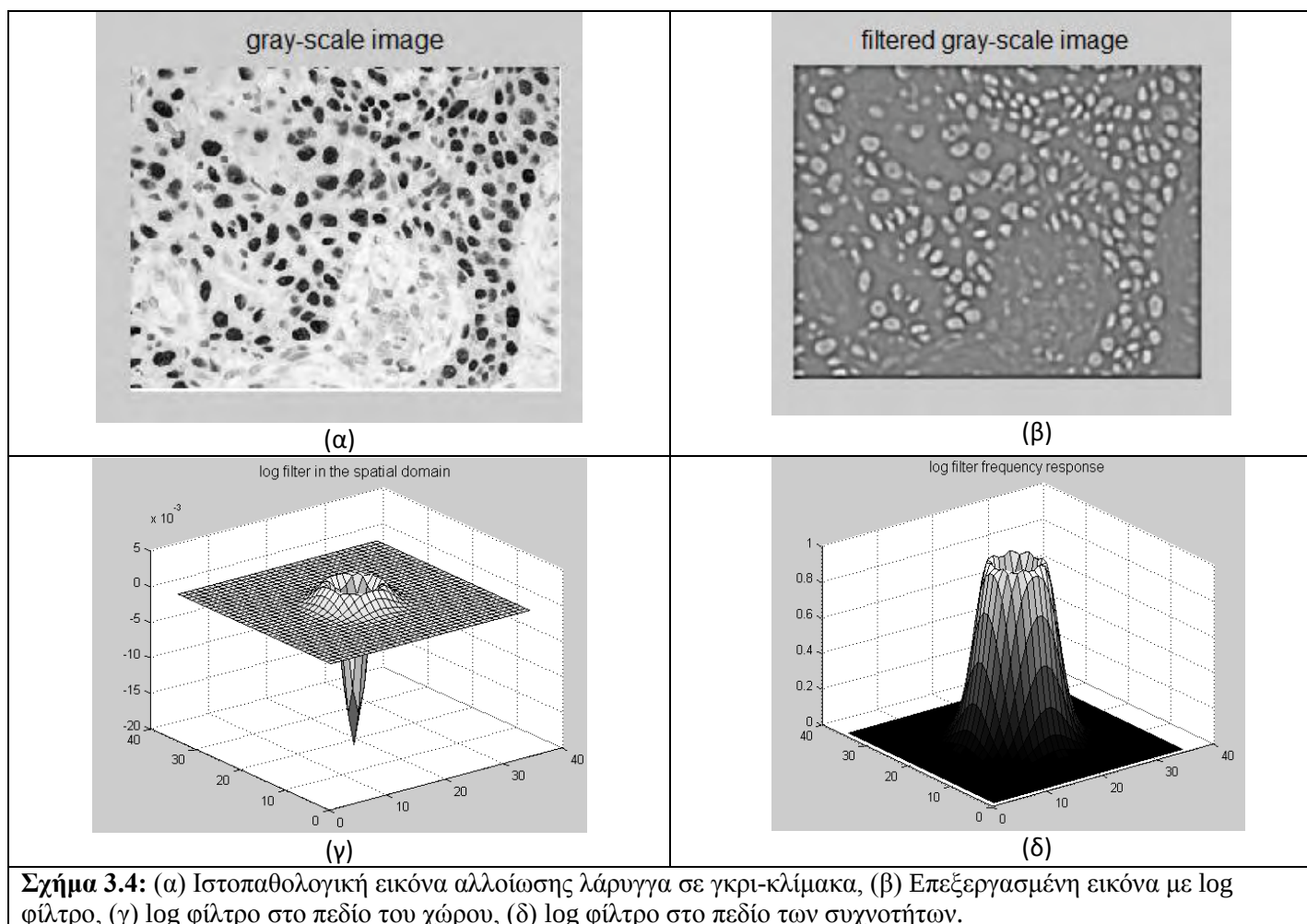
$$h(l, k) = -\frac{1}{\pi\sigma^4} \left[1 - \frac{l^2 + k^2}{2\sigma^2} \right] e^{-\frac{l^2 + k^2}{2\sigma^2}} \quad (3.5)$$

όπου $\sigma=4$. Ακολούθως δίνεται ο αλγόριθμος υπολογισμού του log φίλτρου.

```
function [zz]=logFilter(len,sigma)
%calculate Log Filter
ii=0;L=len;
for i=-L:L
    ii=ii+1;jj=0;
    for j=-L:L
        jj=jj+1;
        z(ii,jj)=(-1/(pi*sigma^4))*(1-(i^2+j^2)/(2*sigma^2))*exp(-(i^2+j^2)/(2*sigma^2));
    end
end
```

Σχήμα 3.3: Αλγόριθμος υπολογισμού LoG (Laplacian-of-Gaussian) φίλτρου.

Στο **Σχήμα 3.4** που ακολουθεί απεικονίζεται το αποτέλεσμα του φίλτρου επί της γκρι εικόνας του καρκίνου του λάρυγγα καθώς και το log φίλτρο, στο πεδίο του χώρου και στο πεδίο των συχνοτήτων.



3.3.1. Μέθοδος Canny για εντοπισμό παρυφών πυρήνων

Μία αρχική προσέγγιση τμηματοποίησης της εικόνας είναι η εφαρμογή της μεθόδου **Canny** επί της φιλτραρισμένης εικόνας (βλ. **Σχήμα 3.7** - **Σχήμα 3.10**), με στόχο την εύρεση ακμών στην εικόνα. Η μέθοδος Canny είναι μία σύνθετη και πολύ αποτελεσματική επεξεργασία, αποτελείται από επιμέρους φίλτρα ανίχνευσης ακμών και περιγράφεται συνοπτικά ακολούθως:

1) Εφαρμογή της πρώτης παραγώγου του Gaussian φίλτρου οριζόντια (G_x φίλτρο) και κάθετα (G_y φίλτρο), δημιουργώντας έτσι μία εικόνα ακμών κάθετων (G_x εικόνα) και μία οριζόντιων ακμών (G_y εικόνα), αντίστοιχα, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 3.7** και **Σχήμα 3.8**.

Ο αλγόριθμος παραγωγής των G_x και G_y φίλτρων δίνεται ακολούθως:

```

function [dFg]=drvGauss(len,sigma,flag)
%computes the derivative Gaussian filter
%len is the size of the filter(1-d square filter), sigma is the
%standard deviation and flag is the direction, 0 degrees for X
%direction and 90 degrees for Y direction, dFg is the calculated 2-d
%derivative Gaussian filter
xc=round(len/2);yc=round(len/2);
amp = 1 / (sqrt(2*pi));
fG=gaussianFilt(len+1,sigma);
for i=1:len
    for j=1:len
        val= ((i-xc).^2 + (j-yc).^2)./(2*sigma^2);
        fG(i,j)=amp * exp(-val);
        switch flag
            case 0
                dFg(i,j)=fG(i,j+1)-fG(i,j);
            case 90
                dFg(j,i)=fG(j+1,i)-fG(j,i);
        end
    end
end
end
%=====
function [fG]=gaussianFilt(len,sigma)
%calculates the Gaussian filter, len is the size of filter (1-d) and
%sigma the standard deviation
xc=round(len/2);yc=round(len/2);
amp = 1 / (sqrt(2*pi));
for i=1:len
    for j=1:len
        val= ((i-xc).^2 + (j-yc).^2)./(2*sigma^2);
        fG(i,j)=amp * exp(-val);
    end
end
end

```

Σχήμα 3.5: Συνάρτηση drvGauss για υπολογισμό της 1^{ης} παραγώγου φίλτρων κατά 0 και 90 μοίρες.

2) Συνδυάζοντας τις Gx και Gy δημιουργείται η εικόνα $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 3.6**. Ο αλγόριθμος δίνεται ακολούθως:

```

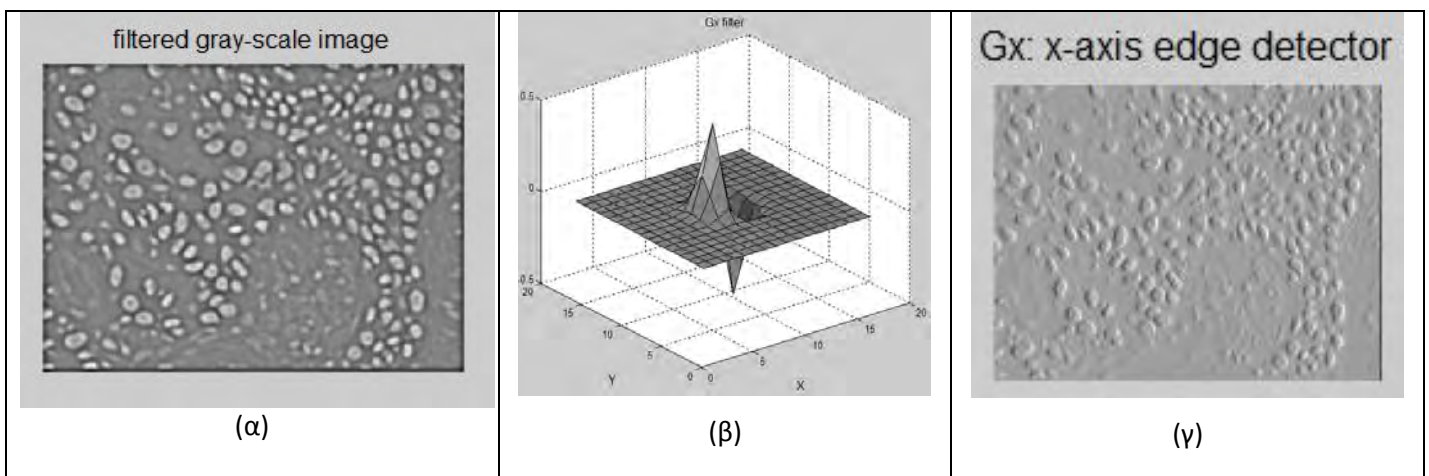
function [G]=normG(Gx,Gy)
%calculates the norm G=sqrt(Gx^2+Gy^2). Gx and Gy are derivative
%images along X and Y axes
for j=1:size(Gx,2)
    for i=1:size(Gx,1)
        v=Gx(i,j)^2+Gy(i,j)^2;
        G(i,j)=sqrt(v);
    end
end
end

```

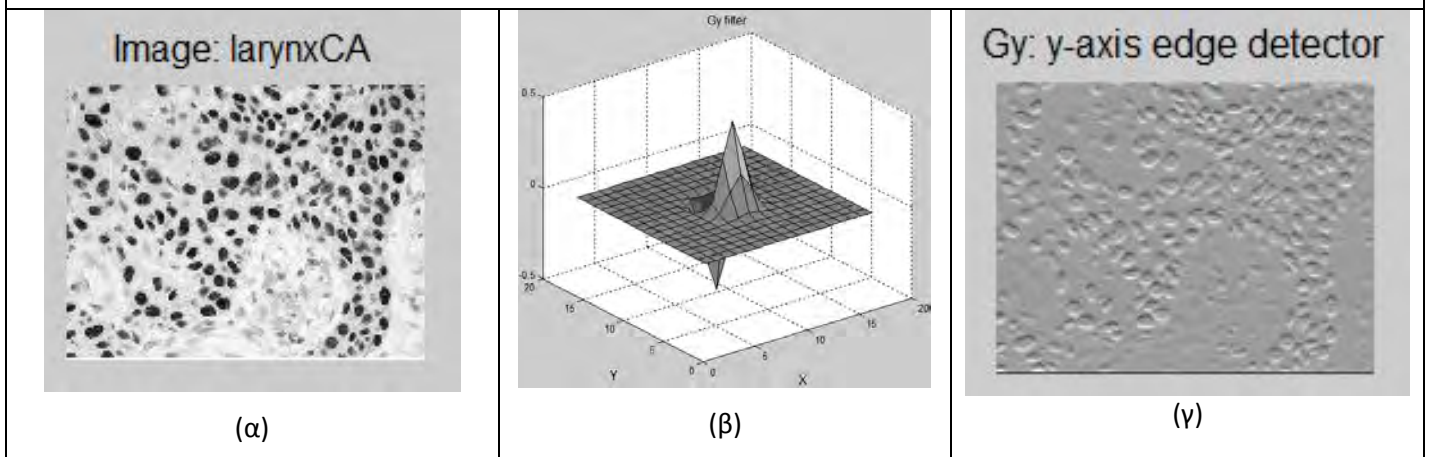
Σχήμα 3.6: Συνάρτηση για υπολογισμό της $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$

3) Κατωφλίωση: Η μέθοδος επεξεργάζεται την εικόνα G, χρησιμοποιώντας δύο κατώφλια για την ανίχνευση «έντονων» και «ισχνών» ακμών, διατηρεί τα «έντονα»

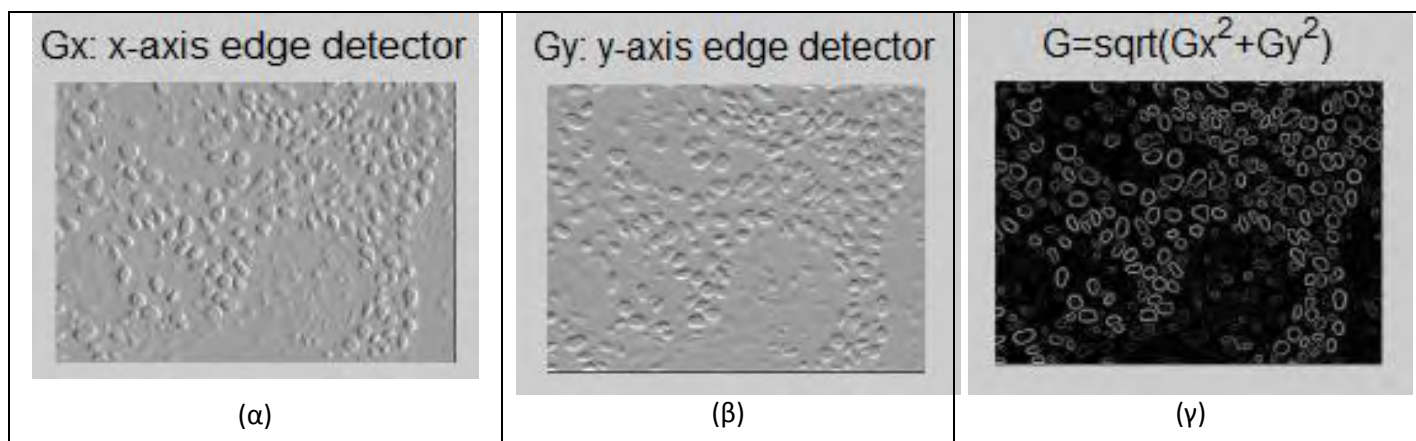
κατώφλια καθώς και εκείνα των «ισχυρών» τα οποία συνδέονται με «ισχυρά» κατώφλια. Το αποτέλεσμα φαίνεται στο **Σχήμα 3.10**, όπου απεικονίζονται το αποτέλεσμα της σταδιακής επεξεργασίας της εικόνας με την Canny μέθοδο: μετά τον υπολογισμό της εικόνας G , πραγματοποιείται επί της G η κατωφλίωση, όπου γίνεται ορατή η εξάλειψη σχηματισμών με χαμηλή ένταση και η διατήρηση των σχηματισμών με υψηλή ένταση, που ανταποκρίνονται σαφώς στις παρυφές των πυρήνων.



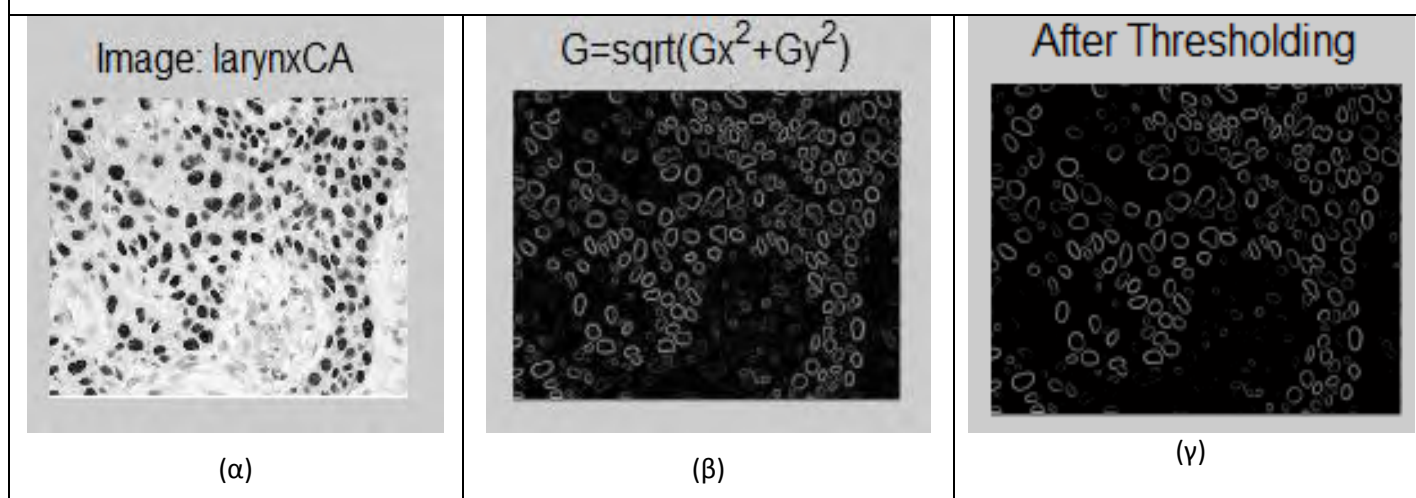
Σχήμα 3.7: (α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Φίλτρο πρώτης παραγώγου Gaussian οριζόντια, (γ) Επεξεργασμένη εικόνα G_x .



Σχήμα 3.8: (α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Φίλτρο πρώτης παραγώγου Gaussian κάθετα, (γ) Επεξεργασμένη εικόνα G_y .



Σχήμα 3.9: (α) Επεξεργασμένη εικόνα G_x , (β) Επεξεργασμένη εικόνα G_y , (γ) Επεξεργασμένη εικόνα $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$



Σχήμα 3.10: (α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Επεξεργασμένη εικόνα $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$, (γ) Εικόνα με κατωφλίωση της (β).

3.4. Μορφολογικά φίλτρα για εντοπισμό πυρήνων

Περαιτέρω, εφαρμόζονται επί της εικόνας μορφολογικά φίλτρα για την εξάλειψη του θορύβου, που παρουσιάζεται εν είδη μικρών άσπρων σχηματισμών, και για την εξομάλυνση της παρυφής των πυρήνων. Ο θόρυβος είναι δομικός, δηλαδή εναπομείναντες μικροσχηματισμοί από την εφαρμογή της επεξεργασίας Canny. Τα μορφολογικά φίλτρα λειτουργούν με βάση μια μικρή δομή, όπως π.χ ένας μικρός κύκλος, ένα τετράγωνο, μια έλλειψη, ένας επίπεδος δίσκος κ.ά., προσπαθούν να εντοπίσουν παρόμοιες δομές στην εικόνα, όπως είναι οι πυρήνες του κυττάρου. Υπάρχουν δύο βασικές λειτουργίες, η *dilation* (διαστολή) και η *erosion* (συστολή ή

συρρίκνωση) [37] και συνδυασμός αυτών των δύο δημιουργεί τα μορφολογικά φίλτρα για τον εντοπισμό των πυρήνων.

Κατά την **dilation**, οι παρυφές ή περιγράμματα των αντικειμένων (π.χ. πυρήνων) διαστέλλονται, η επιφάνειά τους διευρύνεται και τυχόν οπές εντός των πυρήνων συρρικνώνονται. Αντίθετα, κατά την **erosion**, οι διαστάσεις του περιγράμματος συρρικνώνονται, και οπές εντός της επιφάνειας των αντικειμένων διευρύνονται. Κατάλληλος συνδυασμός αυτών των μεθόδων δημιουργούν τις λειτουργίες *closing* (κλείσιμο των παρυφών των πυρήνων) με επακόλουθο το γέμισμα τυχόν οπών (fill holes) εντός των πυρήνων, και την *opening* για την αφαίρεση μικρότερων των πυρήνων αντικειμένων στην εικόνα.

Η *closing* είναι συνδυασμός της *dilation* (διαστολή) ακολουθούμενη από την *erosion* (συστολή) όπως στην ακόλουθη σχέση:

$$C(i, j) = [I(i, j) \oplus H(i, j)] \odot \tilde{H}(i, j) \quad (3.6)$$

όπου C είναι η εικόνα που προκύπτει, I είναι η αρχική δυαδική εικόνα, H είναι η μικρή δομή (π.χ. έλλειψη), τα σύμβολα $\odot$ και $\oplus$ υποδεικνύουν την συστολή (*erosion*) την διαστολή (*dilation*) αντίστοιχα, και το σύμβολο $\sim$ υποδεικνύει την “NOT” λογική πράξη. Με την συστολή θα κλείσουν τυχόν οπές διαστάσεων μικρότερων τις μικρής δομής και με την διαστολή θα επιστρέψει στις αρχικές διαστάσεις του πυρήνα χωρίς οπές (βλ. **Σχήμα 3.12(γ)**).

Ακολούθως δίνεται κώδικας για την επιλογή του μικρού αντικειμένου, με βάση τον οποίο πραγματοποιούνται οι πράξεις. Εδώ έχει επιλεγεί ένα μικρός επίπεδος δίσκος ακτίνας 1 pixel, που επελέγη μετά από πειραματισμό. Οι εντολές *imclose*, *imfill*, και *imopen* είναι συναρτήσεις του Matlab που αντιστοιχούν στις επεξεργασίες: συστολή, γέμισμα οπών, διαστολή. Το αποτέλεσμα της επεξεργασίας φαίνεται στα **Σχήματα 3.12(β-δ)**.

```

SE = strel('disk',1);           %create flat disc structuring element of radius 1
Iclose = imclose(im_LF_edge,SE); %morphological closing operation with structuring
figure;imshow(Iclose,[]);       %display resulting image

%element SE, i.e. the disc
Ifill = imfill(Iclose,'holes'); %morphological operation for filling holes in the image
figure;imshow(Ifill,[]);       %display resulting image

SE = strel('disk',2);           %create flat disc structuring element of radius 2
Iopen = imopen(Ifill,SE);       %performs opening operation with the structuring 'disk' element
figure;imshow(Ifill,[]);       %display resulting image

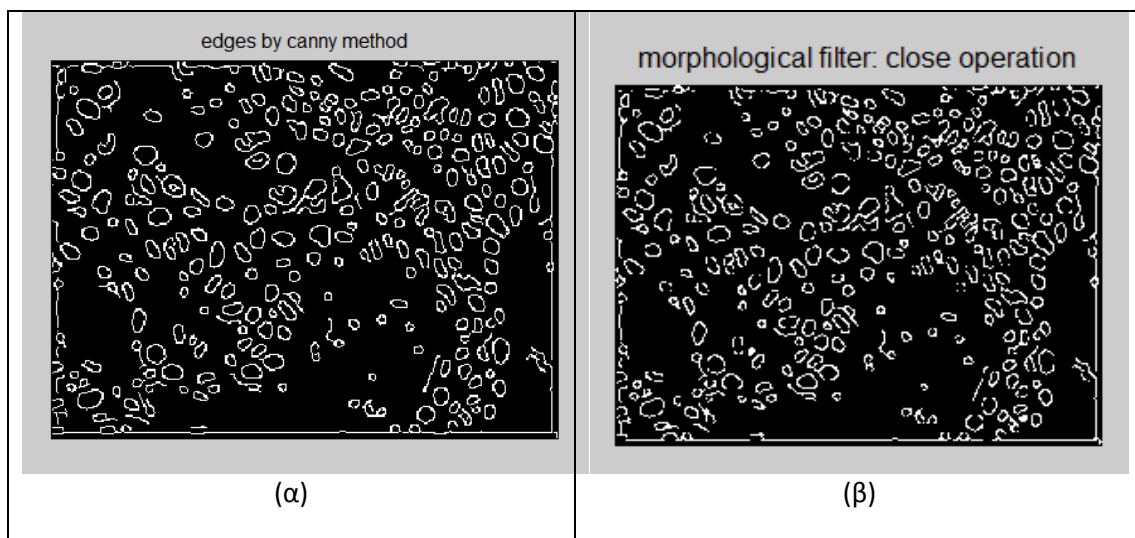
```

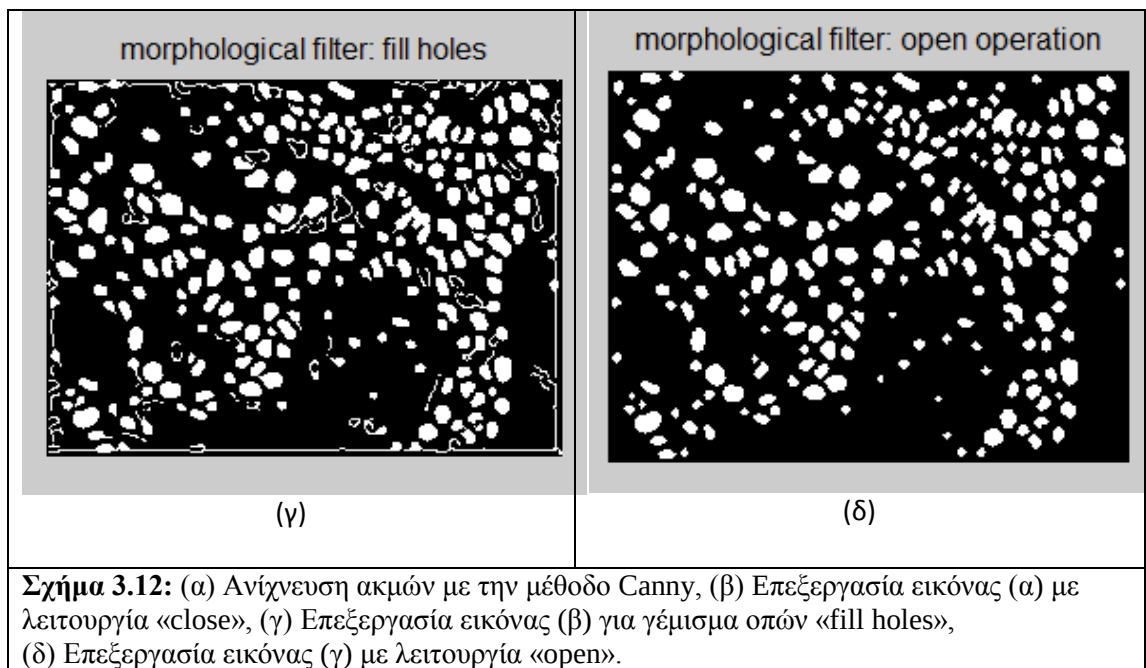
Σχήμα 3.11: Εντολές για επεξεργασία μορφολογικών φίλτρων με συναρτήσεις *Matlab open, fill holes* και *close*.

Η επεξεργασία opening, αποτελείται από συνδυασμό της συστολής (erosion) ακολουθούμενη από διαστολή (dilation) σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση:

$$O(i, j) = [I(i, j) \odot \tilde{H}(i, j)] \oplus H(i, j) \quad (3.7)$$

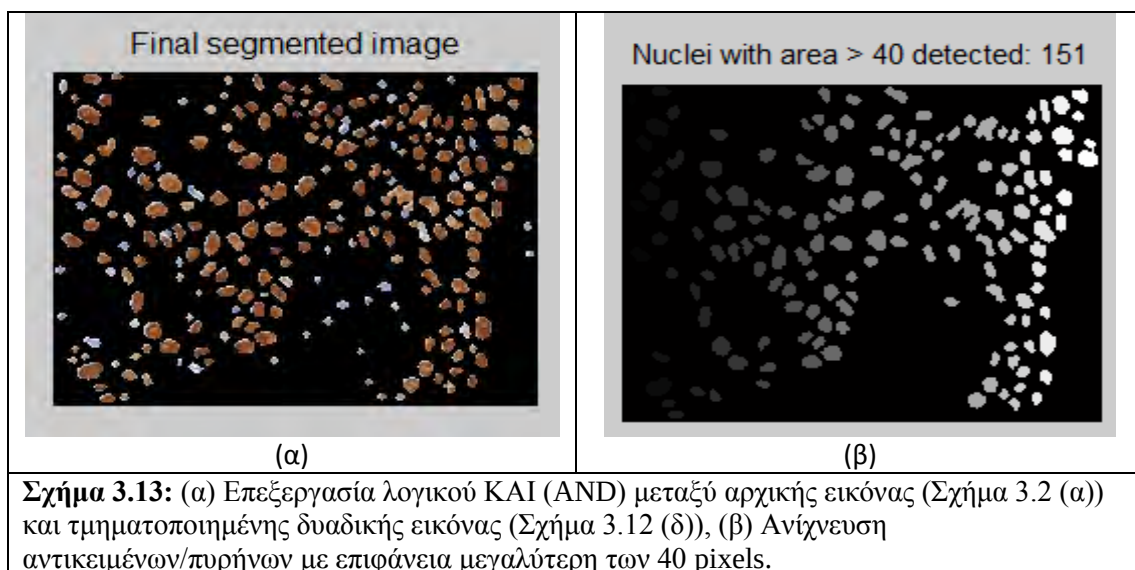
όπου O είναι η εικόνα που προκύπτει. Το αποτέλεσμα του opening φαίνεται στο Σχήμα 3.12(δ).





3.4.1. Εντοπισμός πυρήνων στην εικόνα

Το αποτέλεσμα των μορφολογικών φίλτρων είναι η δυαδική εικόνα, όπου οι πυρήνες έχουν εντοπιστεί και παρουσιάζονται ως άσπροι σχηματισμοί (**Σχήμα 3.12(δ)**). Συνδυάζοντας την αρχική έγχρωμη εικόνα με την δυαδική μέσω μίας λογικής AND πράξης, προκύπτει η εικόνα με κυρίως τους εκφρασμένους πυρήνες (βλ. **Σχήμα 3.13(α)**). Επί αυτής της εικόνας, αφαιρούνται σχηματισμοί μικρότεροι των 40 pixels (αυτό το μέγεθος μεταβάλλεται αν η ανάλυση της εικόνας διαφέρει) και προκύπτει η εικόνα του **Σχήματος 3.13(β)**, όπου έχουν ευρεθεί και καταμετρηθεί οι πυρήνες.



3.4.2. Τμηματοποίηση εικόνας με μη-εποπτευόμενη ταξινόμηση των pixels

Για την τμηματοποίηση της εικόνας εφαρμόστηκε επίσης μία διαφορετική μέθοδος, που χρησιμοποιεί πληροφορία από την χρώση των πυρήνων, περισσότερο ακριβής, που βασίζεται: 1) στον μετασχηματισμό της αρχικής RGB εικόνας σε κλίμακα $L^*a^*b^*$ [14], 2) στην εφαρμογή επί της $L^*a^*b^*$ εικόνας μίας επεξεργασίας μη-εποπτευόμενης ταξινόμησης, για τον διαχωρισμό των pixels σε 3 κλάσεις, στους εκφρασμένους πυρήνες (καφέ απόχρωση), στους μη-εκφρασμένους πυρήνες (απόχρωση γαλάζια) και στο παρέγχυμα του κυττάρου (απόχρωση λευκή). Το πλεονέκτημα της Lab - εικόνας έναντι της RGB, είναι ότι η Lab - εικόνα διαθέτει μεγαλύτερη ευαισθησία επειδή περιλαμβάνει μεγαλύτερο εύρος χρωμάτων από την RGB (Red-Green-Blue: 90% των αντιληπτών χρωμάτων) και ότι είναι ανεξάρτητη της συσκευής απεικόνισης. Είναι μέθοδος που συχνά ενσωματώνεται ως επιλογή σε συσκευές χρωματογραφίας. Στην παρούσα επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε κυρίως επειδή διαχωρίζει το χρώμα (a^* και b^*) από την ένταση (L), και έτσι οι εικόνες μπορούσαν να χωριστούν εύκολα σε 3 κλάσεις: **εκφρασμένοι πυρήνες** (καφέ αποχρώσεις), **μη-εκφρασμένοι πυρήνες** (μπλε αποχρώσεις) και **παρέγχυμα**. Επί της εικόνας των εκφρασμένων πυρήνων, λειτούργησαν μορφολογικά φίλτρα, όπως περιγράφηκαν προηγουμένως, για τον τελικό εντοπισμό των πυρήνων του κυττάρου.

Στον μετασχηματισμό $L^*a^*b^*$, L^* είναι η διαφορά μεταξύ υψηλών και χαμηλών εντάσεων, a^* είναι κλίμακα κόκκινου-πράσινου και b^* είναι η κλίμακα μπλε-κίτρινου. Ο μετασχηματισμός γίνεται με την εξίσωση:

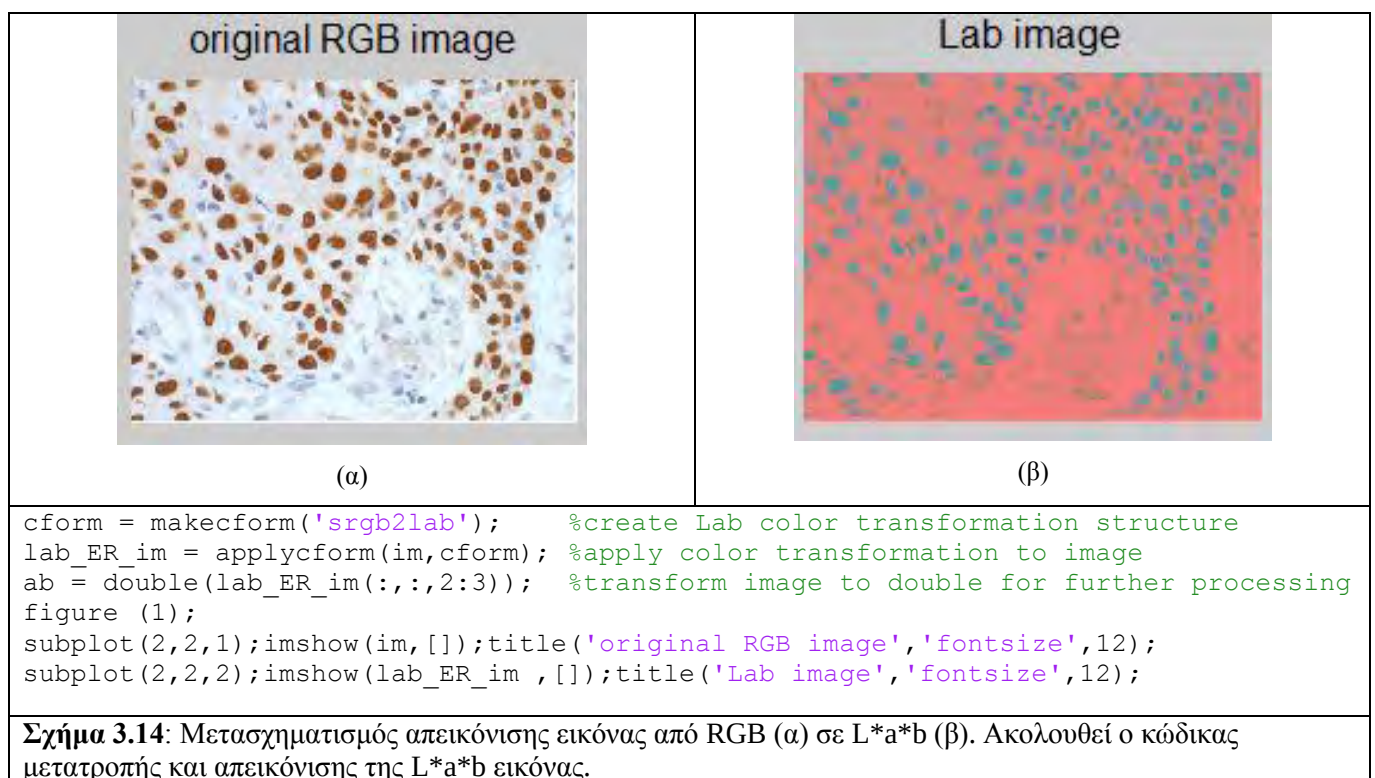
$$\begin{pmatrix} X \\ Y \\ Z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.607 & 0.174 & 0.200 \\ 0.299 & 0.587 & 0.114 \\ 0.000 & 0.066 & 1.116 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} R \\ G \\ B \end{pmatrix} \quad (3.8)$$

και

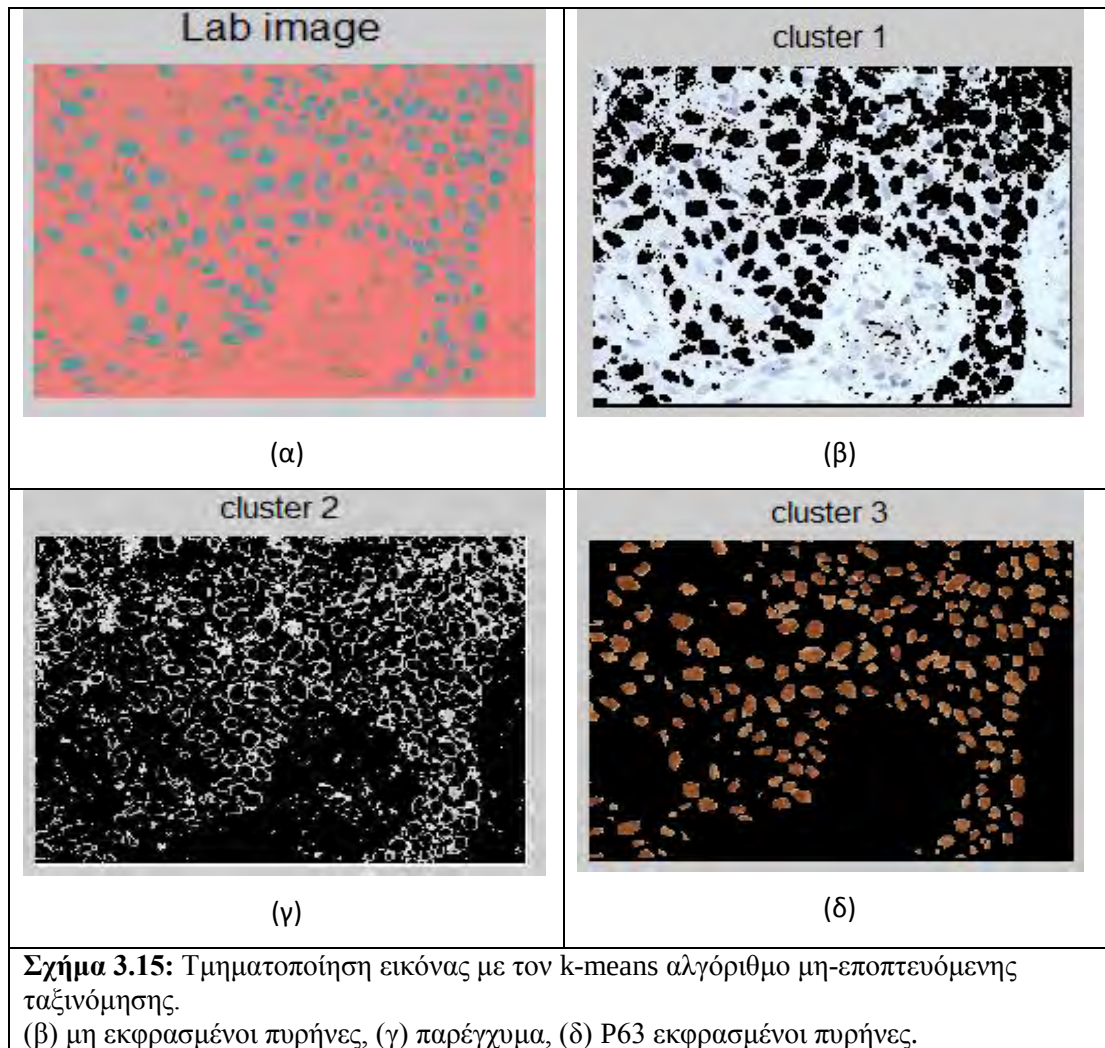
$$\begin{aligned} L^* &= 116 \left(\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_o}} \right) - 16 \\ a^* &= 500 \left[\sqrt[3]{\frac{X}{X_o}} - \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_o}} \right] \end{aligned} \quad (3.9)$$

$$b^* = 200 \left[\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_o}} - \sqrt[3]{\frac{Z}{Z_o}} \right]$$

όπου $X_o=0.9642$, $Y_o=1$, $Z_o=0.8249$ είναι οι τιμές αναφοράς του λευκού. Ακολούθως, στο **Σχήμα 3.14** παρουσιάζεται ο μετασχηματισμός της εικόνας αλλοίωσης του λάρυγγα από RGB έγχρωμη εικόνα, σε Lab - εικόνα. Ακολουθεί κώδικας για τον μετασχηματισμό της εικόνας, κάνοντας χρήση των συναρτήσεων του Matlab *makecform('srgb2lab')* και *applycform*, για τον σχηματισμό της L^*a^*b απεικόνισης.



Ακολούθως, επί της Lab - εικόνας εφαρμόστηκε ένας αλγόριθμος μη-εποπτευόμενης ταξινόμησης (ο k-means ή εναλλακτικά ο fuzzy c-means) για τον διαχωρισμό των pixels της Lab - εικόνας σε τρεις (3) κατηγορίες ή clusters. Όπως γίνεται αντιληπτό από τις εικόνες του **Σχήματος 3.15**, ο αλγόριθμος χώρισε την Lab - εικόνα σε τρεις εικόνες, που αντιστοιχούν στα τρία clusters, στο **cluster 1**, όπου είναι τα pixels με απόχρωση γαλάζια και περιλαμβάνει τους μη-εκφρασμένους πυρήνες, στο **cluster 2**, που εμπεριέχει τα pixels του υποβάθρου ή του κυτταρικού παρεγχύματος που περιβάλλει τους πυρήνες, με απόχρωση του μαύρου-άσπρου, και στο **cluster 3**, που περιέχει τα pixels των εκφρασμένων πυρήνων, με απόχρωση του καφέ.



Ακολουθώς δίνεται μέρος του κώδικα που επιτελεί αυτόν τον διαχωρισμό σε τρία clusters.

```
ab = double(lab_ER_im(:,:,2:3)); %transform image to double for further processing
figure (1);
subplot(2,2,1);imshow(im,[]);title('original RGB image','fontsize',12);
subplot(2,2,2);imshow(lab_ER_im , []);title('Lab image','fontsize',12);
nrows = size(ab,1);
ncols = size(ab,2);
ab = reshape(ab,nrows*ncols,2);
size(ab) %ab is a 249 x 329 x 2 matrix
nColors = 3;
%repeat the clustering 3 times to avoid local minima
[cluster_idx cluster_center] =
kmeans(ab,nColors,'distance','sqEuclidean','Replicates',3);
pixel_labels = reshape(cluster_idx,nrows,ncols); %reshape to 249x329 for the pixel
%labels matrix
%pixel labels are 1,2, or 3 according to the cluster assigned by kmeans
ab = double(rgb2gray(im)); %turn ab to grayscale
segmented_images = cell(1,3); %form cell array to hold 3 images,
rgb_label = repmat(pixel_labels,[1 1 3]); %form 3 similar matrices of pixel_labels
%form the 3 segmented images
for k = 1:nColors
    color = im;
```

```

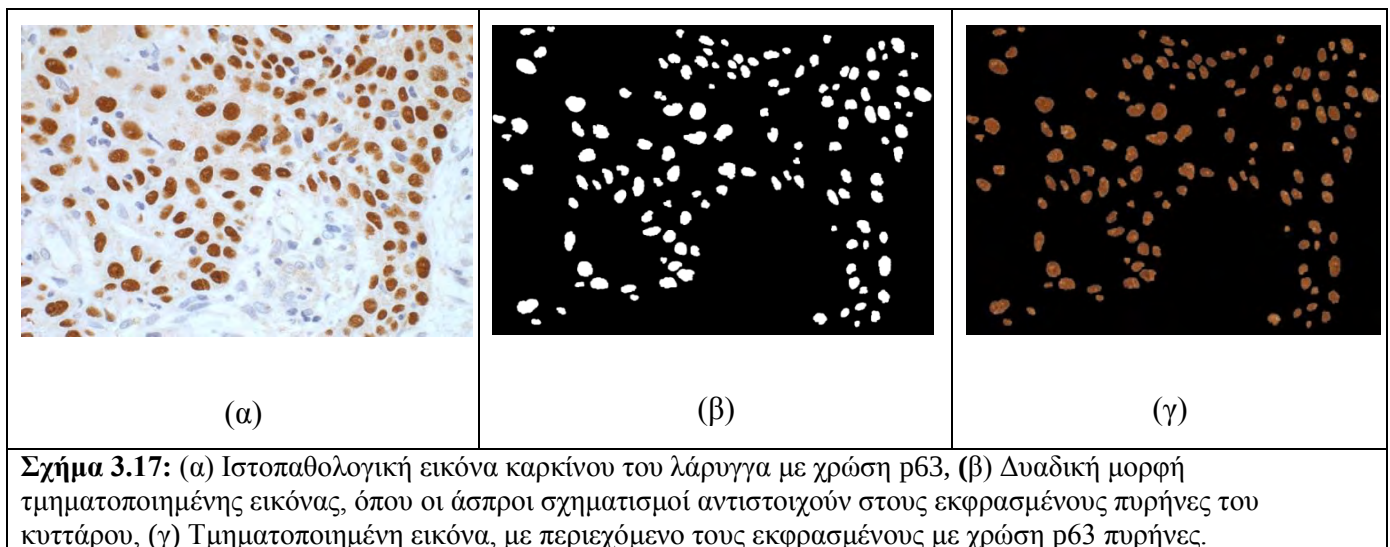
color(rgb_label ~= k) = 0;
segmented_images{k} = color;
end
%plot the segmented images
figure(2);
subplot(2,2,1);imshow(segmented_images{1},[]);title('cluster 1','fontsize',12);
subplot(2,2,2);imshow(segmented_images{33},[]);title('cluster 2','fontsize',12);
subplot(2,2,3);imshow(segmented_images{3},[]);title('cluster 3','fontsize',12);

```

Σχήμα 3.16: Κώδικας διαχωρισμού της L*a*b εικόνας σε 3 εικόνες - clusters για μη-εκφρασμένους πυρήνες (Σχήμα 3.15 (β)), κυτταρικό παρέγχυμα (Σχήμα 3.15 (γ)) και εκφρασμένους πυρήνες (Σχήμα 3.15 (δ)).

Επί της εικόνας με τους εκφρασμένους πυρήνες, εφαρμόστηκαν μορφολογικά φίλτρα ως προηγουμένως, για τον τελικό σχηματισμό της τελικής τμηματοποιημένης εικόνας, που περιέχει μόνο τους εκφρασμένους πυρήνες.

Το τελικό αποτέλεσμα της τμηματοποίησης φαίνεται στην εικόνα του **Σχήματος 3.17(γ)**, που προκύπτει από την λογική πράξη **AND** της δυναδικής εικόνας με την αρχική εικόνα.



Συνοψίζοντας, ο αλγόριθμος τμηματοποίησης: 1) διαχώρισε τα pixels της εικόνας σε pixels P63 εκφρασμένων πυρήνων, σε pixels μη-εκφρασμένων πυρήνων, και pixels περιβάλλοντα κυτταρικού ιστού, κάνοντας χρήση ενός μη-εποπτευόμενου ταξινομητή, του k-means ή εναλλακτικά του fuzzy-c means, 2) χρησιμοποίησε μορφολογικά φίλτρα στις προκύπτουσες δυαδικές εικόνες για την ολοκλήρωση των σχημάτων των πυρήνων και απάλειψη μικροσχηματισμών που δεν ήταν πυρήνες και 3) με βάση τις συντεταγμένες των σημείων των πυρήνων στις δυαδικές εικόνες, απομόνωσε στην αρχική εικόνα τους πυρήνες απαλείφοντας τελείως τον περιβάλλοντα ιστό.

Επί της προκύπτουσας τμηματοποιημένης εικόνας, ακολουθεί η εξαγωγή χρήσιμων χαρακτηριστικών τιμών που σχετίζονται με τις ιδιότητες της υφής, του σχήματος, της μορφολογίας από κάθε πυρήνα, αλλά και της χωρικής διασποράς των πυρήνων στο κύτταρο. Όπως περιγράφεται στα ακόλουθα κεφάλαια, τα χαρακτηριστικά αυτά ποσοτικοποιούν τις ιδιότητες του πυρήνα και θα αποτελέσουν την βάση τόσο για την ανάλυση της ιστοπαθολογικής εικόνας του καρκίνου του λάρυγγα όσο και για τον σχεδιασμό συστημάτων αναγνώρισης προτύπων.

3.5. Συμπεράσματα

Στο κεφάλαιο 3 αναπτύχθηκαν οι μεθοδολογίες επεξεργασίας της ιστοπαθολογικής εικόνας του καρκίνου του λάρυγγα που αποσκοπούσαν στην τμηματοποίηση των p63 εκφρασμένων πυρήνων των κυττάρων. Ο εντοπισμός των πυρήνων είναι σημαντικός επειδή η υφή των πυρήνων, το σχήμα τους, και η χωρική διασπορά τους εντός του κυττάρου, περιέχουν χρήσιμη πληροφορία στο χαρακτηρισμό της φύσης των αλλοιώσεων του λάρυγγα. Εξετάστηκαν δύο μεθοδολογίες, μία βασισμένη στην μέθοδο Canny και σε μορφολογικά φίλτρα και μία βασισμένη στον αλγόριθμο FCM και σε μορφολογικά φίλτρα. Η μεθοδολογία βασισμένη στην FCM μέθοδο ήταν αυτή που τελικά χρησιμοποιήθηκε επειδή ήταν περισσότερο αυτόνομη στην λειτουργία της και, αν και πιο αργή στην εκτέλεση, η εφαρμογή της Canny μεθόδου απαιτούσε ρυθμίσεις κατωφλίου με πειραματισμό σε κάθε εικόνα καθιστώντας την έτσι περισσότερο χρονοβόρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - Ανάλυση ιστοπαθολογικής εικόνας καρκίνου του λάρυγγα

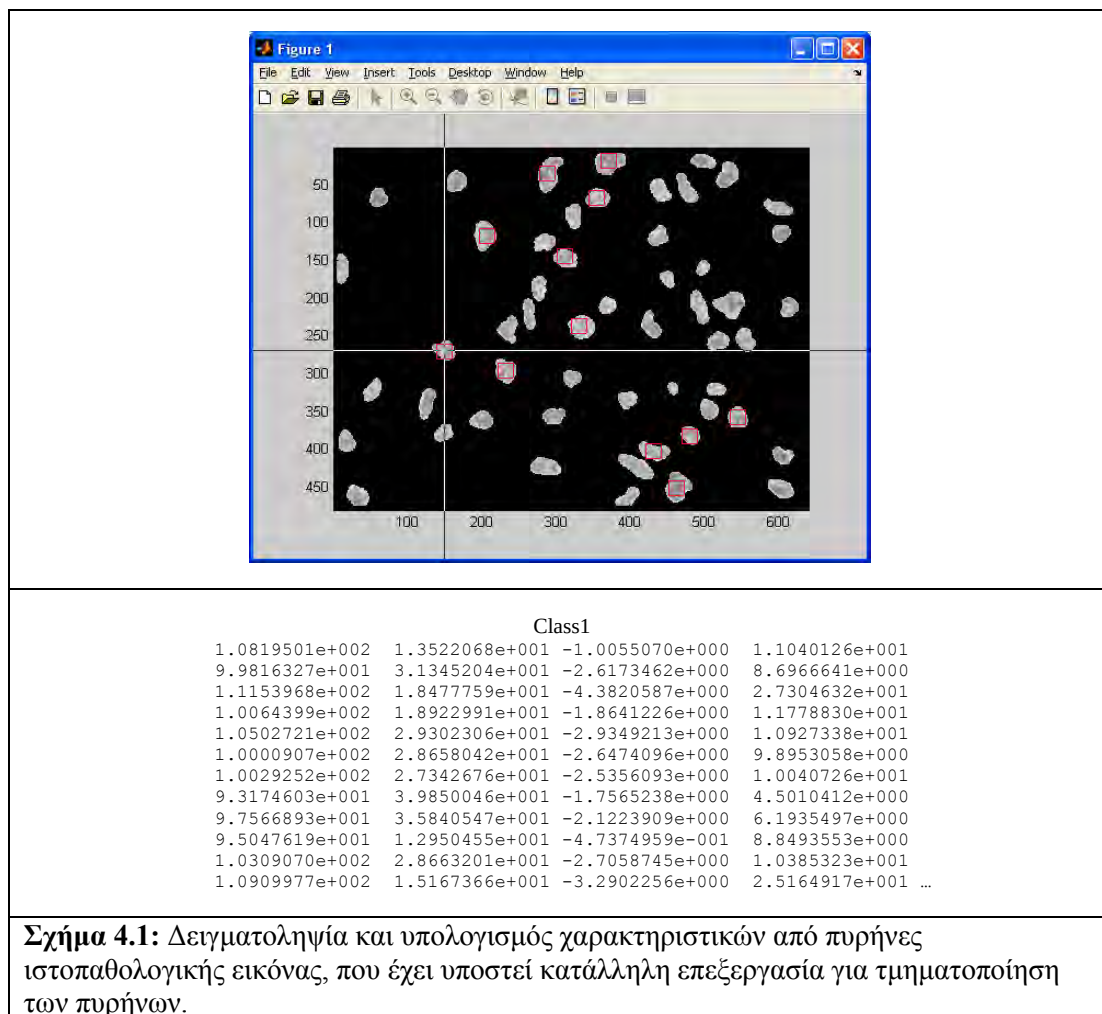
4.1. Περίληψη

Στο κεφάλαιο 4 περιγράφονται οι μεθοδολογίες ανάλυσης της ιστοπαθολογικής εικόνας, που πραγματοποιείται: α) με τον υπολογισμό χαρακτηριστικών παραμέτρων, από τους πυρήνες της εικόνας, που ποσοτικοποιούν ιδιότητες της υφής, παρυφής, μορφολογίας, σχήματος και της εντός του κυττάρου διασποράς των πυρήνων, στοιχεία που αξιολογούν οπτικά και οι γιατροί κατά την εξέταση με μικροσκόπιο των δειγμάτων βιοψίας, και β) την στατιστική ανάλυση των τιμών των χαρακτηριστικών για την εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων για την αλλοίωση των πυρήνων των κυττάρων με τον βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα. Για την ποσοτικοποίηση των ιδιοτήτων της εικόνας υπολογίστηκαν χαρακτηριστικά υφής από το ιστόγραμμα της εικόνας του πυρήνα, από τους πίνακες co-occurrence και run-length, από την μορφή και το σχήμα των πυρήνων, από τον διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων της εικόνας του πυρήνα, και από το MST - δέντρο, που εκτιμά την διασπορά των πυρήνων στο κύτταρο. Για την στατιστική ανάλυση των τιμών των χαρακτηριστικών, εξετάστηκαν μέθοδοι για: α) έλεγχο της κανονικότητας των κατανομών των τιμών των χαρακτηριστικών, β) έλεγχο ύπαρξης στατιστικά σημαντικής διαφοράς στα χαρακτηριστικά μεταξύ των 3 κατηγοριών βαθμού κακοήθειας (I, II, και III) και γ) έλεγχο της συσχέτισης των τιμών των χαρακτηριστικών με αύξηση του βαθμού κακοήθειας.

4.2. Ανάλυση ιατρικής εικόνας

Με τον όρο ανάλυση ιατρικής εικόνας εννοείται η απόσπαση πληροφοριών από την εικόνα, συχνά από μία περιοχή ενδιαφέροντος (**Region Of Interest** ή **ROI**), εν είδη παραμέτρων ή χαρακτηριστικών (features), και η εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων σχετικά με τις ιδιότητες του απεικονιζόμενου ιστού ή ανατομικής περιοχής. Η λήψη του ROI και η ανάλυση των ιδιοτήτων της εντός του ROI απεικονιζόμενης ανατομικής περιοχής πραγματοποιείται με H/Y. Στο ακόλουθο σχήμα (**Σχήμα 4.1**), απεικονίζεται η λήψη ROIs από περιοχές ενδιαφέροντος, που είναι οι πυρήνες των κυττάρων, όπως και οι τιμές χαρακτηριστικών που προκύπτουν από κάθε ROI και

αντιστοιχούν στην μέση τιμή, τυπική απόκλιση, ασυμμετρία και κύρτωση ιστογράμματος ROI.



Για την εξαγωγή χρήσιμων διαγνωστικών συμπερασμάτων από τις εικόνες μικροσκοπίου, οι γιατροί χρησιμοποιούν περιγραφικούς όρους για την αξιολόγηση των παραμέτρων, που οπτικά εκτιμούν στην εικόνα και σχετίζονται με χαρακτηριστικά της υφής, του σχήματος, της χρώσης και της συγκέντρωσης των πυρήνων. Η ανάλυση των παραμέτρων αυτών με υπολογιστή, προϋποθέτει την ποσοτικοποίηση των παραμέτρων και εισαγωγή τους στον υπολογιστή. Η ποσοτικοποίηση γίνεται είτε με χαρακτηρισμούς (π.χ. χαμηλή-μέτρια-υψηλή), είτε με βαθμολόγηση (π.χ. βαθμός κακοήθειας I, II, III), είτε με υπολογισμό χαρακτηριστικών που αντιστοιχούν στην περιγραφή του γιατρού (π.χ. ανομοιογένεια υφής μπορεί να εκτιμηθεί με την τυπική απόκλιση). Η ποσοτικοποίηση χρησιμοποιείται για την εξαγωγή συμπερασμάτων που αφορούν στην διάγνωση με βάση τις τιμές των παραμέτρων (π.χ. η διακύμανση τιμών μίας παραμέτρου στις

διάφορες βαθμίδες κακοήθειας). Προς τούτο, χρησιμοποιούνται στατιστικές δοκιμασίες, για τον εντοπισμό παραμέτρων με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ κατηγοριών (π.χ. βαθμό κακοήθειας I και III), και δοκιμασιών συσχέτισης, για εύρεση τυχόν αλληλο-συσχέτισης ή εξάρτησης μεταξύ παραμέτρων.

4.3. Υπολογισμός χαρακτηριστικών

Μια ψηφιακή εικόνα είναι ένα σύνολο διακριτών pixels (εικονοστοιχεία). Τα pixels τα απεικονίζουμε με διαβαθμίσεις χρώματος ή διαβαθμίσεις του γκρι. Στην μαυρόασπρη εικόνα, υψηλή τιμή του pixel τείνει προς λευκό ενώ χαμηλή τιμή του pixel τείνει προς μαύρο. Σύνολα γειτονικών pixels δημιουργούν περιοχές όπως είναι για παράδειγμα οι απεικονιζόμενοι πυρήνες ή το απεικονιζόμενο υπόβαθρο (βλ. **Σχήμα 3.17(α)**). Αυτές οι περιοχές συνθέτουν την εικόνα. Ο τρόπος με τον οποίο είναι κατανομημένα τα pixels διαφορετικών εντάσεων ή χρωμάτων σε μια περιοχή αποτελεί και την χαρακτηριστική υφή αυτής της περιοχής. Οι γιατροί παρατηρώντας στο μικροσκόπιο την ιστοπαθολογική εικόνα, αξιολογούν ποιοτικά την υφή, το σχήμα, και τη συγκέντρωση των πυρήνων καθώς και άλλα πιο εξειδικευμένα χαρακτηριστικά των πυρήνων όπως είναι ο *βαθμός πρόσληψης χρωματίνης, ο πολυμορφισμός, η ατυπία, η απόπτωση, η μίτωση*. Με βάση την οπτική εκτίμηση των χαρακτηριστικών αυτών, οι γιατροί διαχωρίζουν τον παθολογικό από τον φυσιολογικό ιστό και προσδιορίζουν τον βαθμό κακοήθειας του όγκου. Η ανάλυση εικόνας ποσοτικοποιεί τα χαρακτηριστικά αυτά, και με βάση της τιμές τους εξάγονται συμπεράσματα σχετικά με τον βαθμό κακοήθειας του όγκου.

Τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά για την **ποσοτικοποίηση της υφής των πυρήνων** είναι τα 1^{ης} τάξης στατιστικά χαρακτηριστικά, που υπολογίζονται από το ιστόγραμμα της εικόνας, τα 2^{ης} τάξης στατιστικά χαρακτηριστικά που υπολογίζονται από τους πίνακες συνεμφάνισης (co-occurrence) και μηκών-διαδρομής (run-length) της εικόνας, και άλλα χαρακτηριστικά που υπολογίζονται από τους μετασχηματισμούς της εικόνας, όπως είναι ο μετασχηματισμός κυματιδίων (wavelet transform). Για την **ποσοτικοποίηση του σχήματος των πυρήνων** υπολογίζονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και για **την συγκέντρωση των πυρήνων** τα χαρακτηριστικά δέντρου ελάχιστης διασποράς (Minimum Spanning Tree).

4.3.1. Χαρακτηριστικά 1ης τάξης

Τα χαρακτηριστικά που ακολουθούν εξάγονται από το ιστόγραμμα της περιοχής ενδιαφέροντος (π.χ. της επιφάνειας του πυρήνα) [34] και ποσοτικοποιούν χαρακτηριστικά της υφής του πυρήνα, όπως είναι η μέση ένταση ή φωτεινότητα της υφής, η ομοιογένεια της υφής που εκφράζεται από την τυπική απόκλιση, η κατανομή των εντάσεων των pixels σε υψηλές ή χαμηλές τιμές φωτεινότητας, που εκφράζεται από την skewness, και η διασπορά των εντάσεων των pixels σε όλο ή σε τμήμα του φάσματος των εντάσεων σχετικά με την μέση ένταση, που εκφράζεται από την κύρτωση. Παρόμοιες ιδιότητες της υφής του πυρήνα αξιολογούνται από τον παθολογοανατόμο γιατρό με περιγραφές που σχετίζονται με την φωτεινότητα του πυρήνα και την ανομοιογένεια της υφής. Τα χαρακτηριστικά 1^{ης} τάξης είναι τα ακόλουθα:

$$1 \text{ Μέση τιμή } (m) \quad m = \frac{\sum_i \sum_j I(i, j)}{N} \quad (4.1)$$

όπου $I(i, j)$ είναι η ένταση του pixel στη θέση (i, j) και N ο συνολικός αριθμός των pixels.

$$2 \text{ Τυπική απόκλιση } (std) \quad std = \sqrt{\frac{\sum_i \sum_j I(i, j)^2 - m^2}{N - 1}} \quad (4.2)$$

$$3 \text{ Απόκλιση-skewness } (sk) \quad sk = \frac{1}{N} \frac{\sum_i \sum_j I(i, j)^3 - m^3}{std^3} \quad (4.3)$$

$$4 \text{ Κύρτωση } (k) \quad k = \frac{1}{N} \frac{\sum_i \sum_j I(i, j)^4 - m^4}{std^4} \quad (4.4)$$

```
%=====first order stats=====
function [features]=generateFirstOrderFeatures(a)
features(1)=mean2(a); %a is the ROI
features(2)=std2(a);
features(3)=skewness(a(:));
features(4)=kurtosis(a(:));
```

Σχήμα 4.2: Υπολογισμός χαρακτηριστικών 1^{ης} τάξης.

4.3.2. Χαρακτηριστικά 2ης τάξης – Από co-occurrence πίνακες

Υπάρχουν 12 χαρακτηριστικά που μπορούν να υπολογιστούν από την μήτρα συνεμφάνισης (co-occurrence) της εικόνας [35]. Η co-occurrence μήτρα περιγράφει την συχνότητα δύο παρακείμενων τόνων του γκρι (επίπεδα φωτεινότητας pixel) κατά συγκεκριμένη κατεύθυνση. Η co-occurrence μήτρα υπολογίζεται σε τέσσερις κατευθύνσεις, στο επίπεδο της εικόνας, σε 0^0 , 45^0 , 90^0 , 135^0 . Έτσι προκύπτουν, για κάθε περιοχή ενδιαφέροντος (π.χ. η επιφάνεια του πυρήνα), τέσσερις co-occurrence μήτρες. Έστω μία μήτρα εικόνας 4 τόνων του γκρι:

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

Η co-occurrence μήτρα κατά τις κατευθύνσεις 0^0 , 90^0 , 45^0 και 135^0 είναι:

$$P(i,j)^0 = \begin{bmatrix} & \mathbf{0} & \mathbf{1} & \mathbf{2} & \mathbf{3} \\ \mathbf{0} & 4 & 1 & 1 & 0 \\ \mathbf{1} & 1 & 2 & 0 & 0 \\ \mathbf{2} & 1 & 0 & 6 & 3 \\ \mathbf{3} & 0 & 0 & 3 & 2 \end{bmatrix} \quad P(i,j)^{90} = \begin{bmatrix} & \mathbf{0} & \mathbf{1} & \mathbf{2} & \mathbf{3} \\ \mathbf{0} & 0 & 2 & 2 & 2 \\ \mathbf{1} & 2 & 0 & 1 & 1 \\ \mathbf{2} & 2 & 1 & 2 & 2 \\ \mathbf{3} & 2 & 1 & 2 & 2 \end{bmatrix}$$

$$P(i,j)^{45} = \begin{bmatrix} & \mathbf{0} & \mathbf{1} & \mathbf{2} & \mathbf{3} \\ \mathbf{0} & 0 & 1 & 2 & 1 \\ \mathbf{1} & 1 & 0 & 1 & 1 \\ \mathbf{2} & 2 & 1 & 0 & 3 \\ \mathbf{3} & 1 & 1 & 3 & 0 \end{bmatrix} \quad P(i,j)^{135} = \begin{bmatrix} & \mathbf{0} & \mathbf{1} & \mathbf{2} & \mathbf{3} \\ \mathbf{0} & 2 & 1 & 1 & 1 \\ \mathbf{1} & 1 & 0 & 1 & 1 \\ \mathbf{2} & 1 & 1 & 2 & 2 \\ \mathbf{3} & 1 & 1 & 2 & 0 \end{bmatrix}$$

Όπως φαίνεται στην 0^0 μήτρα, η πρώτη σειρά και η πρώτη στήλη είναι οι γκρι τόνοι και οι αριθμοί της μήτρας δίδουν την συχνότητα που κάθε ζεύγος τόνων γκρι εμφανίζεται στην $g(i,j)$ εικόνα. Έτσι, $P(0,0) = 4$ στην co-occurrence μήτρα είναι ο αριθμός που το ζεύγος γειτονικών pixels $[0,0]$ υπάρχει στην αρχική μήτρα εικόνας $g(i,j)$ συγχρόνως κατά την διεύθυνση των 0^0 και 180^0 . Με παρόμοιο τρόπο υπολογίζονται και οι υπόλοιπες τιμές της co-occurrence μήτρας $P(i,j)^0$. Είναι εύκολο να υπολογισθούν οι υπόλοιπες μήτρες $P(i,j)^{45}$, $P(i,j)^{90}$, και $P(i,j)^{135}$. Από κάθε co-occurrence μήτρα υπολογίζεται μία τιμή για κάθε χαρακτηριστικό και έτσι προκύπτουν τέσσερις τιμές ανά χαρακτηριστικό. Σύμφωνα με τον Haralick [35], οι τέσσερις αυτές τιμές του χαρακτηριστικού μπορούν, για οικονομία διαστάσεων, να αντιπροσωπευτούν από δύο τιμές, την μέση τιμή και το εύρος τιμών. Τα δώδεκα χαρακτηριστικά που υπολογίζονται από την co-occurrence μήτρα είναι τα ακόλουθα:

$$1 \text{ Angular Second Moment (ASM)} \quad ASM = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} (p(i,j))^2 \quad (4.5)$$

όπου N_g είναι ο αριθμός τόνων του γκρι στην εικόνα, $i,j=1,\dots,N_g$, και $p(i,j)$ είναι η co-occurrence μήτρα.

$$2 \text{ Contrast (CON)} \quad CON = \sum_{n=0}^{N_g-1} n^2 \left\{ \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} (p(i,j))^2 \right\}, |i-j|=n \quad (4.6)$$

$$3 \text{ Correlation (COR)} \quad COR = \frac{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} (ij) p(i,j) - m_x m_y}{\sigma_x \sigma_y} \quad (4.7)$$

όπου m_x , m_y , σ_x και σ_y είναι η μέση τιμή και τυπικές αποκλίσεις των p_x και p_y , όπως δίνονται παρακάτω:

$$p_x(j) = \sum_{i=1}^{N_{rows}} p(i,j)$$

$$p_y(j) = \sum_{i=1}^{N_{columns}} p(i,j)$$

$$4 \text{ Autocorrelation (ACOR)} \quad ACOR = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} ij p(i,j) \quad (4.8)$$

5 Variance (VAR)

$$VAR = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} (i-m)^2 p(i, j) \quad (4.9)$$

6 Entropy (ENT)

$$ENT = - \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} p(i, j) \log(p(i, j)) \quad (4.10)$$

7 Sum of Squares (SSQ)

$$SSQ = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=0}^{N_g-1} (1-m)^2 p(i, j) \quad (4.11)$$

8 Sum Average (SAVE)

$$SAVE = \sum_{i=2}^{2N_g} i p_{x+y}(i) \quad (4.12)$$

όπου:

$$p_{x+y}(k) = \sum_{i=1}^{N_g} \sum_{j=1}^{N_g} p(i, j), i+j=k, k=2,3,...,2N_g$$

9 Sum Entropy (SENT)

$$SENT = - \sum_{i=2}^{2N_g} p_{x+y}(i) \log(p_{x+y}(i)) \quad (4.13)$$

10 Sum Variance (SVAR)

$$SVAR = - \sum_{i=2}^{2N_g} (i - SENT)^2 p_{x+y}(i) \quad (4.14)$$

11 Difference Variance (DVAR)

$$DVAR = \sum_{i=2}^{2N_g} (i - SAVE)^2 p_{x-y}(i) \quad (4.15)$$

12 Difference Entropy (DENT)

$$DENT = - \sum_{i=0}^{N_g-1} p_{x-y}(i) \log(p_{x-y}(i)) \quad (4.16)$$

όπου:

$$p_{x-y}(k) = \sum_{i=1}^{N_g} \sum_{j=1}^{N_g} p(i, j), |i-j|=k, k=2,3,...,N_g-1$$

```

%=====2nd order statistics co-occurrence features=====

function [features]=generateCo_occurrenceFeatures(I, features,N_grey)
[glcm, SI] = graycomatrix(I, 'GrayLimits', [], 'NumLevels', N_grey, 'Offset', ...
    [0 1; -1 0; -1 1; -1 -1], 'Symmetric', true); %0(-), 90(|), 45(/), 135(\), 1 pixel
stats = graycoprops(glcm, {'Contrast', 'Correlation', 'Energy', 'Homogeneity'});
%glcm
C=stats.Contrast;
Cr=stats.Correlation;
E=stats.Energy;
H=stats.Homogeneity;
features(5)=mean(C);
features(6)=max(C)-min(C);
features(7)=mean(Cr);
features(8)=max(Cr)-min(Cr);
features(9)=mean(E);
features(10)=max(E)-min(E);
features(11)=mean(H);
features(12)=max(H)-min(H);

```

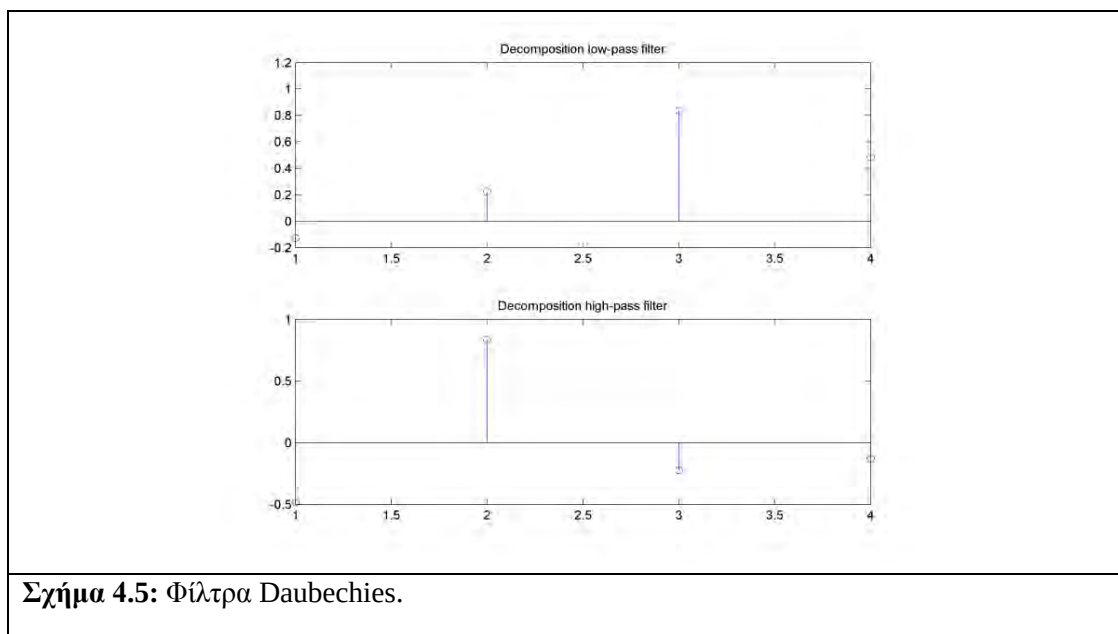
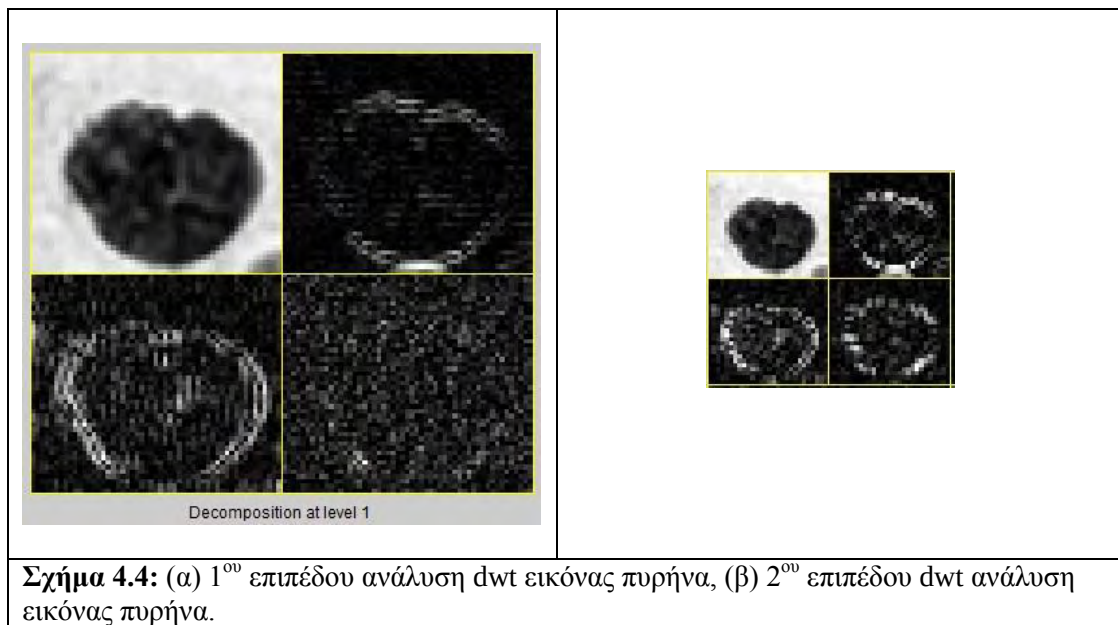
Σχήμα 4.3: Υπολογισμός ορισμένων, σημαντικών, εκ των χαρακτηριστικών 2^{ης} τάξης.

Κάθε ένα από τα χαρακτηριστικά αυτά ποσοτικοποιεί κάποια ιδιότητα της υφής της εικόνας. Μερικά από τα χαρακτηριστικά ίσως εκφράζουν την ίδια ιδιότητα αλλά με διαφορετικό τρόπο. Παρακάτω δίνεται μία ερμηνεία των ιδιοτήτων υφής που ποσοτικοποιούν τα χαρακτηριστικά αυτά. Σύμφωνα με τον Haralick [35], τα τρία πρώτα εκφράζουν την ομοιογένεια της υφής (ASM), την αντίθεση ή το μέγεθος των τοπικών μεταβολών των γκρι τόνων (*contrast*), και το μέγεθος της γραμμικής εξάρτησης των γκρι τόνων της εικόνας (*correlation*). Η *autocorrelation* εκφράζει την συσχέτιση μεταξύ των εντάσεων ζευγών pixels και το χαρακτηριστικό αποκτά υψηλές τιμές όταν οι τιμές αυτές είναι πλησίον μεταξύ τους. Το *sum of squares* μετρά την ανομοιογένεια της υφής, το *sum average*, εκτιμά την ανομοιογένεια τόνων του γκρι και αποκτά υψηλές τιμές όταν υπάρχουν μεγάλες διαφορές στους υψηλούς τόνους, το *sum entropy* εκτιμά την έλλειψη οργάνωσης ή την ακαταστασία στην κατανομή των δομών στους διάφορους τόνους του γκρι, το *sum variance* μετρά την μεταβολή του κοντράστ στην εικόνα, και αποκτά χαμηλές τιμές για ομοιόμορφα κατανεμημένες διαφορές τόνων γκρι, και το *difference entropy* μετρά την έλλειψη δομής στο κοντράστ της εικόνας και αποκτά υψηλές τιμές σε εικόνες με χαμηλή μεταβολή του κοντράστ.

Πολλά από αυτά τα χαρακτηριστικά έχουν χρησιμοποιηθεί σε μελέτες, όπως είναι στην εργασία των Bochhi et al [36] με εφαρμογή στις ιατρικές εικόνες ακτίνων X για οστά και πνευμονικό παρέγχυμα και σε μελέτες με ιστοπαθολογικές εικόνες για την ανάλυση της υφής των πυρήνων [16, 18].

4.3.3. Χαρακτηριστικά από διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων (dwt)

Χρήσιμα χαρακτηριστικά υφής μπορούν να υπολογιστούν από τον δισδιάστατο μετασχηματισμό κυματιδίων της εικόνας (*discrete wavelet transform*) [37], σε δύο επίπεδα ανάλυσης (**Σχήμα 4.4**), κάνοντας χρήση φίλτρων *Daubechies* (**Σχήμα 4.5**). Σε κάθε επίπεδο ανάλυσης προκύπτουν τέσσερις εικόνες (μήτρες συντελεστών) από όπου μπορούν να υπολογιστούν μια σειρά από χαρακτηριστικά, όπως είναι η ενέργεια, η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση κλπ.



Στο πρώτο επίπεδο, η άνω αριστερά εικόνα (Σχήμα 4.4(α)) προκύπτει από επεξεργασία των σειρών και στηλών της αρχικής εικόνας, με χαμηλοπερατό φίλτρο (Σχήμα 4.5, άνω γραφική, low pass filter ή LP) και σύγχρονη μείωση (decimation) κατά το ήμισυ των διαστάσεων της εικόνας (δηλαδή κατά το $\frac{1}{4}$ όλης της εικόνας). Η άνω δεξιά εικόνα έχει προκύψει από επεξεργασία με υψηλοπερατό φίλτρο (Σχήμα 4.5, κάτω γραφική, high pass filter ή HP) των στηλών και LP των σειρών, η κάτω αριστερά εικόνα από επεξεργασία με LP των στηλών και HP των σειρών και η διαγώνια εικόνα έχει προκύψει από επεξεργασία με HP των στηλών και HP των σειρών. Το ίδιο ισχύει και για την ανάλυση $2^{\text{ου}}$ επιπέδου (Σχήμα 4.4(β)), όπου εδώ η ανάλυση είναι το εν όγδοο των διαστάσεων της αρχικής.

```
%=====
%=====dwt features =====
%=====
function [features]=generateWaveletFeatures(A,features)
nbcot = size(A,1);
%perform single-level decomposition
%of A using db1
[cA1,cH1,cV1,cD1] = dwt2(A,'db1');
A1 = wcodemat(cA1,nbcot); %subband LL
H1 = wcodemat(cH1,nbcot); %subband HL
V1 = wcodemat(cV1,nbcot); %subband LH
D1 = wcodemat(cD1,nbcot); %subband HH
features(13)=mean2(A1);features(14)=std2(A1);
features(15)=mean2(H1);features(16)=std2(H1);
features(17)=mean2(V1);features(18)=std2(V1);
features(19)=mean2(D1);features(20)=std2(D1);
```

Σχήμα 4.6: Υπολογισμός ενδεικτικών χαρακτηριστικών βασισμένων στον $1^{\text{ου}}$ επιπέδου ανάλυσης διάκριτου μετασχηματισμού κυματιδίων με Φίλτρα Daubechies.

Τα wavelets έχουν χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση της υφής των πυρήνων καρκινικών κυττάρων σε ιστοπαθολογικές εικόνες καρκίνου του μαστού [38] θυρεοειδή [20] κ.ά.

4.3.4. Χαρακτηριστικά 2ης τάξης – Από run-length πίνακες

Στην περίπτωση των run-length πινάκων ο υπολογισμός γίνεται με βάση τη συχνότητα εμφάνισης συνεχόμενων τιμών (μηκών διαδρομής) κάθε τόνου του γκρι.

Έστω εικόνα:

	0	0	2	2
$g(i,j)=$	1	1	0	0
	3	2	3	3
	3	2	2	2

με 4 τόνους γκρι 0,1,2,3. Η R-L μήτρα κατά την 90^0 διεύθυνση είναι:

		1	2	3	4 ←Run Lengths
	γκρι				
	0	4	0	0	0
$RL^{90}=$	1	2	0	0	0
	2	4	1	0	0
	3	2	1	0	0

όπου η πρώτη σειρά δίνει τα μήκη των R-L και η πρώτη στήλη τους γκρι-τόνους. Έτσι, όπως φαίνεται $RL^{90}(0,0) = 4$ είναι η συχνότητα που το $R-L = 1$ (δηλαδή 1 pixel 0 γκρι τόνου) εμφανίζεται στην εικόνα $g(i,j)$ κατά την 90^0 κατεύθυνση. Παρόμοια, $RL^{90}(2,2) = 1$ που σημαίνει ότι στην εικόνα υπάρχει μόνο ένας (1) συνδυασμός δύο (2) γειτονικών σημείων με γκρι τόνο 2 κατά την 90^0 κατεύθυνση. Με αυτό τον τρόπο δομείται η R-L μήτρα της εικόνας. Παρόμοια με την co-occurrence, υπάρχουν τέσσερις run-length μήτρες και για κάθε χαρακτηριστικό, τελικά χρησιμοποιούνται δύο τιμές, η μέση τιμή και το εύρος τιμών. Ακολούθως δίνονται οι υπόλοιπες τρεις R-L μήτρες (RL^0 , RL^{45} , RL^{135}) για το ανωτέρω παράδειγμα:

	0	2	0	0
$RL^0=$	0	1	0	0
	1	1	1	0
	2	1	0	0
	4	0	0	0
	2	0	0	0
	6	0	0	0
	4	0	0	0
	2	1	0	0
	2	0	0	0
	4	1	0	0
	4	0	0	0

Ακολουθώς δίνονται οι εξισώσεις των χαρακτηριστικών και μία επεξήγηση των παραμέτρων της υφής του πυρήνα που ποσοτικοποιούν.

$$1 \text{ Short Run Emphasis (SRE)} \quad SRE = \frac{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} \frac{p(i, j)}{j^2}}{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} p(i, j)} \quad (4.17)$$

$$2 \text{ Long Run Emphasis (LRE)} \quad LRE = \frac{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} j^2 p(i, j)}{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} p(i, j)} \quad (4.18)$$

$$3 \text{ Gray Level Non-Uniformity (GLNU)} \quad GLNU = \frac{\sum_{i=0}^{N_g-1} \left(\sum_{j=1}^{N_r} p(i, j) \right)^2}{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} p(i, j)} \quad (4.19)$$

$$4 \text{ Run-Length Non-Uniformity (RLNU)} \quad RLNU = \frac{\sum_{j=1}^{N_r} \left(\sum_{i=0}^{N_g-1} p(i, j) \right)^2}{\sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} p(i, j)} \quad (4.20)$$

$$5 \text{ Run Percentage (RP)} \quad RP = \sum_{i=0}^{N_g-1} \sum_{j=1}^{N_r} p(i, j) / P \quad (4.21)$$

όπου: $p(i,j)$ είναι το (i,j) στοιχείο του πίνακα run-length,

N_g είναι ο αριθμός των επιπέδων (τόνων) του γκρι στην εικόνα,

N_r είναι ο αριθμός των διαφορετικών μηκών διαδρομής που εμφανίζονται

στην εικόνα (με αποτέλεσμα ο πίνακας run-length να είναι διαστάσεων

$N_g \times N_r$) και

P είναι ο μέγιστος αριθμός μηκών διαδρομής της εικόνας.

```
%=====2nd order statistics Run Length features=====

function [features]=generateRLFeatures(a,features,N_grey)
NumberOfRLfeatures=10;
RLfeats=zeros(NumberOfRLfeatures,1); %initialize
scaleImage(a,N_grey);
[RLfeats]=RL_features(a,RLfeats,N_grey);
features=[features'; RLfeats];
```

Σχήμα 4.7: Υπολογισμός ορισμένων, σημαντικών, εκ των χαρακτηριστικών 2^{ης} τάξης.

Τα Run-Length χαρακτηριστικά έχουν προηγουμένως χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση της ιστοπαθολογικής εικόνας πυρήνων καρκίνων κυττάρων, όπως είναι στον μαστό, στην ουροδόχο κύστη, στο θυρεοειδή, [16, 19, 20].

Τα χαρακτηριστικά αυτά ποσοτικοποιούν την δομή της υφής των πυρήνων σχετικά με την ύπαρξη διαφορετικών δομών εντός της υφής. Πιο συγκεκριμένα, το χαρακτηριστικό *short run emphasis*, μετρά την κατανομή μικρών συγκεντρώσεων pixels με ίδιο τόνο του γκρι και λαμβάνει υψηλές τιμές σε επιφάνειες με καλή λεπτομέρεια υφής. Αντίθετα το *long run emphasis*, μετρά την ύπαρξη μεγάλων δομών εντός της υφής του πυρήνα και λαμβάνει υψηλές τιμές σε επιφάνειες με χαμηλή λεπτομέρεια υφής πυρήνα. Το *gray-level non-uniformity* ποσοτικοποιεί την ανομοιογένεια των τόνων του γκρι και λαμβάνει χαμηλές τιμές όταν υπάρχει ομοιογένεια στην κατανομή των δομών στους διάφορους τόνους του γκρι. Το *run length non-uniformity* μετρά την ανομοιογένεια των δομών και λαμβάνει χαμηλές τιμές σε επιφάνειες με ομοιογενή κατανομή των δομών. Τέλος, το *run-percentage*, ποσοτικοποιεί την κατανομή των δομών και λαμβάνει υψηλές τιμές όταν υπάρχουν περισσότερες μικρές δομές στην επιφάνεια του πυρήνα.

4.3.5. Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Η μορφολογία των ανατομικών δομών ορίζεται από τις ιδιότητες του σχήματος και μεγέθους των δομών [39]. Στην παθολογοανατομία είναι σημαντικός παράγοντας στην διακρίβωση της ασθένειας αλλά και της σοβαρότητάς της από το σχήμα και το μέγεθος των πυρήνων των κυττάρων. Μορφολογικά χαρακτηριστικά έχουν χρησιμοποιηθεί σε πολλές παθολογοανατομικές μελέτες στην συσχέτιση της αλλοίωσης των καρκινικών πυρήνων με τον βαθμό κακοήθειας του μαστού, του προστάτη, του θυρεοειδή, του εγκεφάλου [16, 18, 20].

Από κάθε πυρήνα μπορούν να υπολογιστούν χαρακτηριστικά [40-43] που αφορούν στη μορφή του πυρήνα.

1. *Επιφάνεια του πυρήνα*, που προκύπτει από το άθροισμα των pixels εντός της επιφανείας του πυρήνα.
2. *Περίμετρος*: το μήκος της υπολογίζεται από το σύνολο των αποστάσεων μεταξύ των pixels που ανήκουν στην παρυφή (περίγραμμα) του πυρήνα.

3. Eccentricity: υπολογίζεται ως το πηλίκο του κύριου άξονα (major axis) του πυρήνα ως προς τον δευτερεύοντα άξονα (minor axis). Οι άξονες ορίζονται με την περιγραφή του πυρήνα από παραλληλόγραμμο ελάχιστων κατά το δυνατόν διαστάσεων.

4. Μήκος κυρίου άξονα.

5. Μήκος δευτερεύοντος άξονα.

6. Επιφάνεια κυρτού σχήματος (Convex area): Αυτή ευρίσκεται κατόπιν περιγραφής του πυρήνα από πολύγωνο ελάχιστων διαστάσεων και καταμέτρηση της επιφανείας του πολυγώνου.

7. Ισότιμη Διάμετρος: Είναι η διάμετρος κύκλου που έχει την ίδια επιφάνεια με αυτή του πυρήνα. Υπολογίζεται ως: $d = \sqrt{\frac{4 * Area}{\pi}}$

8. Solidity: ορίζεται ως το πηλίκο $Solidity = \frac{A_N}{A_H}$ (4.22)

όπου A_N είναι η επιφάνεια του πυρήνα και A_H είναι η επιφάνεια του ελάχιστου πολυγώνου που μπορεί περιγράψει τον πυρήνα.

9. Rectangularity: Υπολογίζεται ως το πηλίκο της επιφανείας του πυρήνα A_N προς την επιφάνεια A_B του παραλληλόγραμμου ελάχιστων διαστάσεων που μπορεί να περιγράψει τον πυρήνα.

$$Rect = \frac{A_N}{A_B} \quad (4.23)$$

10. Compactness: υπολογίζεται ως το πηλίκο της περιμέτρου P (περιγράμματος) και επιφανείας A_N του πυρήνα.

$$compactness = \frac{P^2}{A_N} \quad (4.24)$$

4.3.6. Χαρακτηριστικά από το σχήμα του περιγράμματος του πυρήνα

Τα χαρακτηριστικά αυτά εξειδικεύονται στην εκτίμηση του σχήματος του περιγράμματος ανατομικών δομών. Έχουν προηγουμένως χρησιμοποιηθεί, σε συνδυασμό με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, σε παθολογοανατομικές μελέτες ανάλυσης του σχήματος των καρκινικών πυρήνων με τον βαθμό κακοήθειας του μαστού.

1. Η μέση ακτινική απόσταση μ_{Rd} (mean radial distance), όπου Rd είναι οι αποστάσεις των pixels του περιγράμματος από το κέντρο του πυρήνα. Λαμβάνει μεγαλύτερες τιμές για μεγαλύτερους και μη-ομαλού σχήματος πυρήνες.

2. Τυπική απόκλιση της Rd (σ_{Rd}), που μετρά την έλλειψη ομαλότητας σχήματος της παρυφής (περιγράμματος) του πυρήνα.

3. Εύρος τιμών της Rd (Rng_{Rd}), που ποσοτικοποιεί το εύρος της διασποράς των τιμών της ακτίνας Rd , λαμβάνοντας υψηλές τιμές για σχήματα περιγράμματος με μη-ομαλή παρυφή.

4. Δείκτης κυκλικότητας περιγράμματος πυρήνα (Circularity ratio), ορίζεται ως:

$$Cr = \frac{\sigma_{Rd}}{\mu_{Rd}} \quad (4.25)$$

που ποσοτικοποιεί το ομαλό του σχήματος της παρυφής, λαμβάνοντας υψηλές τιμές σε σχήματα με μη-ομαλή παρυφή.

5. Radial distance entropy (ENT_{Rd}).

$P_k = \text{histogram}(Rd)$

$$ENT_{Rd} = \sum_i P_k(i) \log(P_k(i)) \quad (4.26)$$

που ποσοτικοποιεί το ακανόνιστο του σχήματος της παρυφής.

6. Δείκτης τραχύτητας του περιγράμματος (Roughness Index R_{indx}).

$$R_{indx} = \sum_i |R_d(i+1) - R_d(i)| \quad (4.27)$$

που ποσοτικοποιεί τις τοπικές μεταβολές του περιγράμματος και ως συνέπεια γίνεται εκτίμηση της τραχύτητας της παρυφής.

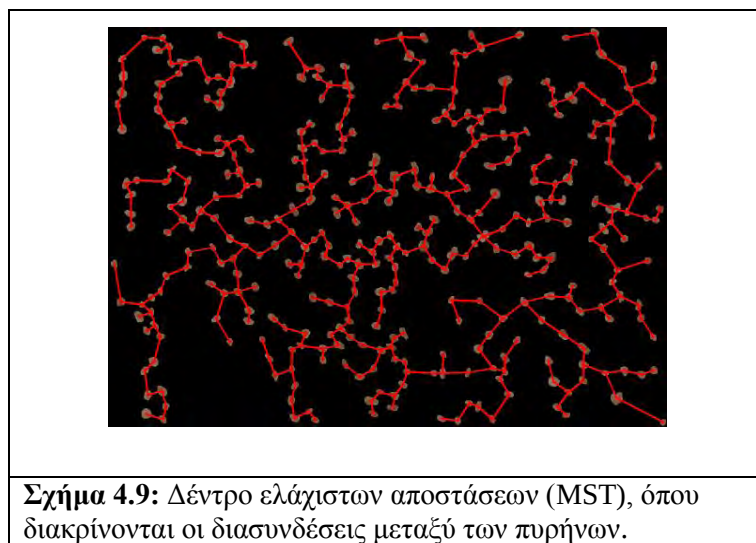
```
function [features]=generateShapeFeatures(L)
%L is image with segmented nuclei
%find number of nuclei in L, after having eliminated objects nuclei<len pixels
[L2,n] = bwlabel(L,8);
%calculate features from n objects
info = regionprops(L2, 'Area', 'Perimeter', 'Eccentricity', 'MajorAxisLength', ...
    'MinorAxisLength', 'BoundingBox');
%'BoundingBox' is for square surrounding a nuclei
%from this you can calculate textural features
%store morphological features in appropriate class
for i=1:n
    Class(i,1) = info(i).Area;
    Class(i,2) = info(i).Perimeter;
    Class(i,3) = info(i).Eccentricity;
    Class(i,4) = info(i).MajorAxisLength;
    Class(i,5) = info(i).MinorAxisLength;
end
for i=1:5
    features(i)=mean(Class1(:,i));
end
```

Σχήμα 4.8: Υπολογισμός επιλεγμένων μορφολογικών χαρακτηριστικών πυρήνων τμηματοποιημένης εικόνας (L).

4.3.7. Χαρακτηριστικά από το δέντρο ελάχιστων αποστάσεων (Minimum Spanning Tree – MST)

Ένα διασυνδεδετικό δέντρο είναι ένας συνδεδεμένος γράφος, που περιλαμβάνει όλες τις κορυφές (κόμβους) του γράφου και δεν περιέχει επαναλαμβανόμενες μεταξύ συγκεκριμένων κόμβων διασυνδέσεις. Αν οι διασυνδέσεις (ή ακμές) έχουν βάρη τότε το βάρος του συνδεδεμένου γράφου ορίζεται ως το άθροισμα των επιμέρους βαρών των ακμών. Ως ελάχιστο διασυνδεδετικό δέντρο (ή **MST**), ονομάζεται αυτό που το άθροισμα των βαρών του είναι ελάχιστο. Για την εύρεση του ελάχιστου MST χρησιμοποιούνται ειδικοί αλγόριθμοι (Prim's και Kruskal's) [34]. Το MST έχει βρει πολλές εφαρμογές στην ιατρική και βιολογία και πιο συγκεκριμένα έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες για την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας καρκινικών κυττάρων, όπως για παράδειγμα στην στοματικής κοιλότητας [44] και του εγκεφάλου [21].

Το MST [21] δημιουργείται από τις συνάψεις μεταξύ των πυρήνων σε μία ιστοπαθολογική εικόνα και εκτιμά την συγκέντρωση (ή **διασπορά**) των πυρήνων εντός της εικόνας (**Σχήμα 4.9**). Αφού δημιουργηθεί το δέντρο από τις συνάψεις ελάχιστης δυνατής διαδρομής από πυρήνα σε πυρήνα, υπολογίζονται επτά (7) χαρακτηριστικά από τις αποστάσεις μεταξύ των πυρήνων: η μέση τιμή, το εύρος των αποστάσεων (μέγιστη - ελάχιστη απόσταση), η τυπική απόκλιση, η μέγιστη απόσταση, η ελάχιστη απόσταση, το άθροισμα των αποστάσεων και ο μέγιστος αριθμός κόμβων στο δέντρο, όπου ως κόμβος θεωρείται ο πυρήνας από τον οποίο ξεκινούν περισσότερες της μίας συνάψεις με γειτονικούς πυρήνες.



4.3.8. Κανονικοποίηση χαρακτηριστικών

Τα χαρακτηριστικά των προτύπων εκπαίδευσης κανονικοποιούνται για να έχουν μηδενική μέση τιμή και διακύμανση ίση με τη μονάδα, έτσι ώστε κανένα χαρακτηριστικό να μην υπερισχύει έναντι κάποιου άλλου, λόγω της διαφοράς μεγέθους των τιμών τους [45]. Η κανονικοποίηση γίνεται με βάση τον ακόλουθο τύπο:

$$x'_i = \frac{x_i - \mu}{\sigma} \quad (4.28)$$

όπου: x_i η αρχική τιμή του χαρακτηριστικού του προτύπου i , x'_i η νέα κανονικοποιημένη τιμή του χαρακτηριστικού, μ η μέση τιμή του χαρακτηριστικού

και σ η τυπική απόκλιση του χαρακτηριστικού, υπολογισμένες από τις τιμές του χαρακτηριστικού σε όλα τα πρότυπα και κλάσεις.

4.4. Στατιστική ανάλυση χαρακτηριστικών

Οι στατιστικές δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται διακρίνονται σε δύο κατηγορίες [46], ανάλογα με το εάν οι κατανομές τιμών των παραμέτρων είναι κανονικές ή μη-κανονικές ή και αγνώστου είδους κατανομής [47]. Η κανονικότητα μίας κατανομής για τα δεδομένα μας ελέγχεται με την δοκιμασία *Lilliefors*, και όχι με κάποια άλλη μέθοδο, όπως η *Kolmogorov-Smirnov* ή η χ^2 , επειδή θεωρείται ότι η υποτιθέμενη κανονική έχει άγνωστες μέση τιμή και τυπική απόκλιση αλλά και επειδή το πλήθος των δεδομένων μας δεν είναι αρκετά μεγάλο.

Σύμφωνα με τον ορισμό στατιστικού τεστ κατά *Lilliefors*, η τιμή του υπολογίζεται ως:

$$D = \max_X |F^*(X) - S_n(X)|$$

όπου X είναι το ιεραρχημένο κατά αύξουσα τιμή δείγμα μετρήσεων, $F^*(X)$ είναι η CDF (συνάρτηση αθροιστικής πυκνότητας) του δείγματος X και S_n είναι η CDF της κανονικής κατανομής. Η κανονική κατανομή υπολογίζεται με μέση τιμή μ και τυπική απόκλιση σ ίσες με αυτές του X ως ακολούθως:

$$N(i) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-0.5\left(\frac{i-\mu}{\sigma}\right)^2}$$

Η CDF του X υπολογίζεται ως ακολούθως:

$$CDF(X) = \sum_{k=0}^i X(k), i = 1, 2, 3, \dots, N$$

Εάν το D είναι μεγαλύτερο κάποιας τιμής που καθορίζεται από συγκεκριμένο πίνακα για το πλήθος δεδομένων του X και επίπεδο σημαντικότητας το $p=0.05$, τότε η κατανομή του X δεν είναι κανονική.

4.4.1. Έλεγχος κατανομής δείγματος

Ακολουθώς δίνεται ο κώδικας για έλεγχο χαρακτηριστικών με την μέθοδο Lilliefors.

```
%-----Lilliefors test-----%
function []=Lilliefors(class1,class2,featureNames)
fprintf('\n in Lilliefors:\n');
for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
    [h1,p1] =lillietest(x1);
    [h2,p2] =lillietest(x2);
    if (h1==0 && h2==0)
        fprintf('for feature %3d %20s : Normality p1= %4.3f p2= %4.3f \n',i,featureNames{i},p1,p2);
    end
end
end
```

Σχήμα 4.10: Δοκιμασία Lilliefors για τον έλεγχο της κανονικότητας της κατανομής των χαρακτηριστικών.

4.4.2. Στατιστική Δοκιμασία Student t-test

Στην περίπτωση κανονικών κατανομών ($p > 0.05$ στη Lilliefors δοκιμασία), χρησιμοποιείται η δοκιμασία **Student t-test** για να ευρεθεί η στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών μίας παραμέτρου σε δύο κατηγορίες (π.χ. αν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο εμβαδόν των πυρήνων μεταξύ των κατηγοριών «βαθμού κακοήθειας Ι» και «βαθμού κακοήθειας ΙΙ»).

Το στατιστικό κριτήριο t ορίζεται ως:

$$t = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\frac{s^2}{N_1} + \frac{s^2}{N_2}}} \quad (4.29)$$

όπου, μ_1, μ_2 είναι οι μέσες τιμές των δύο κατηγοριών (ή κλάσεων), N_1, N_2 είναι το πλήθος των δεδομένων στις 2 κλάσεις, και s^2 δίνεται από την:

$$s^2 = \frac{(N_1 - 1)\sigma_1^2 + (N_2 - 1)\sigma_2^2}{N_1 + N_2 - 2} \quad (4.30)$$

όπου σ_1 και σ_2 είναι οι τυπικές αποκλίσεις των δύο κλάσεων.

Ακολουθώς δίνεται ο κώδικας για έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ δύο κλάσεων με την μέθοδο Student t-test.

```
%-----Student t-test-----%
function []=student_ttest(class1,class2,featureNames)
fprintf('\n in students ttst:\n');
for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
    [h,p]=ttest2(x1,x2);
    if (p<0.05)
        fprintf('for feature %3d %20s : p= %4.3f \n',i,featureNames{i},p)
    end
end
```

Σχήμα 4.11: Δοκιμασία Students t-test για τον έλεγχο της διαφοράς των μέσων τιμών.

4.4.3. Στατιστική Δοκιμασία Anova

Στην περίπτωση περισσοτέρων των δύο κατηγοριών και για χαρακτηριστικά με κανονική κατανομή, χρησιμοποιείται η **one-way-Anova** (π.χ αν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές μίας παραμέτρου ανάμεσα σε 3 κατηγορίες, όπως είναι οι κατηγορίες βαθμού κακοήθειας I, II, και III). Η μέθοδος λειτουργεί εξετάζοντας τις διασπορές των δεδομένων σε κάθε ομάδα. Υπολογίζεται η μεταξύ των ομάδων διασπορά και η ανάμεσα σε κάθε ομάδα διασπορά και σχηματίζεται το πηλίκο των δύο διασπορών. Αν οι δύο αυτές διασπορές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά, τότε: 1) οι μέσες τιμές κάποιων ομάδων θα διαφέρουν και 2) θα πρέπει να καθοριστεί ποιά ζεύγη ομάδων είναι διαφορετικά.

Πιο συγκεκριμένα, υπολογίζονται δύο ποσότητες: α) η **μέση τιμή** των διασπορών **μεταξύ** των ομάδων, β) η **μέση τιμή** των διασπορών **ανάμεσα** σε κάθε ομάδα και γ) το **στατιστικό κριτήριο F**, που είναι ο λόγος (α)/(β) και που η στατιστική σημαντικότητά του προκύπτει από την σύγκριση της τιμής του F και των τιμών πίνακα F [47]. Αν $p < 0.05$, τουλάχιστον, τότε οι μέσες τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά και θα πρέπει να ευρεθεί ποια από τα ζεύγη των κλάσεων διαφέρουν μεταξύ τους, ώστε να καταλήξουμε σε χρήσιμα συμπεράσματα.

Ο πίνακας της μεθόδου Ανοva δίνεται παρακάτω:

Πίνακας 4.1: Υπολογισμός διασπορών και F-test για one-way Anova.				
Πηγή Διακύμανσης	Άθροισμα Τετραγώνων (SS)	Βαθμοί ελευθερίας	Μέση διακύμανση (MS)	F-test
Μεταξύ ομάδων	$SS_b = \sum_{i=1}^c n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	c-1	$V_b = \frac{SS_b}{c-1}$	$F = \frac{V_b}{V_w}$
Ανάμεσα σε ομάδες	$SS_w = \sum_{i=1}^c \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	N-c	$V_w = \frac{SS_w}{N-c}$	

c : ο αριθμός των ομάδων

n_i : ο αριθμός των δειγμάτων στην ομάδα i

x_{ij} : δείγμα j ομάδας i

$\bar{x}$: μέση τιμή των δειγμάτων όλων των ομάδων

$\bar{x}_i$: μέση τιμή ομάδας και N : ο συνολικός αριθμός των δειγμάτων σε όλες τις ομάδες.

Η εύρεση των ανά δύο συγκρίσεων για εύρεση εκείνων με στατιστικά σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές τους πραγματοποιείται με βάση τον παρακάτω τύπο της λιγότερο σημαντικής διαφοράς (**Least Significance Difference** ή **LSD**).

$$LSD_i = \sqrt{\frac{2 * V_w * F_{c-2, N-c}}{n_i}} \quad (4.31)$$

όπου V_w είναι η μέση διακύμανση ανάμεσα στις ομάδες n_i , c , και N είναι ως ορίζονται στον ανωτέρω πίνακα της Ανοva. Στη συνέχεια υπολογίζονται οι απόλυτες διαφορές των μέσων τιμών των ομάδων ανά δύο, και συγκρίνονται με την μικρότερη τιμή της LSD. Στατιστικά σημαντικές διαφορές υπάρχουν στις συγκρίσεις ομάδων που έχουν διαφορές μεγαλύτερες του μικρότερου LSD. Στις τελευταίες, εφόσον είναι επιθυμητό, πραγματοποιείται η στατιστική δοκιμασία Student t-test ώστε να ευρεθεί το ακριβές επίπεδο σημαντικότητας (p).

Ακολούθως δίνεται ο κώδικας για έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ τριών κλάσεων με την μέθοδο Ανοva.

```
%-----ANOVA test-----%
function []=ANOVA(class1,class2,class3,featureNames)
fprintf('\n in ANOVA : \n');
for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
```

```

x3=class3(:,i);
X1=[x1;x2;x3];
Y1=[ones(size(x1,1),1);2*ones(size(x2,1),1);3*ones(size(x3,1),1)];
p=anova1(X1,Y1,'off');
if (p<0.05)
    fprintf('in ANOVA : for feature %3d %20s : p= %4.3f \n',i,featureNames{i},p)
end
end

```

Σχήμα 4.12: Δοκιμασία Ανοβα για τον έλεγχο της διαφοράς χαρακτηριστικών σε τρεις κατηγορίες.

4.4.4. Στατιστική δοκιμασία Wilcoxon

Σε περιπτώσεις που αφορούν μη-κανονικές ($p < 0.05$ στη Lilliefors δοκιμασία) ή άγνωστες κατανομές των τιμών των παραμέτρων, χρησιμοποιούνται αντίστοιχα η δοκιμασία **Wilcoxon**, για τιμές μίας παραμέτρου από δύο κατηγορίες, και το **Kruskal-Wallis** για εύρεση στατιστικών διαφορών σε περισσότερες των δύο κατηγοριών.

Το *Wilcoxon* επεξεργάζεται τα δεδομένα ως ακολούθως:

1) Τα δεδομένα και των 2 κλάσεων ομαδοποιούνται, κρατώντας πάντα σημείωση για την κλάση από την οποία κάθε δεδομένο προέρχεται και ιεραρχούνται κατά αύξουσα σειρά. Αν υπάρχουν σχηματισμοί ίδιων αριθμών στα δεδομένα, τότε η σειρά ιεράρχησης μεταβάλλεται, δίνοντας ενδιάμεσους αριθμούς ιεράρχησης (π.χ σε αριθμούς 3,5,5,6 με ιεράρχηση 1,2,3,4 η ιεράρχηση μεταβάλλεται σε 1,2.5,2.5,4).

2) Υπολογίζονται τα αθροίσματα T_1 και T_2 των ιεραρχήσεων των δύο κλάσεων, με βάση την τελική συνολική ιεράρχηση, όπως έχει αυτή μεταβληθεί, και με γνώση της κλάσης κάθε δεδομένου.

3) Υπολογίζονται τα U_1 και το U_2 με βάση τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$U_1 = n_1 \times n_2 + \frac{n_1 \times (n_1 + 1)}{2} - T_1 \quad (4.32)$$

$$U_2 = n_1 \times n_2 + \frac{n_2 \times (n_2 + 1)}{2} - T_2$$

όπου, T_1 και T_2 είναι τα αθροίσματα των ιεραρχήσεων των δύο κλάσεων, n_1 , n_2 το πλήθος των δεδομένων στις κλάσεις 1 και 2.

Με βάση το μικρότερο U , και τον αριθμό των δεδομένων σε κάθε κλάση γίνεται αναφορά σε πίνακες για την εύρεση της στατιστικής σημαντικότητας (p) μεταξύ των δύο κλάσεων.

Ακολούθως δίνεται ο κώδικας για έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ δύο κλάσεων με την δοκιμασία *Wilcoxon*.

```
%-----
%-----WILCOXON test-----
%-----
function []=wilcoxon(class1,class2,featureNames)
fprintf('\n in wilcoxon :\n');

for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
    [h,p,ci,stats]=ttest2(x1,x2);
    if(p<0.05)
        fprintf('for feature %3d %20s : p= %4.3f \n',i,featureNames{i},p)
    end
end
end
```

Σχήμα 4.13: Δοκιμασία Wilcoxon για τον έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ δύο κλάσεων.

4.4.5. Στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis

Η δοκιμασία **Kruskal-Wallis** ακολουθεί τα ακόλουθα βήματα:

Για 3 ή περισσότερες κατηγορίες:

1) Τα δεδομένα ομαδοποιούνται - ιεραρχούνται, οι ιεραρχήσεις μεταβάλλονται, και τα αθροίσματα των ιεραρχήσεων των κλάσεων υπολογίζονται με ακριβώς τον ίδιο τρόπο όπως με το Wilcoxon, όπως περιγράφηκε αναλυτικά ανωτέρω.

2) Το στατιστικό κριτήριο υπολογίζεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$H = \left[\frac{12}{N \times (N+1)} \times \sum \frac{T_c^2}{n_c} \right] - 3 \times (N+1) \quad (4.33)$$

όπου c είναι ο αριθμός των κλάσεων, T_c και N_c είναι τα αθροίσματα των ιεραρχήσεων και το πλήθος των δεδομένων σε κάθε κλάση. Η στατιστική σημαντικότητα ευρίσκεται ανατρέχοντας σε κατάλληλους πίνακες. Εφόσον υπάρχει

στατιστικά σημαντική διαφορά τότε ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε στην Ανοη για εύρεση των ζευγών που έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

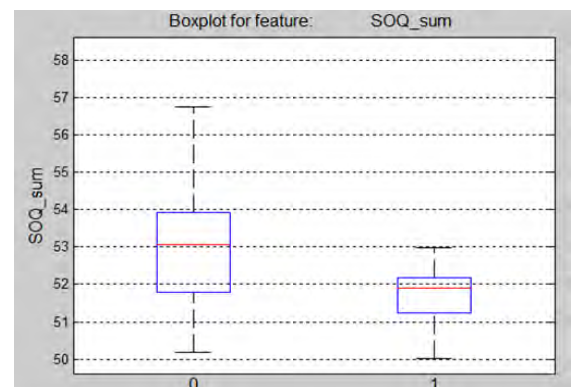
Ακολουθώς δίνεται ο κώδικας για έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ τριών κλάσεων με την δοκιμασία *Kruskal-Wallis*.

```
%-----KRUSKAL-WALLIS test-----%
function []=KS(class1,class2,class3,featureNames)
fprintf('\n in Kruskal wallis:\n');
for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
    x3=class3(:,i);
    X1=[x1;x2;x3];
    Y1=[ones(size(x1,1),1);2*ones(size(x2,1),1);3*ones(size(x3,1),1)];
    p=kruskalwallis(X1,Y1,'off');
    if(p<0.05)
        fprintf('in Kruskal wallis: for feature %3d %20s : p= %4.3f \n',i,featureNames{i},p)
    end
end
```

Σχήμα 4.14: Δοκιμασία Kruskal-Wallis για τον έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ τριών κλάσεων.

Σε κάθε μία από τις δοκιμασίες αυτές, εφόσον ευρεθεί ότι για κάποια χαρακτηριστικά υπάρχει **στατιστικά σημαντική διαφορά** μεταξύ των κλάσεων, είναι επιθυμητό να ελέγχονται και οπτικά οι διαφορές στις διακυμάνσεις των τιμών του κάθε χαρακτηριστικού στις διάφορες κλάσεις. Αυτό διευκολύνει στην εκτίμηση της τάσης των τιμών του χαρακτηριστικού όσο π.χ αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας I, II, III. Αυτό επιτυγχάνεται βάσει σχεδιαγραμμάτων **boxplots**. Ακολουθώς δίνεται ο κώδικας δημιουργίας των boxplots.

```
function []=drawBoxPlot(X1,Y1,ic,i,fNames)
figure(ic);
h=boxplot(X1,Y1);
set(h(7,:), 'Visible', 'off');
h = findobj(gca, 'Type', 'text');
set(h, 'FontSize', 12)
s=sprintf('Boxplot for feature: %20s', fNames{i});
title(s, 'FontSize', 12, 'interpreter', 'none');
ylabel(fNames{i}, 'FontSize', 12, 'interpreter', 'none');
grid on;
```



Σχήμα 4.15: Boxplots για οπτικό έλεγχο της διασποράς των τιμών χαρακτηριστικών ανάμεσα σε κλάσεις.

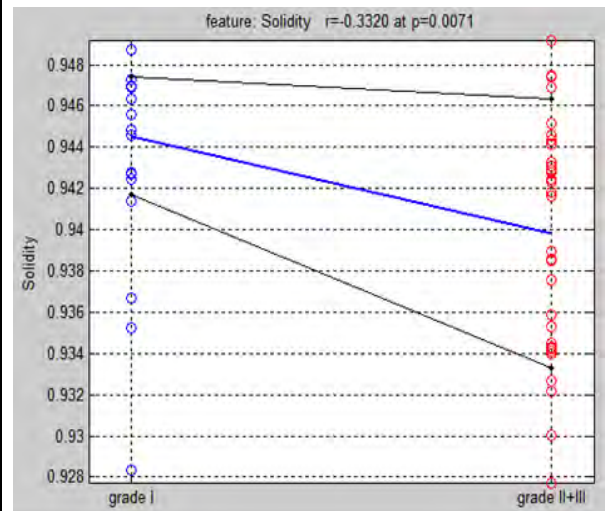
4.4.6. Συσχέτιση

Όπως γίνεται αντιληπτό από το **Σχήμα 4.15**, υπάρχει μία πτωτική τάση στις τιμές του χαρακτηριστικού από την χαμηλού βαθμού κακοήθειας στην υψηλού βαθμού. Στην ανάλυση ιατρικής εικόνας, είναι πολλές φορές επιθυμητό να γνωρίζουμε κατά πόσο η πτώση αυτή είναι στατιστικά πραγματική. Προς τούτο, χρησιμοποιείται η συσχέτιση **Point Biserial correlation** (*PBcorr*) [48], ειδικά οι μετρήσεις των χαρακτηριστικών μπορούν να ανήκουν σε μία από 2 κατηγορίες (π.χ. χαμηλού ή υψηλού βαθμού κακοήθειας). Ο συντελεστής συσχέτισης *PBcorr* υπολογίζεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$r_{PBcorr} = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sigma} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{N}} \quad (4.34)$$

όπου για 2 κατηγορίες οι $\mu_1, \mu_2, n_1, n_2, N, \sigma$ είναι: μ_1, μ_2 οι μέσες τιμές του χαρακτηριστικού, n_1, n_2 το πλήθος των δεδομένων σε κάθε κλάση, N ο αριθμός των δεδομένων και στις δύο κλάσεις μαζί, και σ είναι η τυπική απόκλιση όλων των δεδομένων. Είναι σημαντικό η συσχέτιση που θα ευρεθεί να ελεγχθεί αν το αποτέλεσμα είναι τυχαία διαφορετικό από την μηδενική τιμή, δηλαδή πρέπει τουλάχιστον $p < 0.05$. Αυτό πραγματοποιείται με βάση την σχέση *Wilcoxon* (για 2 μη-κανονικές ή άγνωστες κατανομές) ή του *student t-test* (για 2 κανονικές κατανομές), όπου σαν είσοδο έχουμε τα δεδομένα των δύο κλάσεων. Ακολούθως δίνεται ο αλγόριθμος της *Point Biserial correlation*.

```
%-----point biserial correlation-----
%-----
function
[]=pointBiserialCorr(X1,Y1,i,ic,featureNames,textClass
)
type=1; %type 0 for normal 1:for not normal
distribution
[rho,pCorr]=function_pbsCorr(X1,Y1,0.05,type);
fprintf('for feature %20s : r= %4.3f p= %4.3f \n',...
featureNames{i},rho, pCorr);
%-----
%-----
function [rho,p,h]=function_pbsCorr(X,Y,alpha,type)
Y = logical(Y);N = length(Y);
M = sum(Y);M0 = sum(~Y);
x1 = mean(X(Y));x0 = mean(X(~Y));
sx = std(X);
%correlation coefficient
```



```
rho = (x1-x0)/sx*sqrt (M0*M/N^2);
switch type
case 0
[h,p] = ttest2(X(Y),X(~Y),alpha);
case 1
[p,h] = ranksum(X(Y),X(~Y),alpha);
end
```

Σχήμα 4.16: Αλγόριθμος για την Point Biserial correlation καθώς και μία γραφική παράσταση για την μεταβολή ενός χαρακτηριστικού με την εξέλιξη της κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα.

Για περισσότερες των 2 κατηγοριών (π.χ κακοήθεια I, II, III), όπου οι τιμές ενός χαρακτηριστικού μπορεί να ανήκουν σε μία από τρεις κατηγορίες χρησιμοποιείται η συσχέτιση **Pearsons**, θεωρώντας γραμμική σχέση, και για μη-κανονικές ή άγνωστες κατανομές (που μπορεί να είναι και κανονικές) μονοτονικά μεταβαλλόμενες, που μπορεί να είναι και μη-γραμμικές, χρησιμοποιείται η δοκιμασία **Spearman** (*Spearman's*).

Ο συντελεστής συσχέτισης *Pearsons* δίνεται από την ακόλουθη σχέση:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{(\sum (x_i - \bar{x})^2)(\sum (y_i - \bar{y})^2)}} \quad (4.35)$$

όπου x_i και y_i είναι τα δεδομένα της κλάσης x και y και $\bar{x}, \bar{y}$ είναι οι μέσες τιμές των κλάσεων. Η ανωτέρω σχέση μπορεί να γενικευθεί και για περισσότερες κατηγορίες.

Ο συντελεστής συσχέτισης *Spearman's* δίνεται από σχέση:

$$r = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)} \quad (4.36)$$

όπου $d_i = rx_i - ry_i$ είναι οι διαφορές μεταξύ των βαθμών ιεράρχησης και που οι τιμές των x_i και y_i μετατρέπονται σε βαθμούς κατάταξης rx_i και ry_i , όπως αναλύθηκε στην *Wilcoxon* στατιστική δοκιμασία.

Ακολουθώς δίνεται ο αλγόριθμος της Spearman/Pearson correlation.

```
%-----Spearman/Pearson correlation-----%
function []=spearmanCorr(class1,class2,class3,featureNames)
fprintf('\n in correlation : \n');
for i=1:size(class1,2)
    x1=class1(:,i);
    x2=class2(:,i);
    x3=class3(:,i);
    X1=[x1;x2;x3];
    Y1=[0*ones(size(x1,1),1);1*ones(size(x2,1),1);2*ones(size(x3,1),1)];
    [r,p]=corr(X1,Y1,'type','Spearman'); %Pearson for normal distribution
    if(p<0.05)
        fprintf('correlation: for feature %3d %20s : r= %4.3f p= %4.3f \n',i,featureNames{i},r, p)
    end
end
end
```

Σχήμα 4.17: Αλγόριθμος για την Spearman/Pearson correlation.

4.5. Συμπεράσματα

Στο κεφάλαιο 4 αναπτύχθηκαν οι μεθοδολογίες: 1) για την ποσοτικοποίηση των ιδιοτήτων της υφής, παρυφής, μορφολογίας, σχήματος και της εντός του κυττάρου διασποράς των πυρήνων, στοιχεία που αξιολογούν οπτικά οι γιατροί κατά την εξέταση με μικροσκόπιο των δειγμάτων βιοψίας και 2) για την ανάλυση με στατιστικές μεθόδους των τιμών των χαρακτηριστικών ανάμεσα στις κατηγορίες χαμηλού και υψηλού βαθμού κακοήθειας, ώστε να προκύψουν χρήσιμα συμπεράσματα για την διαφοροποίηση του πυρήνα με αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας.

Για την ποσοτικοποίηση της υφής του πυρήνα, δημιουργήθηκαν: 1) τα χαρακτηριστικά πρώτης τάξης (4 *χαρακτηριστικά*) από το ιστόγραμμα της γκρι εικόνας του πυρήνα (μέση τιμή, τυπική απόκλιση, ασυμμετρία, κύρτωση), 2) τα χαρακτηριστικά δεύτερης τάξης, που υπολογίστηκαν από τις μήτρες συνεμφάνισης παρακείμενων τόνων του γκρι (24 *χαρακτηριστικά*) και από τις μήτρες μήκους διαδρομής (10 *χαρακτηριστικά*) και 3) τα χαρακτηριστικά που υπολογίστηκαν από την ανάλυση της εικόνας του πυρήνα με διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων (8 *χαρακτηριστικά*). Για την εκτίμηση της μορφολογίας και του σχήματος των πυρήνων δημιουργήθηκαν χαρακτηριστικά για τον υπολογισμό μεγεθών του πυρήνα, όπως το εμβαδόν της επιφάνειας, το μέγεθος του μεγαλύτερου και μικρότερου άξονα, το

μήκος της περιμέτρου, συνολικά δέκα (10) χαρακτηριστικά μορφολογίας πυρήνα. Για την εκτίμηση του σχήματος του πυρήνα δημιουργήθηκαν χαρακτηριστικά που υπολόγιζαν ιδιότητες του σχήματος της περιμέτρου, όπως είναι η ομαλότητα, η τραχύτητα, η κυκλικότητα του περιγράμματος, συνολικά έξι (6) χαρακτηριστικά σχήματος. Για την διασπορά των πυρήνων στο κύτταρο, δημιουργήθηκαν επτά (7) χαρακτηριστικά από το MST-δέντρο.

Για την ανάλυση των τιμών των χαρακτηριστικών, εφαρμόστηκαν στατιστικές μέθοδοι για την εξέταση της κανονικότητας των κατανομών των χαρακτηριστικών (στατιστικό κριτήριο *Lilliefors*), για την εξέταση της ύπαρξης στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ 3 κατηγοριών βαθμού κακοήθειας (I, II, και III) με στατιστικό κριτήριο *Kruskal-Wallis* για μη-κανονικές κατανομές και *Anova* για κανονικές κατανομές χαρακτηριστικών, και μεταξύ δύο κατηγοριών βαθμού κακοήθειας (χαμηλού – υψηλού βαθμού), με στατιστικό κριτήριο *Wilcoxon* για μη-κανονικές και *t-test* για κανονικές κατανομές χαρακτηριστικών. Τέλος, εξετάστηκαν σχέσεις συσχέτισης για την εκτίμηση της μεταβολής των τιμών των χαρακτηριστικών με προϋούσα κακοήθεια.

Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι τα χαρακτηριστικά δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή, επομένως χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες *Kruskal - Wallis* και *Wilcoxon*, για εύρεση διαφορών μεταξύ τριών και δύο κλάσεων αντίστοιχα, και οι *Spearman* και *Point Biserial* μέθοδοι για την συσχέτιση για τρεις και δύο κλάσεις αντίστοιχα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - Μέθοδοι σχεδιασμού συστημάτων υποστήριξης απόφασης

5.1. Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται: α) μέθοδοι επιλογής βέλτιστων χαρακτηριστικών στον σχεδιασμό συστημάτων υποστήριξης απόφασης, όπως η βαθμωτή και η διανυσματική μέθοδος, β) διάφοροι αλγόριθμοι ταξινομητών, όπως οι βασισμένοι σε εκτιμήσεις των αποστάσεων μεταξύ κατηγοριών, σε νευρωνικά δίκτυα, σε μηχανές διανυσμάτων υποστήριξης, γ) μέθοδοι αξιολόγησης της αξιοπιστίας των συστημάτων υποστήριξης απόφασης, ως αναπόσπαστο μέρος του σχεδιασμού των συστημάτων. Τέλος, παρουσιάζονται οι μεθοδολογίες παράλληλης επεξεργασίας σε πολυ-πύρηνους επεξεργαστές, απαραίτητες για την εύρεση του βέλτιστου σχεδιασμού συστημάτων αναγνώρισης προτύπων.

5.2. Αρχές και αλγόριθμοι αναγνώρισης προτύπων

Σε καθημερινή κλινική πράξη η τελική διάγνωση βασίζεται κυρίως στην ιστολογική διάγνωση, η οποία αποτελεί και καθοριστικό παράγοντα στην περεταίρω αγωγή του ασθενούς. Εντούτοις, η πιθανότητα λάθους στην ιστολογική διάγνωση δεν μπορεί να αποκλειστεί και διεθνώς έχει επισημανθεί σε επιστημονικές μελέτες ότι το λάθος κυμαίνεται μεταξύ 5%-30%, εξαρτώμενο και από την κλινική εμπειρία του γιατρού [49]. *Σαν μία προσπάθεια μείωσης του λάθους έχουν προταθεί συστήματα υποβοήθησης διάγνωσης, βασιζόμενα στις αρχές της αναγνώρισης προτύπων, επιστημονικού κλάδου που έχει τύχει μεγάλης ανάπτυξης τα τελευταία χρόνια με πολλές εφαρμογές.*

Τα συστήματα υποβοήθησης ιστολογικής διάγνωσης, έχουν αναπτυχθεί και υπάρχουν πολλές εμπορικές εφαρμογές, που επεξεργαζόμενα την ιστολογική ή κυτταρολογική εικόνα αποφαίνονται ως προς το βαθμό κακοήθειας της αλλοίωσης ή την επιβίωση του ασθενούς. Τα συστήματα υποβοήθησης ιστολογικής διάγνωσης αποτελούνται από τα ακόλουθα κύρια μέρη:

Λήψη μικροσκοπικής εικόνας, με διασύνδεση του οπτικού μικροσκοπίου σε υπολογιστή μέσω κατάλληλου υλικού και λογισμικού για αυτόματη ρύθμιση

στοιχείων της εικόνας, ψηφιοποίηση της εικόνας, και μεταφορά της στον προσαρτημένο στο μικροσκόπιο υπολογιστή.

Επεξεργασία της ψηφιοποιημένης εικόνας και τμηματοποίησή της για διαχωρισμό των απεικονιζόμενων πυρήνων του κυττάρου από τον παρακείμενο ιστό.

Υπολογισμό πολλών χαρακτηριστικών παραμέτρων (features) από κάθε πυρήνα που αφορούν στην ποσοτικοποίηση ιδιοτήτων της υφής και παρυφής και του σχήματος του πυρήνα καθώς και της συγκέντρωσης των πυρήνων εντός του κυττάρου.

Ελαχιστοποίηση και επιλογή των καλύτερων χαρακτηριστικών, τα οποία να διαθέτουν υψηλή διαχωριστική ικανότητα μεταξύ των διαφόρων κλάσεων (π.χ. κατηγοριών βαθμού κακοήθειας), ώστε να χρησιμοποιηθούν στον σχεδιασμό του συστήματος υποβοήθησης ιστολογικής διάγνωσης.

Σχεδιασμός ταξινομητή, δηλαδή τον σχηματισμό ενός κανόνα πρόβλεψης (prediction rule), με βάση κάποια συνάρτηση διαχωρισμού (discriminant function) και παραμέτρους τα βέλτιστα χαρακτηριστικά των πυρήνων, που να ταξινομεί τα δεδομένα με καλή ακρίβεια σε κλάσεις, υποβοηθώντας έτσι την διάγνωση του παθολογοανατόμου.

Αξιολόγηση συστήματος, που ακολουθεί τον σχεδιασμό του ταξινομητή ώστε να καθοριστεί η ακρίβεια του συστήματος στην ταξινόμηση δεδομένων γνωστής διάγνωσης αλλά και εκτίμηση της ακρίβειας του συστήματος σε νέα δεδομένα, άγνωστης κατηγοριοποίησης.

Τα τμήματα της λήψης και επεξεργασίας της ιστοπαθολογικής εικόνας, όπως και του υπολογισμού των χαρακτηριστικών έχουν καλυφθεί στα κεφάλαια 2,3 και 4. Ακολουθεί αναλυτική παρουσίαση των υπόλοιπων τμημάτων του σχεδιασμού του συστήματος υποβοήθησης ιστολογικής διάγνωσης.

5.3. Επιλογή χαρακτηριστικών

Μετά την δημιουργία των χαρακτηριστικών, απαραίτητο στάδιο στο σχεδιασμό ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων είναι η επιλογή ενός μικρού υποσυνόλου χαρακτηριστικών, των οποίων ο συνδυασμός

συμβάλει στον καλύτερο διαχωρισμό των κλάσεων. Τα χαρακτηριστικά αυτά θα χρησιμοποιηθούν στην συνάρτηση διαχωρισμού του ταξινομητή για επίτευξη ταξινόμησης υψηλής ακρίβειας. Αυτό το στάδιο σχεδιασμού είναι πολύ σημαντικό, γιατί μία ατυχής επιλογή χαρακτηριστικών θα κατέληγε στον σχεδιασμό συστήματος χαμηλής επίδοσης ή μία επιλογή πολλών χαρακτηριστικών μπορεί να καταλήξει σε σύστημα υπερεκτιμημένης επίδοσης, το οποίο σε νέα δεδομένα θα είχε χαμηλή ακρίβεια. Επομένως, οι τεχνικές που ακολουθούν αποσκοπούν στην επιλογή ενός βέλτιστου συνδυασμού χαρακτηριστικών υψηλής διαχωριστικής ικανότητας τόσο στα υπάρχοντα δεδομένα σχεδιασμού όσο και σε νέα δεδομένα.

Υπάρχουν δύο κύριες κατηγορίες επιλογής υποσυνόλου χαρακτηριστικών, η βαθμωτή και η διανυσματική [34, 45].

Κατά την *βαθμωτή επιλογή*, κάθε χαρακτηριστικό εξετάζεται μεμονωμένα και με βάση κάποιο στατιστικό κριτήριο, όπως για παράδειγμα είναι το *t-test*, *Wilcoxon test*, ή *ROC*, ιεραρχούνται σε σειρά φθίνουσας τιμής και από αυτά επιλέγονται, ένα μικρό υποσύνολο, τα N καλύτερα. Στη συνέχεια, από τα N επιλεγμένα σχηματίζονται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί χαρακτηριστικών και χρησιμοποιείται κάποιο κριτήριο διαχωρισμού (π.χ. η απόσταση των κατηγοριών) ή η συνάρτηση ενός ταξινομητή, με σκοπό την επιλογή του καλύτερου συνδυασμού χαρακτηριστικών που προσφέρει την υψηλότερη ακρίβεια με τον μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών. Επειδή υπάρχει περίπτωση αλληλο-συσχέτισης μεταξύ των επιλεγμένων χαρακτηριστικών, με αποτέλεσμα την λανθασμένη εκτίμηση της ακρίβειας ταξινόμησης, το κριτήριο ιεράρχησης των χαρακτηριστικών μετατρέπεται έτσι ώστε να εμπεριέχει και ένα κριτήριο αλληλοσυσχέτισης.

Συγκεκριμένα, έστω f_1 το καλύτερο χαρακτηριστικό στην ιεράρχηση κατά ένα στατιστικό κριτήριο C . Για την επιλογή του δεύτερου κατά σειρά σημαντικού χαρακτηριστικού f_2 , χρησιμοποιείται η παρακάτω εξίσωση:

$$f_2 = \max_j \left\{ w_1 C_j - w_2 \left| \rho_{f_1, j} \right| \right\}, \quad j \neq f_1 \quad (5.1)$$

όπου C_j είναι η τιμή του στατιστικού κριτηρίου του j χαρακτηριστικού, και $\rho_{f_1, j}$ είναι η ετερο-συσχέτιση μεταξύ του f_1 και κάποιου άλλου χαρακτηριστικού με $j \neq f_1$, και w_1 και w_2 είναι παράμετροι που καθορίζουν την βαρύτητα του στατιστικού τεστ και του συντελεστή ετερο-συσχέτισης [34]. Οι τιμές τους ήταν $w_1=w_2=0.5$, δηλαδή

δόθηκε ίδια βαρύτητα τόσο στο στατιστικό κριτήριο που εκτιμά την στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των κατηγοριών όσο και στην συσχέτιση μεταξύ των χαρακτηριστικών.

Ο συντελεστής ετεροσυσχέτισης δίνεται από την σχέση:

$$\rho_{i,j} = \frac{\sum_{n=1}^N x_{ni} x_{nj}}{\sqrt{\sum_{n=1}^N x_{ni}^2 \sum_{n=1}^N x_{nj}^2}} \quad (5.2)$$

όπου N είναι ο αριθμός των προτύπων, x_{ni} είναι το i χαρακτηριστικό του n προτύπου και x_{nj} είναι το j χαρακτηριστικό του n προτύπου.

Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά επιλέγονται όπως στην επόμενη εξίσωση, όπου λαμβάνεται υπόψη η μέση συσχέτιση με όλα τα προηγουμένως επιλεγέντα χαρακτηριστικά.

$$f_k = \max_j \left\{ w_1 C_j - \frac{w_2}{k-1} \sum_{r=1}^{k-1} |\rho_{f_r, j}| \right\}, \quad j \neq f_r, \quad r=1, 2, \dots, k-1 \quad (5.3)$$

Στην *διανυσματική επιλογή* χαρακτηριστικών, σχηματίζονται διάφοροι συνδυασμοί χαρακτηριστικών με στόχο την εύρεση ενός βέλτιστου συνδυασμού, με βάση κάποιο κριτήριο απόστασης ή την επίδοση ενός ταξινομητή. Διακρίνονται δύο μέθοδοι [34, 45], η *βέλτιστη μέθοδος*, που είναι η εξαντλητική αναζήτηση συνδυασμών χαρακτηριστικών (*Exhaustive Search*), και οι *μη-βέλτιστες* μέθοδοι αναζήτησης χαρακτηριστικών.

Κατά την εξαντλητική αναζήτηση, σχηματίζονται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί (ανά 1,2,3,4,5 κλπ), σε κάθε συνδυασμό σχεδιάζεται ο ταξινομητής, εξετάζεται η επίδοση του ταξινομητή με κάποια μέθοδο (π.χ. *leave-one-out*) και τελικά επιλέγεται ως βέλτιστος, εκείνος ο συνδυασμός, που δίνει την υψηλότερη ακρίβεια ταξινόμησης των δεδομένων με τον μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών. Το πρόβλημα με αυτή την μέθοδο είναι ότι αριθμός των πιθανών συνδυασμών είναι πάρα πολύ μεγάλος καθιστώντας τον υπολογιστικό φόρτο μίας τέτοιας μεθοδολογίας απαγορευτικό. Το μέγεθος του προβλήματος γίνεται αντιληπτό όταν υπολογιστεί ο αριθμός M όλων των

δυνατών συνδυασμών μέχρι ανά 5, ανάμεσα σε 40 χαρακτηριστικά. Ο υπολογισμός γίνεται με βάση την σχέση:

$$M = \sum_{k=1}^n \frac{n!}{(n-k)!k!} \quad (5.4)$$

όπου με $n=40$ και $k=5$ δίνει ένα σύνολο 23.242.038 συνδυασμών. Οι μη-βέλτιστες μέθοδοι διακρίνονται στην πρόσθια σειριακή (*Sequential Forward Selection - SFS*) και οπίσθια σειριακή (*Sequential Backward Selection - SBS*) επιλογή χαρακτηριστικών, όπως και σε βελτιωμένες παραλλαγές που είναι η σειριακή πρόσθια κινητής αναζήτησης (*sequential forward floating search*) και σειριακή οπίσθιας κινητής αναζήτησης (*sequential backward floating search*) επιλογή [34, 45].

Για την εφαρμογή αυτών των μεθόδων αναζήτησης συνδυασμών χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται κριτήρια διαχωρισμού κλάσεων. Τέτοια κριτήρια είναι η απόκλιση (*Divergence*), η απόσταση *Bhattacharyya*, ή αποστάσεις που βασίζονται σε μήτρες σκέδασης (*Scatter Matrices*) [34]. Οι μέθοδοι επιλογής χαρακτηριστικών, που υιοθετούν τέτοια κριτήρια διαχωρισμού, ονομάζονται μέθοδοι επιλογής φίλτρου (*Filter selection methods*), και είναι μέθοδοι γρήγορες στην εκτέλεση, συγκριτικά με μεθόδους που ως μέτρο διαχωρισμού κλάσεων χρησιμοποιείται η διαχωριστική ικανότητα ενός ταξινομητή (*wrapper methods*). Οι wrapper μέθοδοι επιτυγχάνουν καλύτερα αποτελέσματα από τις filter μεθόδους αλλά είναι χρονοβόρες, επειδή σε κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών ο ταξινομητής πρέπει να εκπαιδεύεται πολλές φορές (π.χ. αν χρησιμοποιηθεί η LOO μέθοδος αξιολόγησης της διαχωριστικής ικανότητας ενός συνδυασμού χαρακτηριστικών).

5.3.1. Κριτήριο διαχωρισμού «Απόκλιση (Divergence)»

Θεωρώντας κανονικές κατανομές, η απόκλιση μεταξύ δύο κλάσεων είναι:

$$d_{1,2} = \frac{1}{2} \text{trace} \{ C_1^{-1} C_2 + C_2^{-1} C_1 - 2I \} + \frac{1}{2} (m_1 - m_2)^T (C_1^{-1} + C_2^{-1}) (m_1 - m_2) \quad (5.5)$$

όπου C_1, C_2 είναι οι μήτρες συνδιακύμανσης των δύο κατηγοριών, m_1, m_2 είναι τα μέσα διανύσματα των κλάσεων, $trace$ είναι συμβολισμός για τον υπολογισμό του αθροίσματος των όρων της διαγωνίου μίας τετράγωνης μήτρας, και I είναι ο ταυτοτικός πίνακας. Για την περίπτωση που $C_1=C_2$, η εξίσωση της απόστασης των δύο κλάσεων γίνεται:

$$d_{1,2} = (m_1 - m_2)^T C^{-1} (m_1 - m_2) \quad (5.6\alpha)$$

που είναι η απόσταση *Mahalanobis* μεταξύ των μέσων τιμών των δύο κλάσεων. Από τις ανωτέρω εξισώσεις διαπιστώνεται ότι η απόκλιση μεταξύ των κατηγοριών, χρησιμοποιούμενη ως μέτρο διαχωρισμού μεταξύ των κλάσεων, δεν εξαρτάται μόνο από την απόσταση μεταξύ των μέσων τιμών των κλάσεων αλλά επίσης και από την διασπορά των τιμών στο χώρο. Αυτό μπορεί να γίνει εύκολα αντιληπτό αν θεωρήσουμε την περίπτωση ενός χαρακτηριστικού και δύο κλάσεων. Η απόσταση μεταξύ των δύο κατηγοριών, με βάση την εξίσωση 5.5, δίνεται από την:

$$d_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_j^2}{\sigma_i^2} + \frac{\sigma_i^2}{\sigma_j^2} - 2 \right) - \frac{1}{2} (\mu_i - \mu_j) \left(\frac{1}{\sigma_i^2} + \frac{1}{\sigma_j^2} \right) \quad (5.6\beta)$$

όπου μ και σ^2 είναι οι μέσες τιμές και διασπορές των μετρήσεων του χαρακτηριστικού στις δύο κατηγορίες. Καθίσταται εμφανές από την ανωτέρω εξίσωση, ότι η απόκλιση των κατηγοριών εξαρτάται από τις διαφορές των μέσων τιμών και των διασπορών. Επίσης, η απόκλιση d_{ij} μπορεί να είναι μεγάλη ακόμα και όταν οι μέσες τιμές των δύο κατηγοριών είναι πολύ πλησίον μεταξύ τους, εφόσον οι διασπορές τους διαφέρουν σημαντικά.

5.3.2. Κριτήριο διαχωρισμού «Απόσταση Bhattacharyya»

Θεωρώντας κανονικές κατανομές, η απόσταση *Bhattacharyya* μεταξύ δύο κλάσεων ορίζεται ως:

$$d_{1,2} = 0.125(m_1 - m_2)^T \left\{ \frac{C_1 + C_2}{2} \right\}^{-1} (m_1 - m_2) + 0.5 \ln \frac{\frac{C_1 + C_2}{2}}{\sqrt{|C_1||C_2|}} \quad (5.7)$$

και χρησιμοποιείται για εκτίμηση της απόκλισης μεταξύ των κλάσεων. Συγκρίνοντας τις εξισώσεις 5.6α και 5.7, γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι για την περίπτωση που $C_1 = C_2$, η απόσταση Bhattacharyya προσομοιάζει της απόστασης Mahalanobis μεταξύ των μέσων τιμών των δύο κλάσεων. Από αυτή τη διαπίστωση συμπεραίνεται ότι η Bhattacharyya απόσταση είναι πιο γενική και περισσότερο αξιόπιστη από την Mahalanobis, επειδή όταν οι μέσες τιμές των κατηγοριών είναι πλησίον, η Mahalanobis απόσταση είναι κοντά στην μηδενική μεταξύ κατηγοριών απόκλιση ενώ η Bhattacharyya απόσταση θα αυξάνει όσο διαφοροποιούνται οι διασπορές των τιμών του χαρακτηριστικού στις κλάσεις.

5.3.3. Κριτήριο διαχωρισμού «Μήτρες Σκέδασης»

Σε αυτή την κατηγορία δεν θεωρείται σαν προϋπόθεση οι κατανομές των χαρακτηριστικών να είναι κανονικές, όπως συμβαίνει με τα προηγούμενα κριτήρια. Η συγκεκριμένη κατηγορία σχηματίζει κριτήρια διαχωρισμού με βάση τον τρόπο που τα χαρακτηριστικά ή συνδυασμοί χαρακτηριστικών διασπείρονται στις κλάσεις.

Υπάρχουν τρεις (3) συναρτήσεις (J_1 , J_2 , J_3) που υπολογίζουν την διαφορά μεταξύ κλάσεων και που δεν προϋποθέτουν κανονικές κατανομές των δεδομένων.

$$J_1 = \frac{\text{trace}\{S_m\}}{\text{trace}\{S_w\}} \quad (5.8)$$

όπου S_w είναι ο πίνακας σκέδασης εντός της ίδιας κλάσης (within class scatter matrix) και S_b είναι η μήτρα σκέδασης μεταξύ των κλάσεων και ορίζονται ως:

$$S_w = \sum_{i=1}^{n_i} P_i C_i \quad S_b = \sum_{i=1}^N P_i (m_i - m_0)(m_i - m_0)^T \quad m_0 = \sum_{i=0}^{n_i} P_i m_i$$

$$P_i \simeq n_i / N_{total}$$

και

$$S_m = S_w + S_b$$

όπου, n_i ο αριθμός των δειγμάτων στην κλάση i και N_{total} ο συνολικός αριθμός των δειγμάτων σε όλες τις κλάσεις.

Σύμφωνα με αυτό το κριτήριο (σχέση 5.8), η τιμή του αυξάνεται σε περιπτώσεις που οι τιμές των χαρακτηριστικών στις κλάσεις είναι συγκεντρωμένες γύρω από τις μέσες τιμές των κλάσεων. Παραλλαγές του κριτηρίου (σχέση 5.8) είναι όταν χρησιμοποιούνται διακρίνουσες των πινάκων όπως στις σχέσεις (5.9) και (5.10) ακολούθως:

$$J_2 = |S_w^{-1} S_m| \quad (5.9)$$

$$J_3 = trace\{S_w^{-1} S_m\} \quad (5.10)$$

Παρόμοια με το κριτήριο της σχέσης (5.8), υψηλές τιμές των δύο τελευταίων κριτηρίων επιτυγχάνονται σε παρόμοιες περιπτώσεις, δηλαδή της συγκέντρωσης των τιμών των χαρακτηριστικών ή συνδυασμών χαρακτηριστικών, γύρω από τις μέσες τιμές των κατηγοριών. Τα δύο κριτήρια αυτά είναι περισσότερο αξιόπιστα και σταθερά [34] και είναι αυτά που κυρίως χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση της απόστασης των κατηγοριών.

5.3.4. Πρόσθια Σειριακή Επιλογή (Sequential Forward Selection - SFS)

Στην πρόσθια σειριακή αναζήτηση, ξεκινώντας από ένα χαρακτηριστικό, επιλέγεται ένα καινούργιο που όταν συνδυαστεί με τα προηγούμενα, που έχουν επιλεγεί σε προηγούμενα βήματα, δίνει συνδυασμό με υψηλότερη διαχωριστική ικανότητα. Η μέθοδος αυτή λειτουργεί καλύτερα όταν ο επιτρεπόμενος μέγιστος αριθμός

χαρακτηριστικών σε ένα συνδυασμό είναι μικρός (με βάση τον εμπειρικό κανόνα για μη υπερεκτίμηση του αποτελέσματος, πρέπει να μην υπερβαίνει το $1/3$ του αριθμού των προτύπων στην μικρότερη κλάση [34]).

Πιο συγκεκριμένα ο αλγόριθμος SFS ακολουθεί τα εξής βήματα:

1. Πρώτα επιλέγεται ένα κριτήριο διαχωρισμού των κλάσεων, οι οποίες σχηματίζονται από συνδυασμούς χαρακτηριστικών.
2. Για κάθε χαρακτηριστικό υπολογίζεται η τιμή του κριτηρίου διαχωρισμού κλάσεων και επιλέγεται το χαρακτηριστικό με την καλύτερη (υψηλότερη) τιμή κριτηρίου.
3. Με βάση το καλύτερο χαρακτηριστικό, που επιλέχθηκε στο βήμα 1, δημιουργούνται συνδυασμοί του καλύτερου με κάθε ένα από τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά, για κάθε συνδυασμό των 2 χαρακτηριστικών υπολογίζεται το κριτήριο διαχωρισμού, και επιλέγεται εκείνος ο συνδυασμός δύο χαρακτηριστικών με την υψηλότερη τιμή του κριτηρίου.
4. Συνδυάζοντας τον καλύτερο συνδυασμό 2 χαρακτηριστικών με κάθε ένα από τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά, υπολογίζεται το κριτήριο κάθε συνδυασμού 3 χαρακτηριστικών και επιλέγεται ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών που δίνει την υψηλότερη τιμή του κριτηρίου.
5. Η μέθοδος επαναλαμβάνεται μέχρι να σχηματιστούν συνδυασμοί με τον μέγιστο επιτρεπτό αριθμό χαρακτηριστικών (καθοριζόμενος από το $1/3$ των μελών της μικρότερης κλάσης) και επιλέγεται εκείνος με την υψηλότερη τιμή του κριτηρίου διαχωρισμού και το μικρότερο δυνατόν πλήθος χαρακτηριστικών.

5.3.5. Οπίσθια Σειριακή Επιλογή (Sequential Backward Selection - SBS)

Αντίθετα, ο αλγόριθμος SBS, ευρίσκει ένα βέλτιστο συνδυασμό χαρακτηριστικών ακολουθώντας αντίστροφη πορεία από αυτήν του SFS. Πιο συγκεκριμένα:

1. Ξεκινώντας από τον συνδυασμό όλων των n διαθέσιμων χαρακτηριστικών, σχηματίζει συνδυασμούς όλων των χαρακτηριστικών πλην ενός ($n-1$), υπολογίζει τα κριτήρια διαχωρισμού για κάθε συνδυασμό και επιλέγει εκείνο τον συνδυασμό με την βέλτιστη τιμή του κριτηρίου.
2. Χρησιμοποιώντας το βέλτιστο συνδυασμό χαρακτηριστικών του βήματος (1), σχηματίζει όλους τους δυνατούς συνδυασμούς όλων των $n-2$ χαρακτηριστικών και επιλέγει εκείνο τον συνδυασμό με το βέλτιστο κριτήριο διαχωρισμού των κλάσεων.
3. Η ανωτέρω διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι να καταλήξουμε στον καλύτερο συνδυασμό ελάχιστων χαρακτηριστικών που προσφέρει το καλύτερο κριτήριο διαχωρισμού και που ικανοποιεί το κριτήριο του μέγιστου επιτρεπτού αριθμού χαρακτηριστικών.

Το μειονέκτημα αυτών των δύο μεθόδων είναι ότι συχνά παγιδεύονται σε τοπικά ελάχιστα, επειδή δεν έχουν τη δυνατότητα να επανεξετάσουν χαρακτηριστικά τα οποία είχαν προηγουμένως προσθέσει ή απορρίψει.

5.3.6. Σειριακή Πρόσθια και Οπίσθια Κινητή Επιλογή (Sequential Forward and Sequential Backward Floating Selection)

Στην σειριακή πρόσθια κινητή αναζήτηση (SFFS) κάθε φορά που προστίθεται ένα νέο χαρακτηριστικό ο αλγόριθμος εκτελεί ένα οπίσθιο βήμα, αφαιρώντας χαρακτηριστικά εφόσον η διαχωριστική ικανότητα του συνδυασμού αυξάνεται. Αντίθετα, στην σειριακή οπίσθια κινητή αναζήτηση (SBFS), χαρακτηριστικά προστίθενται εφόσον η διαχωριστική ικανότητα του συνδυασμού αυξηθεί. Είναι προφανές ότι στις τεχνικές αυτές η υπολογιστική πολυπλοκότητα αυξάνει, όπως και ο χρόνος σύγκλισης.

5.4. Ταξινόμηση

Ο ταξινομητής είναι ένας αλγόριθμος λήψης αποφάσεων που έχει σχεδιαστεί ή εκπαιδευτεί για να ταξινομεί ένα διάνυσμα χαρακτηριστικών σε μια από τις κατηγορίες C_i , με βάση ένα κριτήριο που συνήθως αναφέρεται ως κανόνας πρόβλεψης (prediction rule). Ο ταξινομητής λειτουργεί με βάση μία συνάρτηση διαχωρισμού κλάσεων (discriminant function), η οποία σχεδιάζεται με βάση την θεωρία του ταξινομητή και τα χαρακτηριστικά. Η σχεδίαση ή η εκπαίδευση των πιο συνηθισμένα χρησιμοποιούμενων ταξινομητών [34, 50, 51] περιγράφεται παρακάτω.

5.4.1. Ταξινομητής Ελάχιστης Απόστασης

Ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης είναι ο απλούστερος των ταξινομητών. Κατηγοριοποιεί ένα πρότυπο ανάλογα με την μικρότερη απόστασή του από τα κέντρα βάρους των υπαρχόντων κλάσεων. Ως απόσταση συνήθως λαμβάνεται η Ευκλείδεια απόσταση. Η συνάρτηση του ταξινομητή είναι:

$$d_j(x) = x^T m_j - 0.5(m_j m_j^T) \quad (5.11)$$

όπου x είναι το διάνυσμα εισόδου, ή πρότυπο, και m_j είναι το κέντρο βάρους της κατηγορίας j .

Ακολουθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή ελάχιστης απόστασης.

```
%-----  
%-----MDC_classifier-----  
%-----  
function [classified]=MDC_classifier (unknown_pattern,cl1,cl2)  
classified=0;  
d(1)=MDC(unknown_pattern,cl1);  
d(2)=MDC(unknown_pattern,cl2);  
if(d(1)>d(2))  
    classified=1;  
else  
    classified=2;  
end  
%-----  
function [G_Class]=MDC(X_patt,class)  
N_feat=size(X_patt,2);  
N_patt=size(class,1);  
G_Class=0;  
sum=0;  
for j=1:N_feat  
    sum=0;  
    for i=1:N_patt  
        sum=sum+class(i,j);
```

```

end
Mean_Class(j)=sum/N_patt;
end
for j=1:N_feat
A=0;B=0;
for j=1:N_feat
A=A+(Mean_Class(j)*X_patt(j));
B=B+(Mean_Class(j)^2);
end
end
G_Class=A-0.5*B;

```

Σχήμα 5.1: Ταξινομητής ελάχιστης απόστασης.

5.4.2. Ταξινομητής K-πλησιέστερων γειτόνων (K-Nearest Neighbour Classifier ή K-NN)

Ο ταξινομητής πλησιέστερου γείτονα είναι ένα μη-παραμετρικός ταξινομητής που ταξινομεί ένα άγνωστο πρότυπο στην κλάση που έχει τον πλησιέστερο γείτονα. Παρόμοια ο K-NN ταξινομεί το άγνωστο πρότυπο στην κλάση με τους περισσότερους πλησιέστερους K γείτονες. Παραλλαγές του πλησιέστερου γείτονα είναι:

K+K – NN: Το άγνωστο πρότυπο ταξινομείται στην κατηγορία με την μικρότερη μέση ευκλείδεια απόσταση από K-γείτονες.

K – NN κατά σταθμισμένη ψήφο: Το άγνωστο πρότυπο ταξινομείται στην κατηγορία με το μεγαλύτερο άθροισμα σταθμισμένης ψήφου, όπου σταθμισμένη ψήφος είναι μία φθίνουσα συνάρτηση της ευκλείδειας απόστασης κάθε προτύπου της κλάσης από το άγνωστο πρότυπο. Ενδεικτικές συναρτήσεις σταθμισμένης ψήφου δίνονται ακολούθως:

$$z = \frac{1}{(d + a)^r}$$

$$z = \frac{1}{a\sqrt{2\pi}} e^{\left(-\frac{d^2}{2a^2}\right)}$$

όπου **a** είναι μία παράμετρος, **r** είναι εκθέτης, και **d** είναι η ευκλείδεια απόσταση.

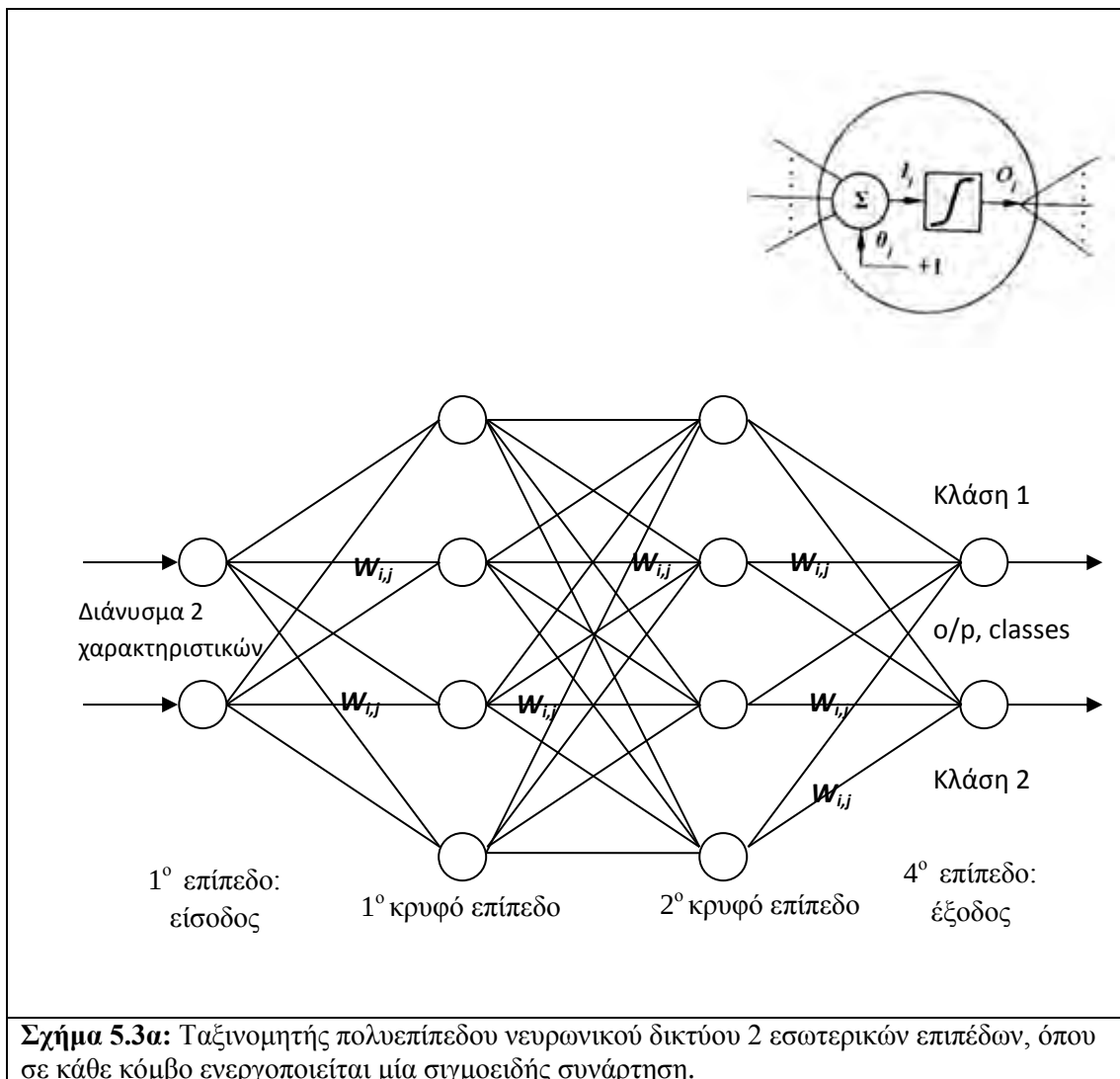
Ακολουθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
%-----KNN_classifier-----  
%  
function [classified]=KNN_classifier(unknown_pattern,class1,class2,K)  
classified=0;  
d(1)=Distance(unknown_pattern,class1,K);  
d(2)=Distance(unknown_pattern,class2,K);  
if(d(1)<d(2))  
    classified=1;  
else  
    classified=2;  
end  
%-----  
function [q]=Distance(X_patt,class,K)  
features=size(class,2); %#features in each class  
N=size(class,1);      %#patterns in class  
%find distances of X_patt from patterns of class  
for i=1:N  
    d=0;  
    for j=1:features  
        d= d+sqrt((X_patt(j)-class(i,j))^2);  
    end  
    val(i)=d;  
end  
%q=min(val);  
z=sort(val)';  
q=sum(z(1:K));
```

Σχήμα 5.2: Ταξινομητής K-Nearest Neighbor.

5.4.3. Ταξινομητής Πιθανοκρατικού Νευρωνικού Δικτύου (Probabilistic Neural Network-PNN)

Τα νευρωνικά δίκτυα είναι δομές που προσομοιάζουν του τρόπου με τον οποίο πιστεύεται ότι διασυνδέονται [50] οι νευρώνες του εγκεφάλου. Στην επιστήμη των υπολογιστών οι νευρώνες θεωρούνται ως οι βασικές υπολογιστικές δομές, που διασυνδέονται μεταξύ τους σε πολυεπίπεδες διατάξεις [50], όπως φαίνεται στο επόμενο **Σχήμα 5.3α** για δύο χαρακτηριστικά στην είσοδο και δύο εσωτερικά (‘κρυφά’) επίπεδα, και χρησιμοποιούνται ως ταξινομητές.



Η εκπαίδευση του νευρωνικού δικτύου πραγματοποιείται με την επαναλαμβανόμενη είσοδο στο νευρωνικό δίκτυο προτύπων, γνωστής κατηγοριοποίησης, και την κατάλληλη μεταβολή των βαρών (w_{ij}) μεταξύ των κόμβων, ώστε τα πρότυπα να ταξινομηθούν στην σωστή κλάση. Σε κάθε κόμβο, ενεργοποιείται μία συνάρτηση

(activation) σιγμοειδούς μορφής (έχουν προταθεί και άλλες συναρτήσεις), ως ακολούθως:

$$y = \frac{1}{1 + \exp\left(-\sum_{i=1}^M x_i W_{i,j}\right)} \quad (5.12\alpha)$$

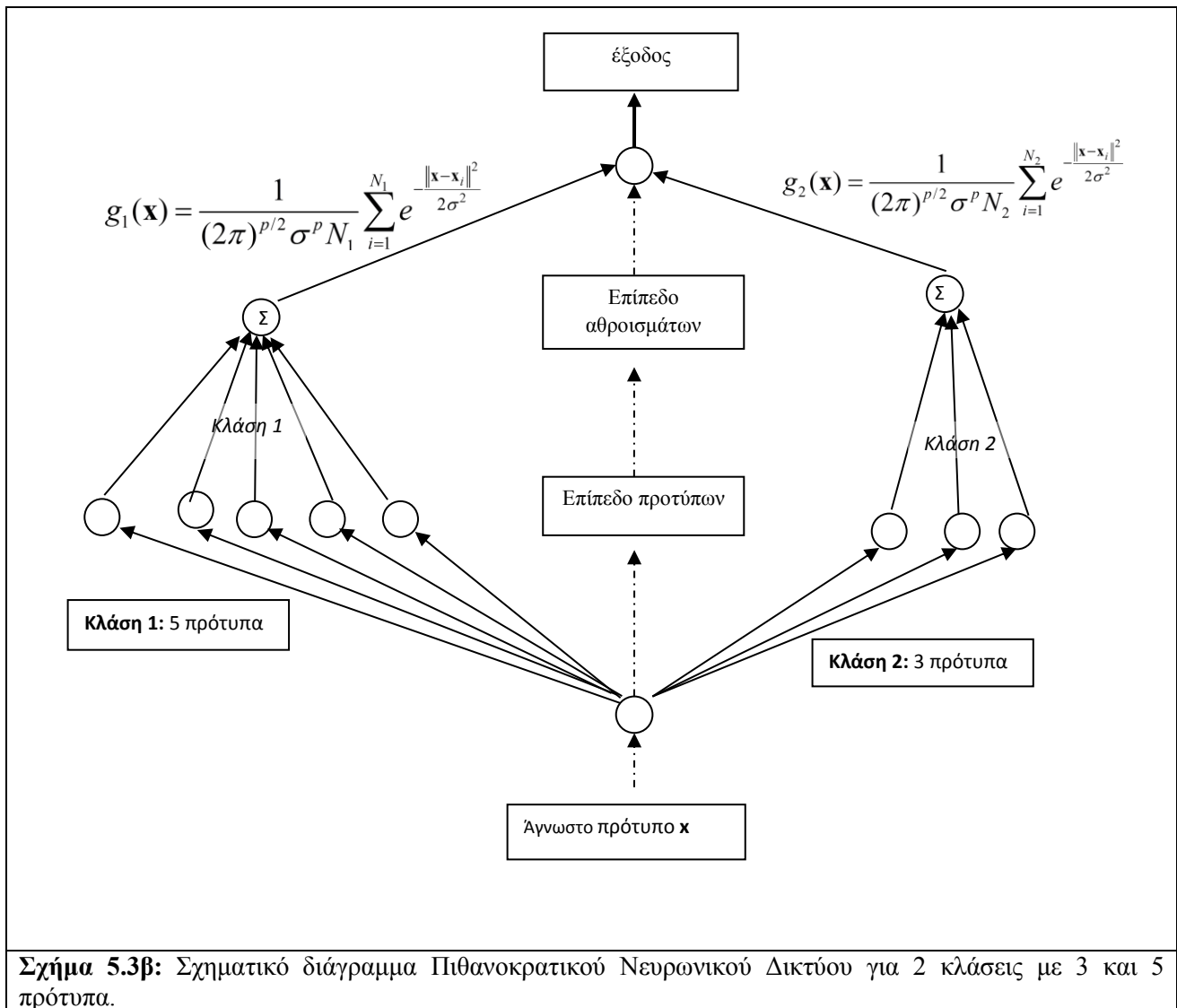
όπου x_i είναι οι τιμές των χαρακτηριστικών κάθε προτύπου και W_{ij} είναι τα βάρη μεταξύ κόμβων. Στο τελικό επίπεδο, αυτό της εξόδου, το πρότυπο ταξινομείται στην κλάση με την μεγαλύτερη τιμή.

Ο ταξινομητής πιθανοκρατικού νευρωνικού δικτύου (PNN), σχετίζεται με τα νευρωνικά δίκτυα, βασίζεται στην θεωρία του ταξινομητή Bayesian (βλ. εξίσωση 5.13α) και της συνάρτησης πυκνότητας πιθανότητας (PDF), η δε σιγμοειδής συνάρτηση έχει αντικατασταθεί με μία γκαουσιανή (Gaussian) συνάρτηση. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 5.3β** διακρίνονται τέσσερα επίπεδα στην δομή του PNN: το επίπεδο εισόδου όπου εισάγεται το πρότυπο προς ταξινόμηση, το επίπεδο προτύπων, όπου ευρίσκονται τα πρότυπα γνωστής κατηγοριοποίησης και υπολογίζεται η ευκλείδεια απόσταση μεταξύ του αγνώστου προτύπου και κάθε ενός από τα γνωστά πρότυπα, το επίπεδο αθροίσματος, όπου υπολογίζεται η τιμή της συνάρτησης για κάθε κατηγορία σύμφωνα με την εξίσωση 5.12β και το επίπεδο εξόδου όπου το άγνωστο πρότυπο ταξινομείται στην κλάση με την μεγαλύτερη τιμή της εξίσωσης 5.12β.

Η συνάρτηση του PNN [52] για j κλάσεις δίνεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$g_j(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma^p N_j} \sum_{i=1}^{N_j} e^{-\frac{\|\mathbf{x}-\mathbf{x}_i\|^2}{2\sigma^2}} \quad (5.12\beta)$$

όπου $\mathbf{x}$ είναι το άγνωστο πρότυπο, $\mathbf{x}_i$ είναι το i -οστό γνωστό πρότυπο, N_j είναι ο αριθμός των προτύπων στην κλάση j , σ είναι μία παράμετρος, συνήθως μεταξύ 0.2 και 0.9 και p είναι ο αριθμός χαρακτηριστικών.



Σχήμα 5.3β: Σχηματικό διάγραμμα Πιθανοκρατικού Νευρωνικού Δικτύου για 2 κλάσεις με 3 και 5 πρότυπα.

Ακολούθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
%-----PNN_classifier-----
function [classified]=PNN_classifier(X_patt,class1, class2)
%-----PNN-----
%find exponential distances of X_patt from class1 patterns
d(1)=PNN(X_patt,class1);
%find exponential distances of X_patt from class2 patterns
d(2)=PNN(X_patt,class2);
if(d(1)>d(2))
    classified=1;
else
    classified=2;
end
%-----
function [G_Class]=PNN(X_patt,class)
G_class=0;
PI=3.14159;sigma=0.2;
N_feat=size(X_patt,2);
```

```

N_patt=size(class,1);
%find exponential distaces of X_patt from class patterns
val=(2.0*PI)^(N_feat/2.0)*(sigma^N_feat)*N_patt;
sumi=0;
for i=1:N_patt
    sumj=0;
    for j=1:N_feat
        sumj=sumj+(class(i,j)-X_patt(j))^2;
    end; %//j
    sumi=sumi+exp(-sumj/(2.0*sigma^2));
end; %//i
G_Class=sumi/val;

```

Σχήμα 5.3γ: Ταξινομητής Probabilistic Neural Network (PNN).

5.4.4. Ταξινομητής Bayesian

Οι ταξινομητές **Bayesian** βασίζονται στον κανόνα ταξινόμησης κατά Bayes [34, 50] που ορίζει ότι αν η πιθανότητα ενός προτύπου $\mathbf{x}$ να ανήκει σε μία κατηγορία $p(c_1|\mathbf{x})$ είναι μεγαλύτερη από την πιθανότητα του ίδιου προτύπου να ανήκει σε μία δεύτερη κατηγορία $p(c_2|\mathbf{x})$, τότε το $\mathbf{x}$ ταξινομείται στην 1^η κατηγορία, αλλιώς ταξινομείται στην δεύτερη κατηγορία. Ο κανόνας αυτός ορίζεται με βάση την 5.13α εξίσωση:

$$\text{εάν } p(c_1|\mathbf{x}) > p(c_2|\mathbf{x}), \mathbf{x} \text{ ταξινομείται στην } c_1 \quad (5.13\alpha)$$

$$\text{εάν } p(c_1|\mathbf{x}) \leq p(c_2|\mathbf{x}), \mathbf{x} \text{ ταξινομείται στην } c_2$$

Με βάση την σχέση $p(c|\mathbf{x}) = [p(\mathbf{x}|c)]p(c)/p(\mathbf{x})$, από την θεωρία των πιθανοτήτων, και την 5.13α, προκύπτει ότι ο ταξινομητής Bayesian ταξινομεί ένα πρότυπο $\mathbf{x}$ στην κλάση c_1 αν:

$$\frac{p(\mathbf{x}/c_1)p(c_1)}{p(\mathbf{x})} > \frac{p(\mathbf{x}/c_2)p(c_2)}{p(\mathbf{x})} \quad \text{ή} \quad p(\mathbf{x}/c_1)p(c_1) > p(\mathbf{x}/c_2)p(c_2) \quad (5.13\beta)$$

όπου $p(\mathbf{x}/c_1)$ και $p(\mathbf{x}/c_2)$ είναι οι συναρτήσεις πυκνότητας πιθανότητας των δύο κλάσεων και $p(c_1)$, $p(c_2)$ είναι οι πιθανότητες ύπαρξης των δύο κλάσεων. Συνήθως οι τελευταίες υπολογίζονται προσεγγιστικά από τον αριθμό των προτύπων στις

αντίστοιχες κλάσεις, $p(c_1)=N_1/(N_1+N_2)$ και $p(c_2)=N_2/(N_1+N_2)$, όπου N_1 και N_2 είναι οι αριθμοί προτύπων των δύο κλάσεων.

Με βάση τις ανωτέρω σχέσεις μπορεί να δομηθεί η συνάρτηση διάκρισης, σε γενικευμένη μορφή, ως ακολούθως:

$$d_i(x) = p(x|c_i)p(c_i) \quad (5.13\gamma)$$

όπου $i=1,2,3,\dots, M$, όπου M είναι ο αριθμός των κλάσεων και

$$x \text{ ταξινομείται στην κατηγορία } c_i \text{ εάν } d_i(x) > d_j(x), i \neq j \quad (5.13\delta)$$

Για τις περιπτώσεις όπου οι συναρτήσεις πυκνότητας πιθανότητας ακολουθούν Gaussian κατανομές η συνάρτηση διάκρισης, για ένα χαρακτηριστικό, γράφεται ως ακολούθως:

$$d_i(x) = \{p(x|c_i)\} p(c_i) = \left\{ \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_i} \left(e^{-\frac{(x-m_i)^2}{2\sigma_i^2}} \right) \right\} p(c_i) \quad (5.13\epsilon)$$

όπου m_i και σ_i είναι η μέση τιμή και τυπική απόκλιση των τιμών του χαρακτηριστικού στην κατηγορία i .

Για την περίπτωση όπου χρησιμοποιούνται περισσότερα του ενός χαρακτηριστικά στο πρότυπο, τότε η $p(x|c_i)$ παίρνει την μορφή:

$$p(x|c_i) = \frac{1}{(2\pi)^{n/2} |S_i|^{0.5}} e^{-\frac{1}{2}((x-m_i)^T S_i^{-1} (x-m_i))} \quad (5.13\sigma\tau)$$

όπου, m_i σε αυτή την περίπτωση είναι το μέσο διάνυσμα των χαρακτηριστικών της κλάσης i , S_i είναι η μήτρα συνδιακύμανσης της κατηγορίας i και $|S_i|$ είναι η διακρίνουσα της μήτρας S_i και n είναι ο αριθμός των χαρακτηριστικών στην κάθε κλάση.

Παίρνοντας τον λογάριθμο της συνάρτησης διάκρισης (5.13ε) σε συνδυασμό με την σχέση (5.13στ), για να απλοποιηθούν περισσότερο οι πράξεις στην συνάρτηση, καταλήγουμε στην τελική μορφή της συνάρτησης διάκρισης του ταξινομητή Bayesian:

$$d_i(x) = \ln(p(c_i)) - \frac{n}{2} \ln(2\pi) - \frac{1}{2} \ln|S_i| - \frac{1}{2} \left((x - m_i)^T S_i^{-1} (x - m_i) \right)$$

Επειδή ο όρος $\frac{n}{2} \ln(2\pi)$ είναι ο ίδιος για όλες τις κατηγορίες απαλείφεται και καταλήγουμε στην τελική συνάρτηση διάκρισης:

$$d_i = \ln(p(c_i)) - \frac{1}{2} \ln|S_i| - \frac{1}{2} \left((x - m_i)^T S_i^{-1} (x - m_i) \right) \quad (5.14)$$

Το άγνωστο πρότυπο x ταξινομείται στην κατηγορία i με την μέγιστη τιμή d_i .

Ακολουθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
%-----
%-----Bayesian_classifier-----
%-----
function [classified]=Bayesian_classifier(X_patt,class1,class2)
classified=0;
covar=cov(class1,1); %covariance of classx
inv_covariance1=inv(covar); %inverse of covariance

covar=cov(class2,1); %covariance of classx
inv_covariance2=inv(covar); %inverse of covariance

d(1)=computeDiscrV_QBC (X_patt,class1,inv_covariance1);
d(2)=computeDiscrV_QBC (X_patt,class2,inv_covariance2);
if(d(1)>d(2))
    classified=1;
else
    classified=2;
end
%=====
function [d]=computeDiscrV_QBC (X_patt,classx,inv_covariance)
Mean_Class=mean(classx); %m
term1=log(1/size(classx,1));
term2=0.5*log(det(cov(classx,1)));
term3=0.5*((X_patt-Mean_Class)*inv_covariance*(X_patt-Mean_Class)');
d=term1-term2-term3;
```

Σχήμα 5.4: Ταξινομητής Bayesian.

5.4.5. Ταξινομητής LDA (Linear Discriminant Analysis)

Ο ταξινομητής **LDA** λειτουργεί με την αρχή της εύρεσης μίας συνάρτησης διαχωρισμού, γραμμικού συνδυασμού χαρακτηριστικών, που να διαχωρίζει τις κατηγορίες βέλτιστα. Αυτό το κατορθώνει προβάλλοντας τα δεδομένα σε ένα

βέλτιστο υπερ-επίπεδο ώστε να μεγιστοποιηθεί η διαχωριστικότητα των κατηγοριών και έτσι να βελτιωθεί η ταξινόμηση των δεδομένων στις σωστές κλάσεις με έναν αλγόριθμο, όπως είναι η ευκλείδεια ή η mahalanobis απόσταση (εξίσωση 5.6α). Το κριτήριο διαχωρισμού των κλάσεων ορίζεται, για δύο κατηγορίες, ως ο λόγος της διαφοράς των μέσων διανυσμάτων των κλάσεων προς την μεταξύ των κλάσεων διασπορά.

Τελικά, η συνάρτηση διαχωρισμού του LDA [53, 54] δίνεται από:

$$d_j(x) = \log(p(c_j)) + m_j S_w^{-1} x^T - 0.5 m_j^T S_w^{-1} m_j \quad (5.15)$$

όπου: $p(c_j)$ είναι η πιθανότητα της κλάσης j , m_j είναι η μέση τιμή του διανύσματος της κλάσης j , S_w είναι σταθμισμένη μήτρα συν-διακύμανσης:

$$S_w = \sum_{j=1}^K p(c_j) S_j$$

όπου K είναι ο αριθμός των κλάσεων και S_j είναι η μήτρα συν-διακύμανσης της κατηγορίας j .

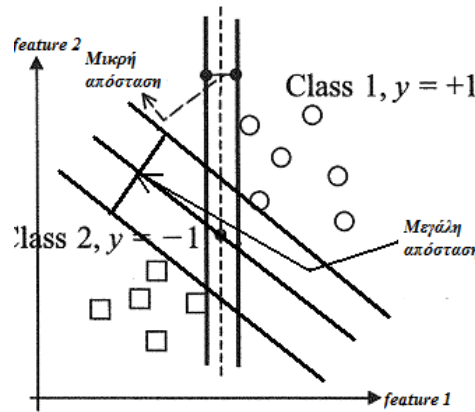
Ακολουθώς δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
%-----
%-----LDA_classifier-----
%-----
function [classified]=LDA_classifier(X_patt,class1,class2)
superClass=[class1;class2];
%put labels to belonging to class1 and 2 as 1 and -1 resp
classLabels = [ones(1,size(class1,1)) (-1)*ones(1,size(class2,1))];
classified = classify(X_patt,superClass,classLabels,'linear','empirical');
%Discriminant analysis classification, may choose one of
%(types: 'linear', 'diaglinear', 'quadratic', 'diagquadratic', 'mahalanobis')
if(classified==-1)
    classified=2;
end
```

Σχήμα 5.5: Ταξινομητής Linear Discriminant Analysis.

5.4.6. Ταξινομητής Μηχανών Διανυσμάτων Υποστήριξης (Support Vector Machines - SVM)

Ο ταξινομητής βασισμένος στις διανυσματικές μηχανές στήριξης {*Support Vector Machines (SVM)*} [55], είναι ένας γενικός ταξινομητής που μπορεί να εφαρμοστεί σε γραμμικά όπως και σε μη-γραμμικά διαχωρίσιμες κατηγορίες. Στην περίπτωση των γραμμικά διαχωρίσιμων 2 κατηγοριών, στόχος είναι η εύρεση δύο παράλληλων επιπέδων ανάμεσα στις δύο κατηγορίες που: α) να μην περιέχουν σημεία ανάμεσά τους και β) η απόσταση μεταξύ των δύο επιπέδων να είναι μέγιστη. Έτσι, όταν ευρεθεί η θέση της μέγιστης διαφοράς μεταξύ των επιπέδων, ως επιφάνεια απόφασης λαμβάνεται το ενδιάμεσο επίπεδο.



Σχήμα 5.6α: Επίδειξη της αρχής λειτουργίας του ταξινομητή SVM.

Όταν οι δύο κατηγορίες δεν είναι γραμμικά διαχωρίσιμες (αλλά μη επικαλυπτόμενες), τότε ευρίσκεται ένας μετασχηματισμός των προτύπων εκπαίδευσης σε ένα χώρο χαρακτηριστικών με πολύ υψηλή διαστατικότητα όπου οι κατηγορίες γίνονται γραμμικά διαχωρίσιμες. Αυτό επιτυγχάνεται με την χρησιμοποίηση κατάλληλων συναρτήσεων $K(x, x_i)$ όπως φαίνεται στην συνάρτηση διαχωρισμού του SVM [56], που ορίζεται για 2 κατηγορίες ως ακολούθως:

$$d_j(x) = \text{sign} \left(\sum_{i=1}^{N_j} a_i L_j K(x, x_i) + b \right) \quad (5.16)$$

όπου x είναι το πρότυπο προς ταξινόμηση, x_i είναι το i πρότυπο της κλάσης j , N_j είναι ο αριθμός των προτύπων της κλάσης j , L_j είναι 1 ή -1 ανάλογα με την κλάση 1 ή 2 που ανήκει, a_i , b είναι συντελεστές και K είναι μία συνάρτηση. Μερικές από τις χρησιμοποιούμενες συναρτήσεις είναι οι:

$$K_{RBF}(x, x_i) = \exp\left(\frac{-\|x - x_i\|^2}{2\sigma^2}\right),$$

$$K_{POLYNOMIAL}(x, x_i) = ((x^T x_i) + 1)^r,$$

όπου $\gamma = 1/(2\sigma^2)$

Το άγνωστο πρότυπο ταξινομείται στην κλάση 1 αν η τιμή συνάρτησης διαχωρισμού είναι μεγαλύτερη του 0 και αν είναι μικρότερη του μηδενός ταξινομείται στην κλάση 2.

Ακολούθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
function [classified]=SVM_classifier(unknown_pattern,class1,class2)
warning off all
classified=0;
classLabels =[ones(1,size(class1,1)) (-1)*ones(1,size(class2,1))];
%puts labels to class1 and 2 as 1 and -1 respectively
superClass=[class1;class2]; %form superclass
[SVMStruct]=designSVM(superClass,classLabels);
[classified]= classify_X(unknown_pattern,SVMStruct);
%=====FUNCTIONS=====
function [classified]= classify_X(X_patt,SVMStruct)
G_class = svmclassify(SVMStruct, X_patt, 'Showplot', false);
%classify pattern
if (G_class>=0) classified=1; %i.e. correctly classified
else classified=2; %i.e. correctly classified
end
%-----
function [SVMStruct]=designSVM(superClass,classLabels);
SVMStruct = svmtrain(superClass, classLabels, 'Kernel_Function', 'linear', 'Polyorder', 3,
'Method', 'LS', 'ShowPlot', false);
%values for 'Kernel_Function': 'linear', 'quadratic', 'polynomial', 'rbf', 'mlp'
%if 'Kernel_Function' is 'polynomial', then values for 'Polyorder': 1,2,3,...(default=3)
%if 'Kernel_Function' is 'mlp', then values for 'mlp_Parameters': [p1 p2], where p1>0, p2<0
%(default p1=1, p2=-2) the parameters of the kernel function: K = tanh(p1*U*V' + p2)
%values for 'Method': 'QP', 'LS' that stands for Quadratic Programming (default if
Optimization toolbox is installed), and Least Square: it's the method to find the separating
hyperplane
%if 'Method' is 'QP', then values for 'QuadProg_Opts': [p1 p2], where p1>0, p2<0
%(default p1=1, p2=-2) the parameters of the kernel function: K = tanh(p1*U*V' + p2)
%values for 'ShowPlot': true, false: plots (or not) data and separating line (for 2D data
only)
```

Σχήμα 5.6β: Ταξινομητής Support Vector Machines (SVM).

5.4.7. Ταξινομητής Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic regression)

Είναι ταξινομητής δυαδικής εξόδου (π.χ χαμηλού ή υψηλού βαθμού κακοήθειας) με είσοδο τα χαρακτηριστικά των κλάσεων, που παίρνουν διάφορες τιμές ('συνεχείς').

Η συνάρτηση διαχωρισμού του ταξινομητή [57] δίνεται από:

$$d_j(x) = \frac{1}{(1 + e^{-y})} \quad (5.17)$$

Με $y = b + \sum_{i=1}^N x_i w_i$, όπου b είναι μία σταθερά και w_i είναι βάρη, που καθορίζονται με

την μεγιστοποίηση της συνάρτησης:

$$M(b, w) = \sum_{j=1}^P \{L_j \log(s(y_j)) + (1 - L_j) \log(1 - s(y_j))\} \quad (5.18)$$

όπου L_j είναι ένδειξη της κατηγορίας του j προτύπου των P δεδομένων εκπαίδευσης (σχεδιασμού) του ταξινομητή.

Οι τιμές της συνάρτησης διαχωρισμού κυμαίνονται στο διάστημα 0-1, και αν είναι μεγαλύτερες του 0.5 ταξινομούνται στην κλάση 1 αλλιώς στην κλάση 2, δηλαδή η έξοδος του ταξινομητή προσεγγίζεται στον πλησιέστερο ακέραιο.

Ακολουθως δίνεται ο κώδικας του ταξινομητή.

```
function
[classified]=LogReg_classifier(unknown_pattern,class1,class2)
x=[ class1;class2];
y= [0*ones(size(class1,1),1) ; 1*ones(size(class2,1),1) ];
b = glmfit(x,y,'binomial'); %calculate weights b
p = glmval(b,unknown_pattern,'logit'); %if p>0.5 --> class2
if (p<0.5) classified=1;
else classified=2;
end
```

Σχήμα 5.7: Ταξινομητής Logistic Regression.

5.4.8. K-means

Ο **K-means** [58] είναι αλγόριθμος μη-εποπτευόμενης ταξινόμησης δεδομένων, που ταξινομεί πρότυπα σε κατηγορίες που ο αριθμός τους είναι εκ των προτέρων γνωστός.

Ο Αλγόριθμος ακολουθεί μία επαναληπτική διαδικασία ενώ προσπαθεί να ελαχιστοποιήσει μία συνάρτηση:

$$J = \sum_{j=1}^K \sum_{i=1}^{N_c} |x_i - c_j|^2 \quad (5.19)$$

όπου x_i είναι το i -οστό διάνυσμα χαρακτηριστικών (ή πρότυπο) και c_j είναι το κέντρο της j -οστής κλάσης. K είναι ο αριθμός των κλάσεων και N_c ο αριθμός των προτύπων στην κλάση. Αρχικά, ο αλγόριθμος κατανέμει τα δεδομένα τυχαία σε μία από τις κλάσεις, ακολουθώντας την μέθοδο Random Partition, στη συνέχεια υπολογίζεται το κέντρο κάθε κλάσης και η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι σύγκλισης, δηλαδή μέχρι να μην υπάρχει αλλαγή στην ταξινόμηση των δεδομένων σε κλάσεις.

5.4.9. Fuzzy c-means

Η γενική μεθοδολογία που ακολουθείται στον αλγόριθμο **Fuzzy-c-means** [58] είναι αυτή της ταξινόμησης των δεδομένων χωρίς επίβλεψη (non-supervised classification), κατά την οποία, με βάση κάποιο κανόνα, τα δεδομένα ομαδοποιούνται σε κλάσεις ή ομάδες (clusters), έτσι ώστε τα πρότυπα μίας ομάδας να προσομοιάζουν αλλά και να διαφέρουν όσο το δυνατόν περισσότερο μεταξύ των ομάδων. Ο κανόνας ένταξης καθορίζει και το πως θα ομαδοποιηθούν σε κλάσεις τα δεδομένα. Υπάρχει ο *ευθύς (hard) κανόνας* όπου κάθε πρότυπο ανήκει σε μία μόνο ομάδα και ο *ασαφής (fuzzy) κανόνας* όπου κάθε πρότυπο μπορεί να ανήκει σε περισσότερες της μίας ομάδας αλλά με διαφορετικό βαθμό ένταξης. Μέσα από μία επαναληπτική διαδικασία βελτιστοποίησης μίας συνάρτησης, η ένταξη κάποιων προτύπων αλλάζει, καταλήγοντας σε συγκεκριμένες ομάδες όταν οι επαναλήψεις δεν επιφέρουν αλλαγές στο περιεχόμενο των ομάδων.

Ο ταξινομητής fuzzy c-means είναι ένας αλγόριθμος ταξινόμησης χωρίς επίβλεψη. Ο αλγόριθμος διαχωρίζει τα δεδομένα σε προκαθορισμένο αριθμό ασαφών (ως προς τα μέλη) κατηγοριών και δημιουργεί ένα πίνακα βαθμού ένταξης, όπου κάθε στοιχείο του υποδηλώνει τον βαθμό με τον οποίο κάθε πρότυπο ανήκει σε κάποια κλάση. Έτσι κάποιο πρότυπο μπορεί να ανήκει σε περισσότερες της μίας κλάσεις αλλά με διαφορετικό βαθμό ένταξης. Ο αλγόριθμος ακολουθεί μία επαναληπτική διαδικασία, όπου σε κάθε επανάληψη τα πρότυπα διαχωρίζονται με ασαφή τρόπο σε προκαθορισμένο αριθμό ομάδων ανάλογα με μία απόσταση (π.χ. ευκλείδεια) από τα κέντρα των ομάδων και η ένταξη των προτύπων στις ομάδες μεταβάλλεται ανάλογα με την ελαχιστοποίηση της συνάρτησης:

$$J(M, C) = \sum_{i=1}^{N_c} \sum_{j=1}^K m_{ij}^w \|x_i - c_j\|^2 \quad (5.20)$$

για την εύρεση του M , που είναι η μήτρα ένταξης, και του C , που είναι η μήτρα των κέντρων βάρους των ομάδων. m_{ij}^w είναι ο βαθμός ένταξης του προτύπου x_{ij} στην ομάδα j και w είναι ο βαθμός ασάφειας, $\|x_i - c_j\|^2$ είναι η ευκλείδεια απόσταση μεταξύ του κέντρου της j ομάδας και του i προτύπου.

5.5. Μέθοδοι αξιολόγησης ακρίβειας ταξινομητή

Το τελευταίο στάδιο σχεδιασμού ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων περιλαμβάνει την αξιολόγηση της επίδοσής του, ώστε να εκτιμηθεί η ακρίβεια ταξινόμησης και αξιοπιστία του συστήματος. Εντούτοις, η αξιολόγηση της επίδοσης είναι αναπόσπαστο μέρος του σχεδιασμού, επειδή μέσω αυτής είναι δυνατόν να επιλεγούν οι βέλτιστες παράμετροι για τον σχεδιασμό του καλύτερου συστήματος για την συγκεκριμένη εφαρμογή. Πρέπει να τονιστεί ότι η εύρεση της πραγματικής ακρίβειας του συστήματος, ιδίως στην ταξινόμηση νέων δεδομένων, που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στο σχεδιασμό του, θα ήταν εύκολη εάν υπήρχε μεγάλος αριθμός δεδομένων. Τα δεδομένα θα χωρίζονταν σε δύο ίσα μέρη, τα μισά θα χρησιμοποιούνταν στο σχεδιασμό του ταξινομητή και τα υπόλοιπα στην αξιολόγηση της επίδοσής του. Αυτό όμως δεν είναι εφικτό, ιδίως σε ιατρικές εφαρμογές, όπου η διάγνωση και η επιβεβαίωση της διάγνωσης είναι απαραίτητες αλλά χρονοβόρες διαδικασίες. Επομένως στις περισσότερες περιπτώσεις τα συστήματα πρέπει να σχεδιαστούν με περιορισμένο αριθμό δεδομένων.

Έχουν προταθεί διάφοροι μέθοδοι [34] τεχνητής αύξησης των δεδομένων σχεδιασμού (δεδομένα εκπαίδευσης) του ταξινομητή και των δεδομένων αξιολόγησης (δεδομένα δοκιμασίας). Η επιλογή της μεθόδου αξιολόγησης είναι σημαντική τόσο για τον βέλτιστο σχεδιασμό όσο και για την γενίκευση του αποτελέσματος σε νέα δεδομένα, που χαρακτηρίζει την αξιοπιστία του συστήματος ως εργαλείο υποστήριξης διάγνωσης.

Μία μέθοδος (K-fold cross-validation) χωρίζει τυχαία τα N δεδομένα σε K υποσύνολα, ίδιου μεγέθους, και ένα υποσύνολο αποσπάται, τα υπόλοιπα K-1 υποσύνολα ομαδοποιούνται και χρησιμοποιούνται στο σχεδιασμό του ταξινομητή και το εξαιρεμένο χρησιμοποιείται για να αξιολογήσει την ακρίβεια του συστήματος [54]. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται K φορές κάθε φορά αφαιρώντας διαφορετικό υποσύνολο. Μία υποπερίπτωση είναι όταν τα δεδομένα χωρίζονται σε N υποσύνολα μεγέθους 1, οπότε η μέθοδος ονομάζεται *leave-one-out* (**LOO**). Τέλος, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε ένα δισδιάστατο *πίνακα αληθείας* (**Truth Table**) όπως φαίνεται ακολούθως, όπου στην κύρια διαγώνιο μπαίνουν οι τιμές των σωστά ταξινομημένων προτύπων (n_{11} , n_{22}) ενώ στην αντιδιαγώνιο μπαίνουν οι τιμές των λανθασμένα ταξινομημένων προτύπων (n_{12} , n_{21}). Το συνολικό ποσοστό επιτυχίας προκύπτει επίσης από τον ακόλουθο τύπο:

Πίνακας αληθείας		
	$\Phi_{(H/Y)}$	$\Pi_{(H/Y)}$
$\Phi_{(\Delta)}$	n_{11}	n_{12}
$\Pi_{(\Delta)}$	n_{21}	n_{22}

Φ : φυσιολογικά, **Π** : παθολογικά, **H/Y** : πρόβλεψη υπολογιστή, **Δ** : η επιβεβαιωμένη κλινική διάγνωση του ασθενή.

$$\% \text{ ακρίβεια ταξινόμησης} = x \ 100\% \frac{n_{11} + n_{22}}{n_{11} + n_{12} + n_{21} + n_{22}} \quad (5.21)$$

Η προβλεπτική αξία του αλγορίθμου στα φυσιολογικά είναι $n_{11}/[n_{11} + n_{21}]$ και στα παθολογικά είναι $[n_{22}/(n_{22} + n_{12})]$.

$\% \text{ Ευαισθησία} = \frac{n_{22}}{n_{22} + n_{21}} \times 100$	έχει σχέση με τα παθολογικά μόνο.
---	-----------------------------------

και

$\% \text{ Ειδικότητα} = \frac{n_{11}}{n_{11} + n_{12}} \times 100$	έχει σχέση με τα φυσιολογικά μόνο.
---	------------------------------------

Ένας διαφορετικός τρόπος παρουσίασης των αποτελεσμάτων, που χρησιμοποιείται συχνά, είναι η καμπύλη **ROC** (Receiver Operating Characteristic). Η καμπύλη αυτή προκύπτει από την μεταβολή δύο παραμέτρων, που είναι: α) το ποσοστό των σωστά ταξινομημένων παθολογικών δεδομένων (true positive rate), που υπολογίζεται από τον λόγο των σωστά ταξινομημένων παθολογικών ως προς όλα τα παθολογικά και β) το ποσοστό των λανθασμένα ταξινομημένων φυσιολογικών (που ο ταξινομητής θεωρεί παθολογικά) ως προς τον συνολικό αριθμό των φυσιολογικών (false positive rate). Η μεταβολή των 2 παραμέτρων, για να προκύψει η καμπύλη ROC, προκαλείται από την μεταβολή ενός κατωφλίου απόφασης του ταξινομητή που σταδιακά μεταβάλλεται μεταξύ $<0, 1>$. Η καμπύλη ROC δείχνει την διαχωριστική ικανότητα του ταξινομητή, η οποία ποσοτικοποιείται από το εμβαδόν της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη ROC (AUC ή area under the curve). Τιμές AUC ίσες με 0.5, αντιστοιχούν σε μηδενική (0%) διαχωριστική ικανότητα του ταξινομητή και τιμές ίσες με 1 αντιστοιχούν σε διαχωριστική ικανότητα 100%. Η διαχωριστική ικανότητα του ταξινομητή θεωρείται άριστη για τιμές AUC μεταξύ 0.9-1, πολύ καλή για τιμές 0.8-0.9, καλή για τιμές 0.7-0.8, χαμηλή για τιμές 0.6-0.7 και μηδενική για τιμές 0.5-0.6.

Συγκεκριμένα, στην εύρεση της ROC ενός ταξινομητή σε δεδομένα επιβεβαιωμένης κατηγορίας (π.χ. φυσιολογικά ή παθολογικά) και κατ' επέκταση στην αξιολόγηση της επίδοσής του με την AUC, η διαχωριστική συνάρτηση του ταξινομητή κανονικοποιείται μεταξύ 0 και 1 με βάση τη σχέση:

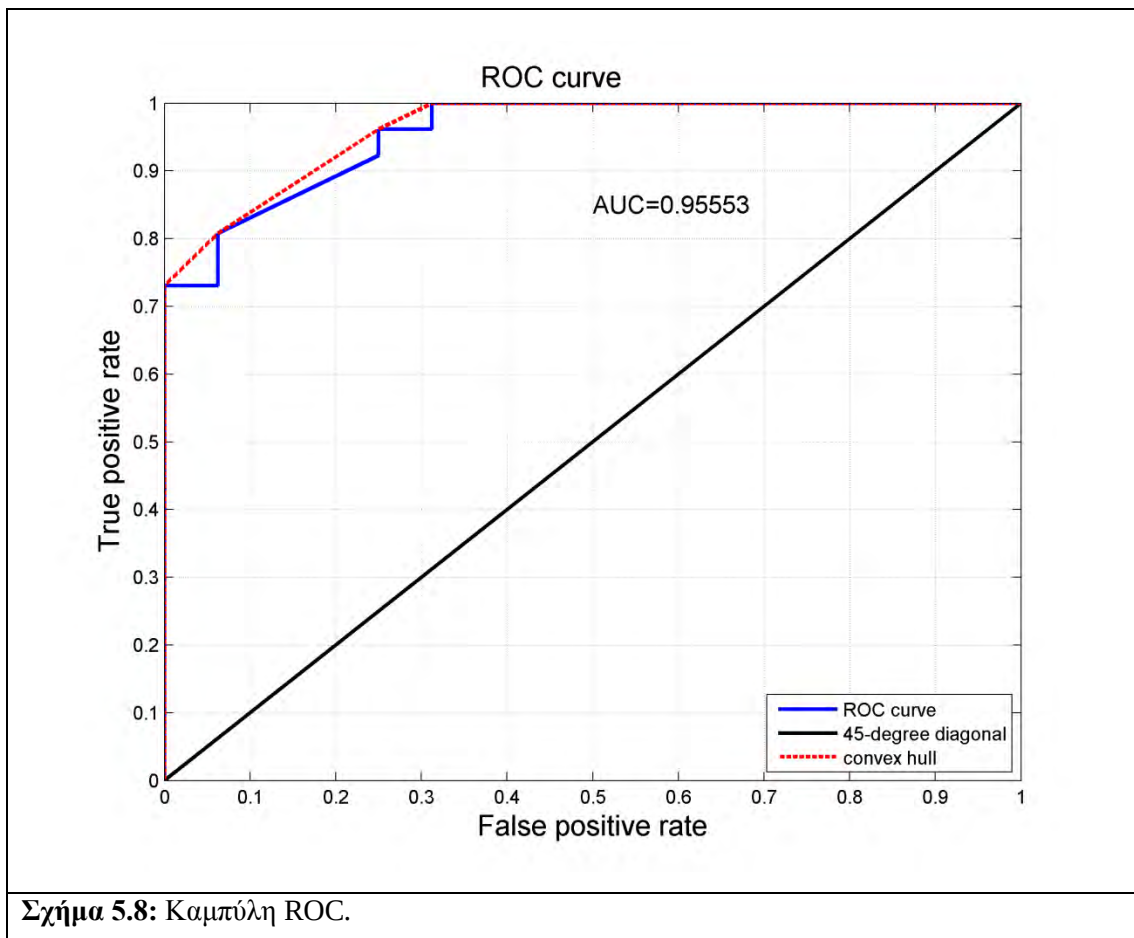
$$p_i = \frac{e^{g_i(X)}}{\sum_{i=1}^2 e^{g_i(X)}}, i = 1, 2 \quad (5.22)$$

Για 2 κλάσεις και ταξινομητές με δύο τιμές $g_i(X)$, $i=1,2$ (π.χ. PNN, K-NN), όπου X το άγνωστο πρότυπο, και για ταξινομητές με μία τιμή (π.χ. logistic regression), όπου η τιμή κυμαίνεται μεταξύ 0-1, οι τιμές p_i προκύπτουν ως ακολούθως:

$$p_1 = g(X) \quad p_2 = 1 - p_1$$

Κάνοντας χρήση της LOO, το κάθε πρότυπο εκπροσωπείται από την τιμή του ταξινομητή p_1 και την ετικέτα (label) της κλάσης που ανήκει. Τα δεδομένα (p_1 -label)

ταξινομούνται κατά φθίνουσα p_1 τιμή και η ROC σχεδιάζεται (Σχήμα 5.8) σε σύστημα κάθετων αξόνων (κατακόρυφος άξονας: true positive rate, οριζόντιος άξονας: false positive rate), ξεκινώντας από την αρχή των αξόνων και την μεγαλύτερη τιμή και προχωρώντας κατακόρυφα (δηλαδή σχεδιάζοντας ένα μικρό τμήμα ευθείας) αν η ετικέτα είναι «παθολογική» και οριζόντια αν είναι «φυσιολογική». Τέλος η AUC υπολογίζεται με την μέθοδο «τραπεζοειδούς», ως η επιφάνεια που περικλείεται μεταξύ της γραμμής των 45 μοιρών και του περιγράμματος της καμπύλης.



Σχήμα 5.8: Καμπύλη ROC.

Το πρόβλημα με την K-fold cross-validation είναι η υπολογιστική επιβάρυνση επειδή το σύστημα πρέπει να σχεδιαστεί επανειλημμένα. Επιπλέον, όπως έχει αποδειχτεί [59], η μέθοδος συνεισφέρει στην υπερεκτίμηση του αποτελέσματος ταξινόμησης, επειδή το τελικό αποτέλεσμα της εκτιμώμενης ακρίβειας δεν είναι τελείως ανεξάρτητο από τα δεδομένα σχεδιασμού. Οι συγγραφείς προτείνουν μία επέκταση της μεθοδολογίας με τον διαχωρισμό των δεδομένων σε τρία (3) τυχαία μη-επικαλυπτόμενα τμήματα, όπου τα δύο θα χρησιμοποιηθούν για τον σχεδιασμό με την

μέθοδο cross-validation και το τρίτο, μη-έχοντας λάβει καθόλου μέρος στο σχεδιασμό, για την αξιολόγηση του συστήματος. Η διαδικασία αυτή καλείται external cross-validation και επαναλαμβάνεται συνήθως δέκα φορές και ο μέσος της ακρίβειας είναι ενδεικτικός της γενικευμένης επίδοσης του συστήματος σε νέα δεδομένα. Τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι: α) τα αρχικά δεδομένα πρέπει να είναι πολλά σε σχέση με τις άλλες μεθόδους ώστε να είναι εφικτός ο διαχωρισμός τους σε 3 διαφορετικά τμήματα με ικανό αριθμό δεδομένων και β) ότι η υπολογιστική πολυπλοκότητα αυξάνεται σημαντικά, τόσο που συχνά είναι ανέφικτη η εφαρμογή της μεθόδου ακόμα και σε σύγχρονους υπολογιστές. Για να υλοποιηθεί η μέθοδος σε εφικτούς χρόνους υπολογιστικής επεξεργασίας χρειάζεται η υιοθέτηση μεθόδων παράλληλης επεξεργασίας σε ισχυρούς και πολλούς επεξεργαστές, όπως είναι οι επεξεργαστές των σύγχρονων καρτών γραφικών.

5.6. Παράλληλη επεξεργασία

Η παράλληλη επεξεργασία βασίζεται στην τμηματοποίηση ενός προγράμματος, που είναι σχεδιασμένο να εκτελείται σειριακά σε ένα επεξεργαστή σε μέρη τα οποία μπορούν να εκτελεστούν συγχρόνως σε διαφορετικούς επεξεργαστές [60]. Η επιτάχυνση που επιτυγχάνεται υπολογίζεται ως το πηλίκο του χρόνου επεξεργασίας του παραλληλισμένου προγράμματος προς τον χρόνο επεξεργασίας σειριακής έκδοσης του ιδίου προγράμματος. Η χρήση όλο και περισσότερων επεξεργαστών δεν προκαλεί και την ανάλογη επιτάχυνση στην εκτέλεση του προγράμματος. Η επιτάχυνση περιορίζεται από τον αριθμό των τμημάτων του προγράμματος που μπορούν να παραλληλισθούν [61]. Η συνάρτηση που περιγράφει την θεωρητική επιτάχυνση S που μπορεί να επιτευχθεί από τον παραλληλισμό του προγράμματος σε N τμήματα είναι:

$$S = \frac{1}{(1-p) + \frac{p}{N}} \quad (5.23)$$

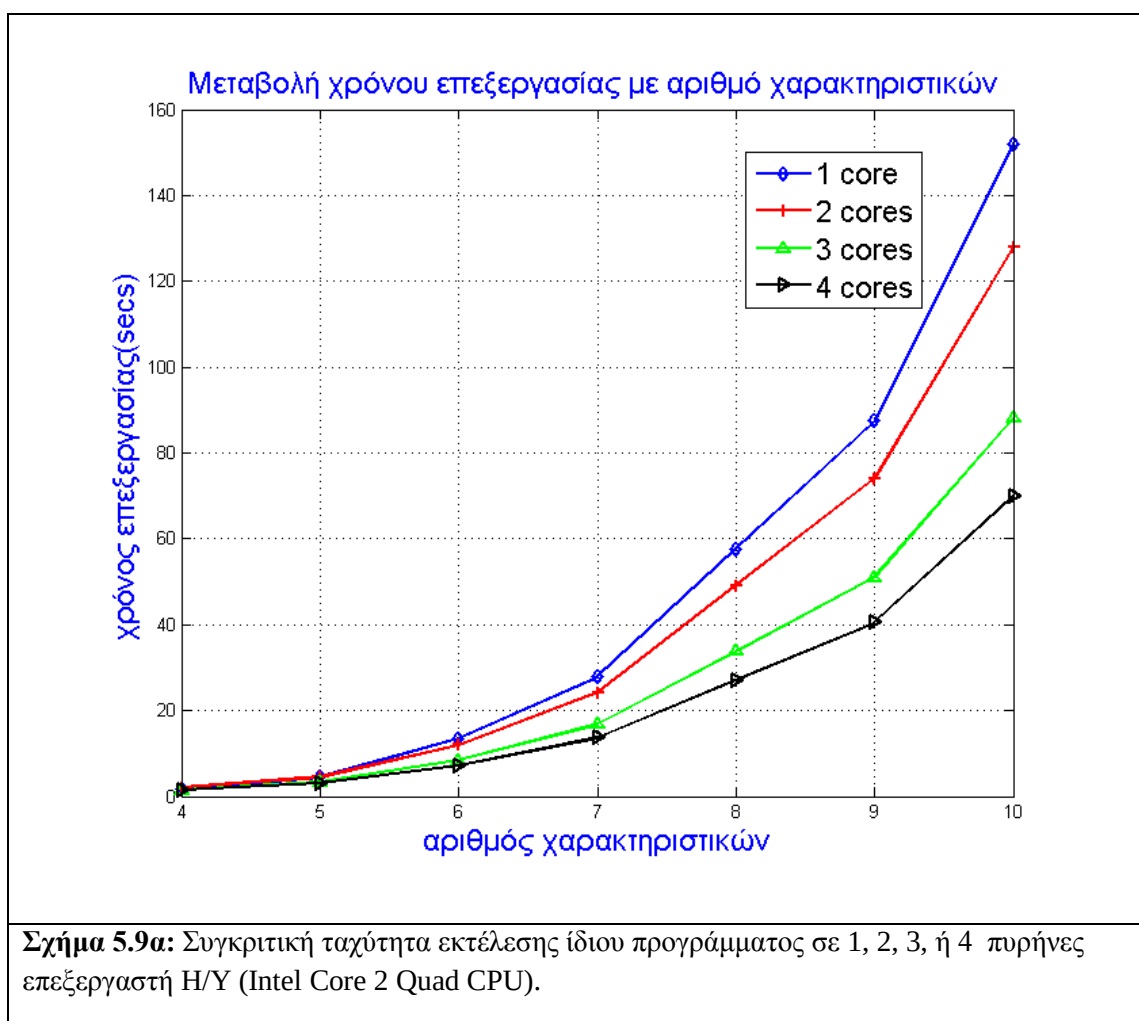
όπου p είναι κλάσμα της σειριακής έκδοσης του προγράμματος που μπορεί να παραλληλισθεί και προφανώς $1-p$ είναι το κλάσμα που δεν είναι παραλληλισμένο. Επομένως, η αύξηση της επιτάχυνσης εξαρτάται από την αύξηση του κλάσματος που

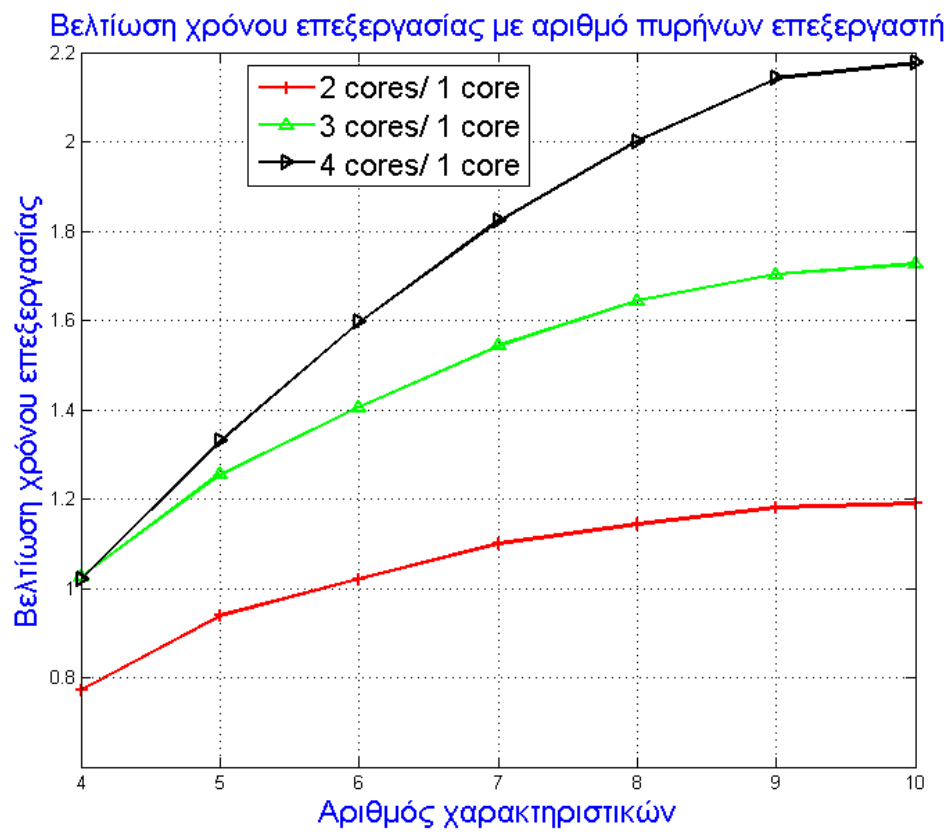
μπορεί να παραλληλισθεί. Τα τμήματα ενός προγράμματος που μπορούν να παραλληλισθούν είναι α) συγκεκριμένες διαδικασίες (task parallelism) όπως μπορεί να είναι ένας ταξινομητής, και β) η χρήση δεδομένων.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση του σχεδιασμού ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων με την εξαντλητική μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών και την LOO μέθοδο αξιολόγησης επίδοσης ταξινομητή, ο περισσότερος χρόνος επεξεργασίας, στην σειριακή μορφή του προγράμματος, καταναλώνεται στον σχηματισμό και αξιολόγηση του συστήματος, με κλάσεις προτύπων που προκύπτουν από όλους των δυνατούς συνδυασμούς χαρακτηριστικών, ώστε να καταλήξουμε στον βέλτιστο συνδυασμό. Επομένως, όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί των χαρακτηριστικών (μέχρι ανά M επιτρεπόμενα χαρακτηριστικά σε N συνολικά υπάρχοντα χαρακτηριστικά) δημιουργούνται αρχικά (σειριακό μέρος προγράμματος) και η διεργασία που παραλληλίζεται είναι ο σχεδιασμός του επιλεγμένου ταξινομητή (π.χ. PNN), από τις κλάσεις προτύπων που προκύπτουν από ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών, και η αξιολόγηση με την LOO μέθοδο. Πολλές τέτοιες διεργασίες (ίδιος ταξινομητής αλλά κλάσεις προτύπων από διαφορετικό συνδυασμό χαρακτηριστικών) μπορούν να εκτελεστούν παράλληλα, αλλά απαιτούν μία κατάλληλη προγραμματιστική πλατφόρμα καθώς και ένα σύστημα επεξεργαστών στους οποίους θα εκτελεστούν εν παραλλήλω οι διεργασίες. Ένα τέτοιο περιβάλλον μπορεί να είναι οι επεξεργαστές σύγχρονων υπολογιστών (π.χ. 4 επεξεργαστές στον Intel Core i7 series) ή οι πολλαπλές επεξεργαστικές μονάδες σε μία κάρτα γραφικών (π.χ. 512 επεξεργαστές, και σε κάθε επεξεργαστή μπορούν να τρέξουν παράλληλα 1024 διεργασίες σε νήματα ή threads). Το πόσες παράλληλες επεξεργασίες μπορούν να εκτελεστούν συγχρόνως εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως την διαθέσιμη μνήμη κάρτας γραφικών. Όσον αφορά την πλατφόρμα παράλληλου προγραμματισμού για την κάρτα γραφικών Nvidia χρησιμοποιείται η πλατφόρμα CUDA [62] και γλώσσα προγραμματισμού C++, ενώ για πλατφόρμα παράλληλου προγραμματισμού επεξεργαστών υπολογιστών (CPU) είναι η OpenMP [63] και η γλώσσα προγραμματισμού C++. Πρόσφατα, παράλληλος προγραμματισμός έγινε εφικτός και σε περιβάλλον Matlab, για επεξεργαστές υπολογιστών αλλά και για κάρτες γραφικών. Ένα παράδειγμα παράλληλου προγραμματισμού σε επεξεργαστές H/Y και σε επεξεργαστές κάρτας γραφικών δίνεται στα **Σχήματα 5.9** και **5.10**. Χρονομετρήθηκε η διαδικασία σχεδιασμού ενός πειραματικού συστήματος

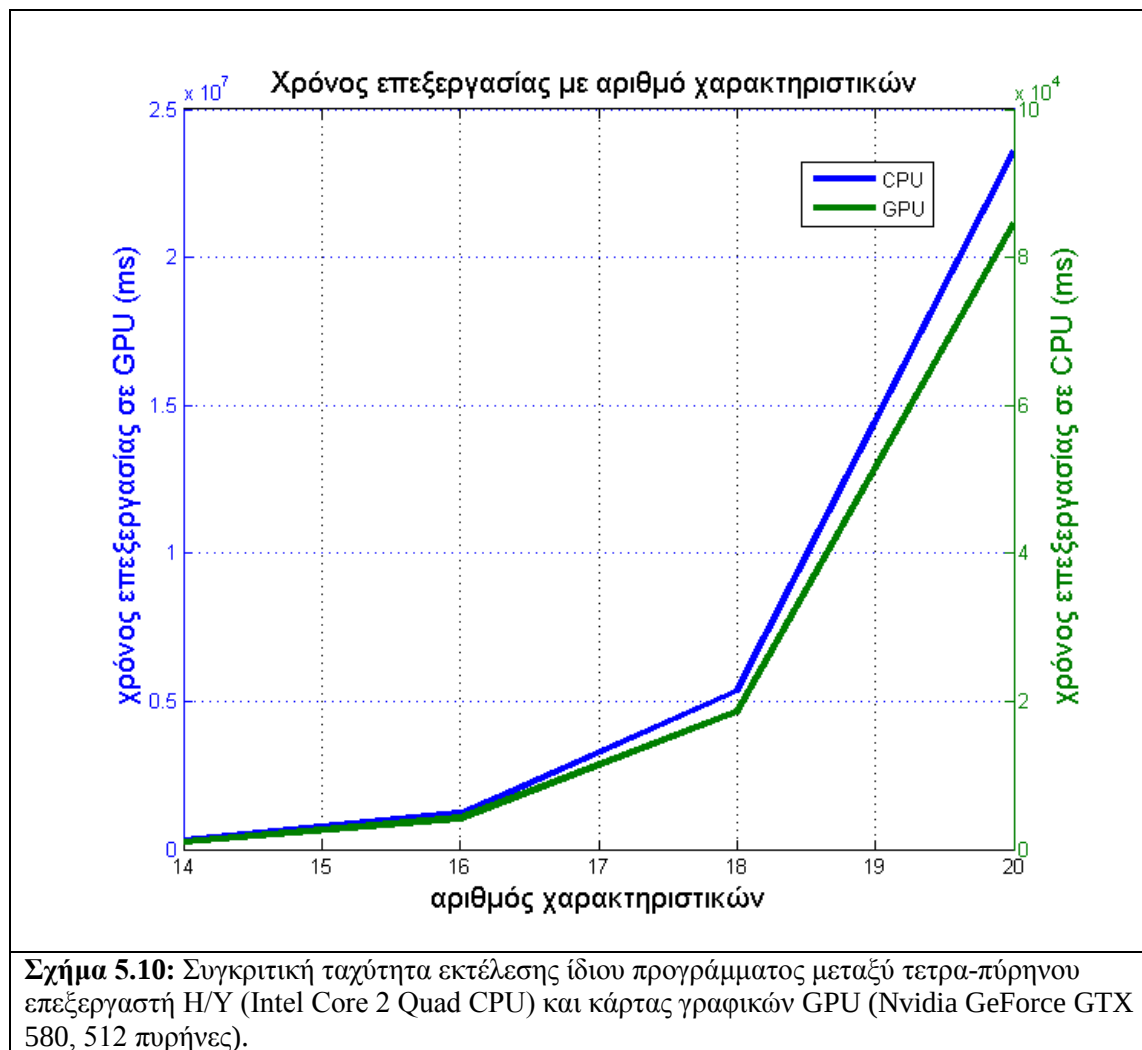
αναγνώρισης προτύπων χρησιμοποιώντας παράλληλο προγραμματισμό: α) σε επεξεργαστή H/Y (Intel Core 2 Quad CPU) με 4 πυρήνες, β) σε κάρτα γραφικών Nvidia 580GTX (16 επεξεργαστές, 32 πυρήνες έκαστος, συνολικά 512 πυρήνες). Ο σχεδιασμός χρησιμοποιούσε δύο κατηγορίες των 100 προτύπων και 20 χαρακτηριστικών εκάστη, τον ταξινομητή PNN, την εξαντλητική μέθοδο δημιουργίας συνδυασμών μέχρι 10 χαρακτηριστικών και την LOO μέθοδο αξιολόγησης της ακρίβειας ταξινόμησης.

Στο **Σχήμα 5.9α** φαίνονται συγκριτικά οι χρόνοι παράλληλης επεξεργασίας από 1 (σειριακή επεξεργασία) έως 4 πυρήνες (παράλληλη επεξεργασία) για την εκτέλεση της ίδιας διαδικασίας σε επεξεργαστές H/Y και στο **Σχήμα 5.9β** η συγκριτική βελτίωση σε χρόνο επεξεργασίας. Στο **Σχήμα 5.10** φαίνονται συγκριτικά οι χρόνοι παράλληλης επεξεργασίας H/Y και σε Nvidia κάρτα γραφικών, όπου φαίνεται ότι το κέρδος είναι της τάξης 10^3 .





Σχήμα 5.9β: Βελτίωση ταχύτητας εκτέλεσης ίδιου προγράμματος με τον αριθμό χρησιμοποιούμενων πυρήνων επεξεργαστή.



5.7. Περίληψη - Συμπεράσματα

Στο κεφάλαιο 5 παρουσιάστηκαν οι μέθοδοι επιλογής των χαρακτηριστικών που διαθέτουν υψηλή διαχωριστική ικανότητα μεταξύ των κλάσεων (π.χ. κατηγοριών βαθμού κακοήθειας), ώστε να χρησιμοποιηθούν στον σχεδιασμό του συστήματος υποβοήθησης ιστολογικής διάγνωσης. Αναλύθηκαν δύο μέθοδοι επιλογής βέλτιστων χαρακτηριστικών, η βαθμωτή και η διανυσματική. Στην βαθμωτή μέθοδο η διαχωριστική ικανότητα κάθε χαρακτηριστικού ως προς δύο κατηγορίες εξετάστηκε μεμονωμένα, με την χρήση της στατιστικής δοκιμασίας Wilcoxon, ή με την χρησιμοποίηση ενός πιο σύνθετου κριτηρίου στο οποίο ελήφθη υπόψη εκτός της τιμής του Wilcoxon και η συσχέτιση κάθε χαρακτηριστικού με τα υπόλοιπα. Με αυτό τον τρόπο έγινε μία ιεράρχηση των χαρακτηριστικών και επελέγησαν π.χ. τα πρώτα 10 για τον σχεδιασμό του συστήματος, δοκιμάζοντας κάθε φορά συνδυασμούς των 2,3,...,10 χαρακτηριστικών. Στην διανυσματική μέθοδο χρησιμοποιήθηκε η εξαντλητική μέθοδος αναζήτησης βέλτιστων συνδυασμών χαρακτηριστικών στον σχεδιασμό του συστήματος, η οποία είναι μεν βέλτιστη αλλά εφικτή μόνο στους πυρήνες της κάρτας γραφικών με μεθόδους παράλληλου προγραμματισμού, λόγω των πολλών συνδυασμών που προκύπτουν και του απαιτούμενου χρόνου επεξεργασίας. Επίσης αναλύθηκαν και μέθοδοι μη-βέλτιστης αναζήτησης συνδυασμών χαρακτηριστικών όπως η πρόσθια και οπίσθια σειριακή επιλογή και οι ανάλογες αυτών με κινητή αναζήτηση. Στο Κεφάλαιο 5 επίσης παρουσιάστηκαν διάφοροι αλγόριθμοι ταξινομητών, όπως οι αλγόριθμοι βασισμένοι σε εκτιμήσεις των αποστάσεων μεταξύ κατηγοριών, αλγόριθμοι βασισμένοι στην θεωρία κατά Bayes, αλγόριθμοι βασισμένοι σε νευρωνικά δίκτυα και σε μηχανές διανυσμάτων υποστήριξης. Επίσης αναλύθηκαν μέθοδοι αξιολόγησης της αξιοπιστίας των συστημάτων αναγνώρισης προτύπων όπως οι LOO, K-fold, External Cross Validation, ως αναπόσπαστο μέρος του σχεδιασμού των συστημάτων. Τέλος, παρουσιάστηκαν οι μεθοδολογίες παράλληλης επεξεργασίας σε πολυ-πύρηνους επεξεργαστές, απαραίτητες για την εύρεση του βέλτιστου σχεδιασμού συστημάτων αναγνώρισης προτύπων. Επίσης, πειραματική διαδικασία έδειξε ότι η μεταφορά των υπολογισμών στους πυρήνες κάρτας γραφικών υπερτερεί κατά πολύ της επεξεργασίας στους πυρήνες σύγχρονων συμβατικών υπολογιστών.

ΜΕΡΟΣ II:

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 - Στατιστική συσχέτιση των χαρακτηριστικών των p63 εκφρασμένων πυρήνων με το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, σε κυτταρολογικές εικόνες μικροσκοπίας

6.1. Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο μελετάται η συσχέτιση των χαρακτηριστικών των πυρήνων του κυττάρου με τον βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα. Η ανοσοϊστοχημική χρώση για έκφραση της πρωτεΐνης p63 από το TP63 γονίδιο, έχει θεωρηθεί ότι είναι ένας πιθανός προγνωστικός παράγοντας στην έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του λάρυγγα. Επειδή η χρώση p63 βάφει κυρίως τους πυρήνες και ελάχιστα το παρέγχυμα του κυττάρου, μία πιθανή συσχέτιση μεταξύ των χαρακτηριστικών του πυρήνα (υφή, σχήμα, συγκέντρωση) και του βαθμού κακοήθειας του όγκου θα ήταν σημαντική πληροφορία στη διάγνωση, επειδή μία τέτοια συσχέτιση μπορεί να συνδέεται με βιολογική πληροφορία αποτυπωμένη στο υλικό των p63 εκφρασμένων πυρήνων. Άρα ο σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση μεταξύ των p63 εκφρασμένων πυρήνων και του ιστολογικού βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, μέσω μεθόδων ανάλυσης εικόνας.

6.2. Εισαγωγή

Ο καρκίνος του λάρυγγα αποτελεί το 3% των διαγνωσμένων καρκίνων [29] με περίπου το 40% των ασθενών να μην επιβιώνει της πενταετίας μετά την πρώτη διάγνωση. Οι αιτίες της ασθένειας έχουν εντοπισθεί στον τρόπο ζωής όπως κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ, τοξικό περιβάλλον εργασίας [64-68]. Επίσης, στο 55% των επιβιωσάντων του καρκίνου του λάρυγγα, κύριο ρόλο στην μη επανεμφάνιση της ασθένειας παίζουν ο τρόπος ζωής και το περιβάλλον εργασίας [1]. Σε όλα αυτά η έγκαιρη διάγνωση και η κατάλληλη θεραπεία σχετίζονται άμεσα με την επιβίωση του ασθενή [2-4]. Ιδίως η έγκαιρη ένδειξη σε προ-καρκινικά στάδια μέσω προγνωστικών δεικτών, όπως είναι η υπερέκφραση του p63, έχει αποδειχθεί χρήσιμη στην κατάλληλη αντιμετώπιση της ασθένειας και κατ' επέκταση στην επιβίωση του ασθενή [6, 7, 69]. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, ιστοπαθολογικά δείγματα από βιοψία όγκων καρκίνου του λάρυγγα, τα οποία είχαν επισημανθεί ανοσοϊστοχημικά για p63 έκφραση πυρήνων, φωτογραφήθηκαν και επιλεγμένες ψηφιακές εικόνες

μικροσκοπίου αναλύθηκαν με τη βοήθεια H/Y. Το ποσοστό των p63 πυρήνων που εκφράστηκαν καθώς και παράμετροι της υφής, παρυφής, και κατανομής των πυρήνων συσχετίστηκε με το βαθμό κακοήθειας, που είχε προηγουμένως καθοριστεί με βάση την H&E χρώση. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν ότι μία σειρά από χαρακτηριστικά υφής των πυρήνων, που αφορούσαν σε συγκεκριμένες ιδιότητες της δομής των, είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των βαθμών κακοήθειας. Επιπρόσθετα, σχεδιάστηκε μία μη-γραμμική εξίσωση, βασισμένη στο βαθμό p63 έκφρασης των πυρήνων και σε μερικά χαρακτηριστικά της υφής και του περιγράμματος των πυρήνων. Η εξίσωση αυτή μπορεί να εκτιμήσει, με υψηλή ακρίβεια, την πιθανότητα ενός δείγματος βιοψίας καρκίνου του λάρυγγα, αν είναι χαμηλού ή υψηλού βαθμού κακοήθειας. Η συνεισφορά της παρούσας ερευνητικής εργασίας στη διεθνή βιβλιογραφία είναι η συσχέτιση της υφής και μορφολογίας των p63 εκφρασμένων πυρήνων με το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα, που έγινε εφικτή με μεθόδους ανάλυσης κυτταρολογικής εικόνας.

6.3. Υλικό και μέθοδοι

Το υλικό της μελέτης ήταν από το αρχειακό υλικό της ιστοπαθολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Πατρών. Αποτελείτο από 55 δείγματα βιοψίας λαρυγγικών αλλοιώσεων από ένα ανάλογο αριθμό ασθενών, οι οποίοι είχαν διαγνωστεί με καρκίνο του λάρυγγα στο διάστημα **2008-2012**. Οι ασθενείς ήταν όλοι άντρες, οι περισσότεροι ήταν καπνιστές (47/55), είχαν μία μέση ηλικία **63** χρονών, κυμαινόμενη μεταξύ του 44^{ου} και 89^{ου} έτους. Οι θέσεις των καρκινικών αλλοιώσεων στον λάρυγγα ήταν **35** στην περιοχή της γλωττίδας, **11** άνωθεν της γλωττίδας, **3** ήταν διεσπαρμένες σε άλλα τμήματα του λάρυγγα και υπήρχαν και **6** περιπτώσεις που η θέση τους δεν είχε καταγραφεί (βλ. **Πίνακα 6.1**).

Τα δείγματα βιοψιών βάφτηκαν με χρώση αιματοξυλίνης - ιωσίνης (Hematoxylin & Eosin - H&E), για την εκτίμηση της κακοήθειας του όγκου του λάρυγγα. Είκοσι ένα (**21**) από τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν, από την έμπειρο παθολογοανατόμο ιατρό (Π. Ραβαζούλα), ως χαμηλού βαθμού κακοήθειας (βαθμού I) και τα υπόλοιπα τριάντα δύο (**32**) ως υψηλού βαθμού κακοήθειας (18 ως βαθμού κακοήθειας II και 16 ως III). Η διάγνωση έγινε με βάση τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO)

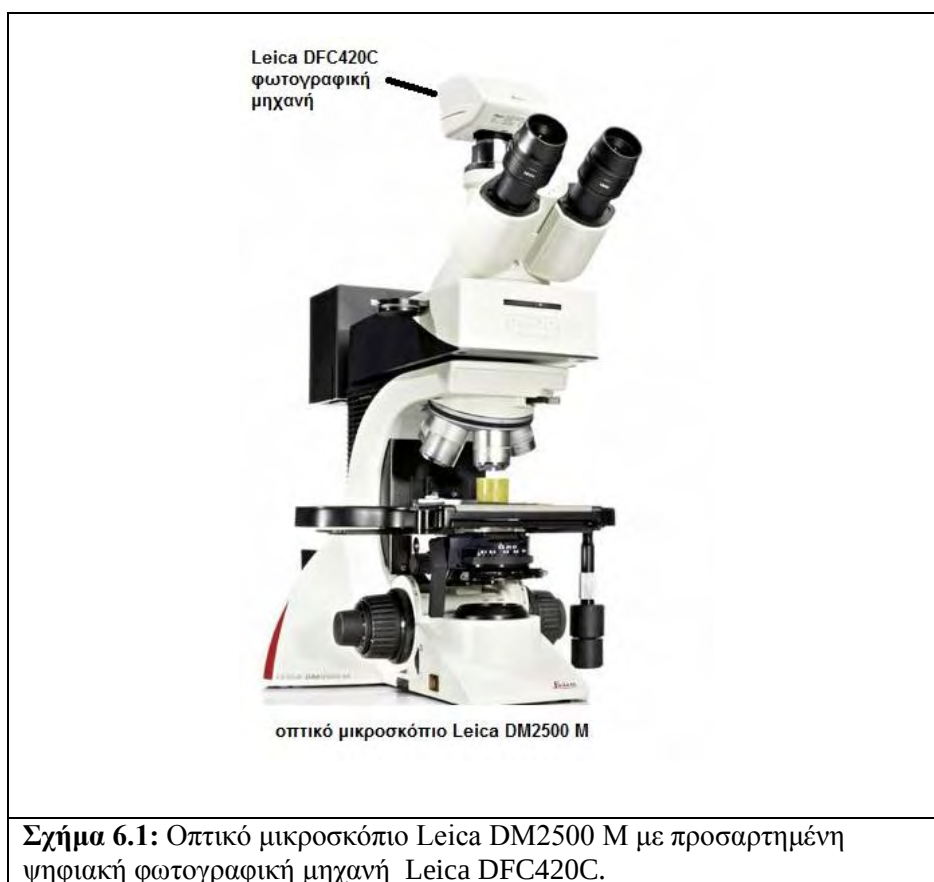
[70]. Επιπρόσθετα, τα δείγματα βιοψίας υπέστησαν ανοσοϊστοχημική (immunohistochemical - IHC) χρώση για την έκφραση του p63 αντισώματος. Το p63 αντίσωμα χρωματίζει καφέ τους πυρήνες, διευκολύνοντας έτσι την ανάδειξή τους όπως και την εξαγωγή χαρακτηριστικών από τους πυρήνες αυτούς. Η έκφραση της p63 χρώσης στα δείγματα εκτιμήθηκε από την παθολογοανατόμο ιατρό, που έθεσε ως κατώφλι ποσοστού έκφρασης των πυρήνων σε όλο το πλακίδιο το 50%, για να θεωρηθεί μία περίπτωση ότι είχε θετική P63 έκφραση πυρήνων και να συμπεριληφθεί στα δεδομένα της παρούσας δουλειάς. Επιπρόσθετα, κατά την εξέταση στο μικροσκόπιο η ιατρός επεσήμανε περιοχές ενδιαφέροντος επί του πλακιδίου για περαιτέρω ψηφιοποίηση και επεξεργασία.

Για την *σταδιοποίηση του καρκίνου*, ακολουθήθηκαν οι κανονισμοί του American Joint Committee on Cancer (AJCC) [71]. Βρέθηκαν (βλ. **Πίνακα 6.1**) οκτώ (8) T2, είκοσι εννέα (29) T3, και δεκατρείς (13) T4 περιπτώσεις. Υπήρχαν σαράντα τρεις (43) N0, δύο (2) N1, και πέντε (5) N2 περιπτώσεις. Επτά (7) όγκοι ήταν σταδίου II, είκοσι επτά (27) σταδίου III, και δεκαέξι (16) σταδίου IV. Σε πέντε (5) περιπτώσεις η TNM αξιολόγηση (*T: tumor size, N: lymph nodes involvement, M: distant metastasis*) δεν είχε συμπληρωθεί. Όλοι οι καρκίνοι είχαν διαγνωστεί ως **πλακώδες καρκίνωμα του επιθηλίου** (laryngeal squamous cell carcinomas) **του λάρυγγα**.

Η παθολογοανατόμος επεσήμανε επί των πλακιδίων κάθε ασθενή **τέσσερις περιοχές ενδιαφέροντος** που είχαν ικανή χρώση p63. Από τις περιοχές αυτές ψηφιοποιήθηκαν τέσσερις (4) εικόνες και αποθηκεύτηκαν στον υπολογιστή για περαιτέρω επεξεργασία. Η λήψη των ψηφιακών εικόνων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μίας φωτογραφικής μηχανής (Leica DFC420C) προσαρμοσμένης σε ένα Leica DM2500 μικροσκόπιο φωτεινής πηγής (βλ. **Σχήμα 6.1**). Οι εικόνες είχαν ανάλυση 1728x1296x24bit, και η διαδικασία της λήψης και αποθήκευσης των εικόνων πραγματοποιήθηκε με ένα λογισμικό (Leica Application Suite ή LAS), το οποίο ήταν υπεύθυνο και για την αυτόματη ρύθμιση των παραμέτρων φωτογράφισης όπως είναι η εστίαση, ο χρόνος έκθεσης κ.ά.

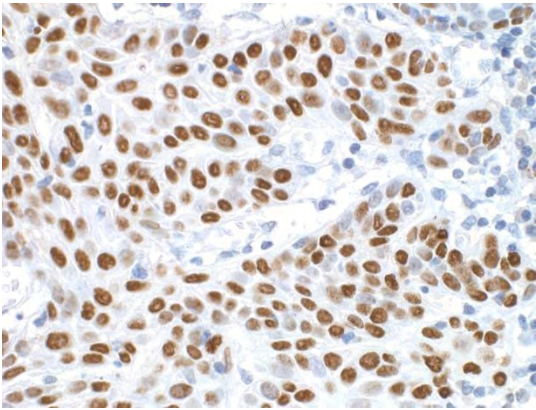
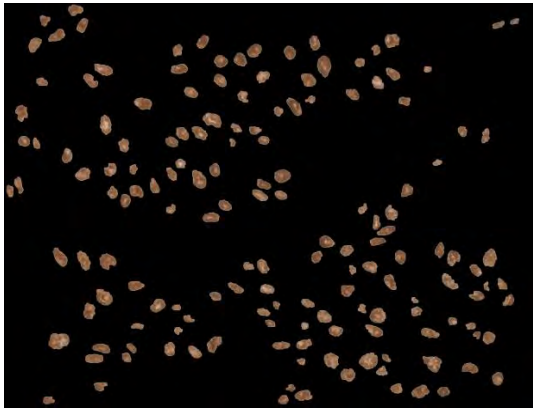
Πίνακας 6.1: Θέση, στάδιο και βαθμός κακοήθειας όγκων λάρυγγα.

		(Grade I)	(Grade II)	(Grade III)	Σύνολα
		21	18	16	55
Περιοχή λάρυγγα	Γλωττίδα	17	11	7	35
	Άνω γλωττίδα	3	3	5	11
	Άλλα μέρη	0	2	1	3
	<i>Άγνωστα</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>6</i>
Στάδιο	T2	3	3	2	8
	T3	13	9	7	29
	T4	4	4	5	13
	N0	18	12	13	5
	N1	1	0	1	43
	N2	1	4	0	2
	<i>Άγνωστα</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>5</i>
Βαθμός	II	3	3	1	7
	III	12	7	8	27
	IV	5	6	5	16



Η ανάλυση των εικόνων με H/Y πραγματοποιήθηκε σε τέσσερα (4) στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο, οι εικόνες τμηματοποιήθηκαν, οι πυρήνες επί των εικόνων εντοπίστηκαν και παρήχθησαν νέες εικόνες με μόνο περιεχόμενο τους εκφρασμένους p63 πυρήνες. Οι μέθοδοι τμηματοποίησης των εικόνων περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3. Εν συντομία, οι ψηφιοποιημένες εικόνες μετασχηματίστηκαν πρώτα από την RGB κλίμακα στην $L^*a^*b^*$ κλίμακα [14] σύμφωνα με τις οδηγίες της CIELAB (Commission International de l'Eclairage) [72]. L^* είναι η διαφορά μεταξύ υψηλών και χαμηλών εντάσεων, a^* είναι κλίμακα κόκκινου-πράσινου και b^* είναι η κλίμακα μπλε-κίτρινου. Αυτός ο μετασχηματισμός διευκόλυνε τον εντοπισμό των πυρήνων εντός του κυττάρου όπως και την εύρεση του περιγράμματός των. Επί των μετασχηματισμένων εικόνων, λειτούργησε ο μη-εποπτευόμενης ταξινόμησης αλγόριθμος, ο fuzzy c-means, ο οποίος διαχώρισε τα pixels σε τρεις κατηγορίες, τα *καφετί* που αφορούσαν τους P63 εκφρασμένους πυρήνες, τα με απόχρωση *μπλε* pixels που αντιστοιχούσαν στους μη εκφρασμένους πυρήνες, και τα *λευκά* που εξέφραζαν το κυτταρικό παρέγχυμα. Χρησιμοποιώντας τις συντεταγμένες των καφέ αποχρώσεως pixels και σε συνδυασμό με μορφολογικά φίλτρα η εικόνα μετατρέπεται σε δυαδική, όπου τα άσπρα pixels αντιστοιχούσαν σε αυτά των εκφρασμένων p63 πυρήνων (απόχρωση καφέ). Συνδυάζοντας την δυαδική εικόνα με την αρχική RGB εικόνα, μέσω της λογικής πράξης AND, προέκυψε μία RGB εικόνα με περιεχόμενο μόνο τους εκφρασμένους πυρήνες.

Η ακρίβεια της τμηματοποίησης ελέγχθηκε από την έμπειρη παθολογοανατόμο με οπτικό έλεγχο, χρησιμοποιώντας ένα λογισμικό ειδικά σχεδιασμένο. Η ιατρός με σύγχρονη επισκόπηση της αρχικής (**Σχήμα 6.1α**) και της τμηματοποιημένης εικόνας (**Σχήμα 6.1β**) υποδείκνυε, με επιλογή επί της οθόνης, τους πραγματικούς πυρήνες επί της τμηματοποιημένης εικόνας. Έτσι ο λόγος των πυρήνων αυτών προς όλα τα αντικείμενα της εικόνας, που είχαν εντοπιστεί από το λογισμικό ως πυρήνες, αποτέλεσε το ποσοστό επιτυχίας της μεθόδου τμηματοποίησης της εικόνας.

	
Σχήμα 6.1α: Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με p63 χρώση.	Σχήμα 6.1β: Τμηματοποιημένη εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με p63 χρώση.

Κατά το δεύτερο στάδιο, έγινε ο υπολογισμός ενός μεγάλου αριθμού χαρακτηριστικών υφής, περιγράμματος, σχήματος, μορφής και συγκέντρωσης πυρήνων (βλ. κεφάλαιο 5) από κάθε εκφρασμένο πυρήνα και από τις 4 εικόνες κάθε ασθενή. Κάθε αλλοίωση εκπροσωπήθηκε από ένα διάνυσμα χαρακτηριστικών που περιελάμβανε τις μέσες τιμές χαρακτηριστικών. Σχηματίστηκαν τρεις κλάσεις, όπου κάθε μία περιελάμβανε τα διανύσματα χαρακτηριστικών (πρότυπα) που αντιστοιχούσαν στους τρεις βαθμούς κακοήθειας (I,II,III). Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν: α) η διαχωριστική ισχύς κάθε χαρακτηριστικού, εξετάζοντας τις στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις τρεις κατηγορίες, και β) η συσχέτιση του χαρακτηριστικού με τον αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας. Αυτό είναι σημαντικό για την διερεύνηση του τρόπου μεταβολής της υφής και σχήματος του πυρήνα με προϋούσα επιδείνωση της νόσου. Τα χαρακτηριστικά υφής υπολογίστηκαν από την μαυρόασπρη (κλίμακα τόνων του γκρι) έκδοση της εικόνας των p63 εκφρασμένων πυρήνων. Τέσσερα **(4)** χαρακτηριστικά υπολογίστηκαν από το ιστόγραμμα της εικόνας του πυρήνα (μέση τιμή, τυπική απόκλιση, λοξότητα, κυρτότητα), είκοσι τέσσερα **(24)** από τους πίνακες co-occurrence [27] (ουσιαστικά τα χαρακτηριστικά είναι 12, αλλά κάθε ένα αντιπροσωπεύεται από 2 τιμές, τη μέση και το εύρος των τιμών που προκύπτουν από τους 4 co-occurrence πίνακες), δέκα χαρακτηριστικά **(10)** από τους πίνακες run-length (5 χαρακτηριστικά, κάθε ένα αντιπροσωπεύεται από τη μέση τιμή και το εύρος των τιμών που προκύπτουν από τους 4 run-length πίνακες).

Δέκα **(10)** χαρακτηριστικά υπολογίστηκαν από τη μορφολογία του πυρήνα (εμβαδόν, περίμετρος, μήκος κυρίως άξονα, μήκος ελάσσονος άξονα, επιφάνεια κυρτού

σχήματος, συνεκτικότητα, ισοδύναμη διάμετρος κύκλου, τετραγωνισιμότητα (rectangularity) και στιβαρότητα (compactness). Έξι (6) χαρακτηριστικά από το περίγραμμα του πυρήνα (μέση τιμή, τυπική απόκλιση, εύρος τιμών, και εντροπία της ακτινικής απόστασης, δείκτης κυκλικότητας και τραχύτητας περιγράμματος). Η διασπορά των πυρήνων εντός του κυττάρου εκτιμήθηκε με επτά (7) χαρακτηριστικά από το Δέντρο Ελαχίστων αποστάσεων (Minimum Spanning Tree - MST). Τα χαρακτηριστικά αυτά ήταν η μέση τιμή, το εύρος των αποστάσεων (μέγιστη - ελάχιστη απόσταση), η τυπική απόκλιση, η μέγιστη απόσταση, η ελάχιστη απόσταση, το άθροισμα των αποστάσεων και ο μέγιστος αριθμός κόμβων στο δέντρο όπου ως κόμβος θεωρείται ο πυρήνας από τον οποίο ξεκινούν περισσότερες της μίας συνάψεις με γειτονικούς πυρήνες. Τέλος, υπολογίστηκε το ποσοστό των εκφρασμένων p63 πυρήνων. Έτσι, η κάθε αλλοίωση αντιπροσωπεύτηκε από 62 χαρακτηριστικά, όπου κάθε χαρακτηριστικό ήταν ο μέσος όρος των τιμών του χαρακτηριστικού από όλους τους πυρήνες και των τεσσάρων ψηφιακών εικόνων του όγκου.

Κατά το τρίτο στάδιο της ανάλυσης εικόνας πραγματοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες (βλ. κεφάλαιο 4) για τον καθορισμό χαρακτηριστικών των πυρήνων, οι τιμές των οποίων διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τριών κλάσεων βαθμού κακοήθειας. Κατόπιν ελέγχου της κανονικότητας κατανομής των τιμών των χαρακτηριστικών με την μέθοδο Lilliefors, βρέθηκε ότι δεν ακολουθούσαν κανονικές κατανομές και επομένως εφαρμόστηκαν η δοκιμασία Kruskal Wallis για συγκρίσεις μεταξύ των 3 κλάσεων βαθμού κακοήθειας και εφόσον προέκυπταν στατιστικά σημαντικές διαφορές τότε ελέγχθηκε η ανά 2 κλάσεις στατιστικές διαφορές (μεταξύ I και II, I και III, II και III) με τη στατιστική δοκιμασία Wilcoxon. Η συσχέτιση μεταξύ των τιμών κάθε χαρακτηριστικού στους διάφορους βαθμούς κακοήθειας ελέγχθηκε με την συσχέτιση Point Biserial για δύο κατηγορίες (πχ χαμηλού-υψηλού βαθμού κακοήθειας), η συσχέτιση σε τρεις βαθμούς κακοήθειας αλλά και η συσχέτιση μεταξύ χαρακτηριστικών ελέγχθηκε με τη συσχέτιση Spearman.

Το τέταρτο στάδιο της ανάλυσης εικόνας περιελάμβανε τη χρήση της logistic regression analysis (βλ. κεφάλαιο 5) στο σχεδιασμό μίας εξίσωσης, βασισμένης σε χαρακτηριστικά πυρήνων, για την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας, αν είναι χαμηλού ή υψηλού βαθμού. Τα δεδομένα χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, την χαμηλού βαθμού κλάση, που περιλάμβανε τα πρότυπα της κατηγορίας με βαθμό

κακοήθειας I, και την υψηλού βαθμού κλάση, που περιλάμβανε τα πρότυπα των κατηγοριών II και III βαθμού κακοήθειας. Χρησιμοποιώντας: 1) την σειριακή πρόσθια κινητή αναζήτηση για την επιλογή συνδυασμού χαρακτηριστικών υψηλής διαχωριστικής ικανότητας, 2) την συνάρτηση εκτίμησης απόστασης μεταξύ κλάσεων [34], $J = \text{trace}\{S_w^{-1}S_m\}$ (βλ. εξίσωση 5.10), όπου S_w είναι η μεταξύ των κλάσεων μήτρα διασποράς, S_m είναι η μήτρα covariance του διανύσματος χαρακτηριστικών, και trace είναι το άθροισμα των όρων της κεντρικής διαγωνίου μήτρας, και 3) την LOO μέθοδο αξιολόγησης ακρίβειας, επελέγησαν τα καλύτερα χαρακτηριστικά, που σχεδίασαν την εξίσωση με την μεγαλύτερη ικανότητα πρόβλεψης του βαθμού κακοήθειας ενός νέου περιστατικού κακοήθειας καρκίνου του λάρυγγα.

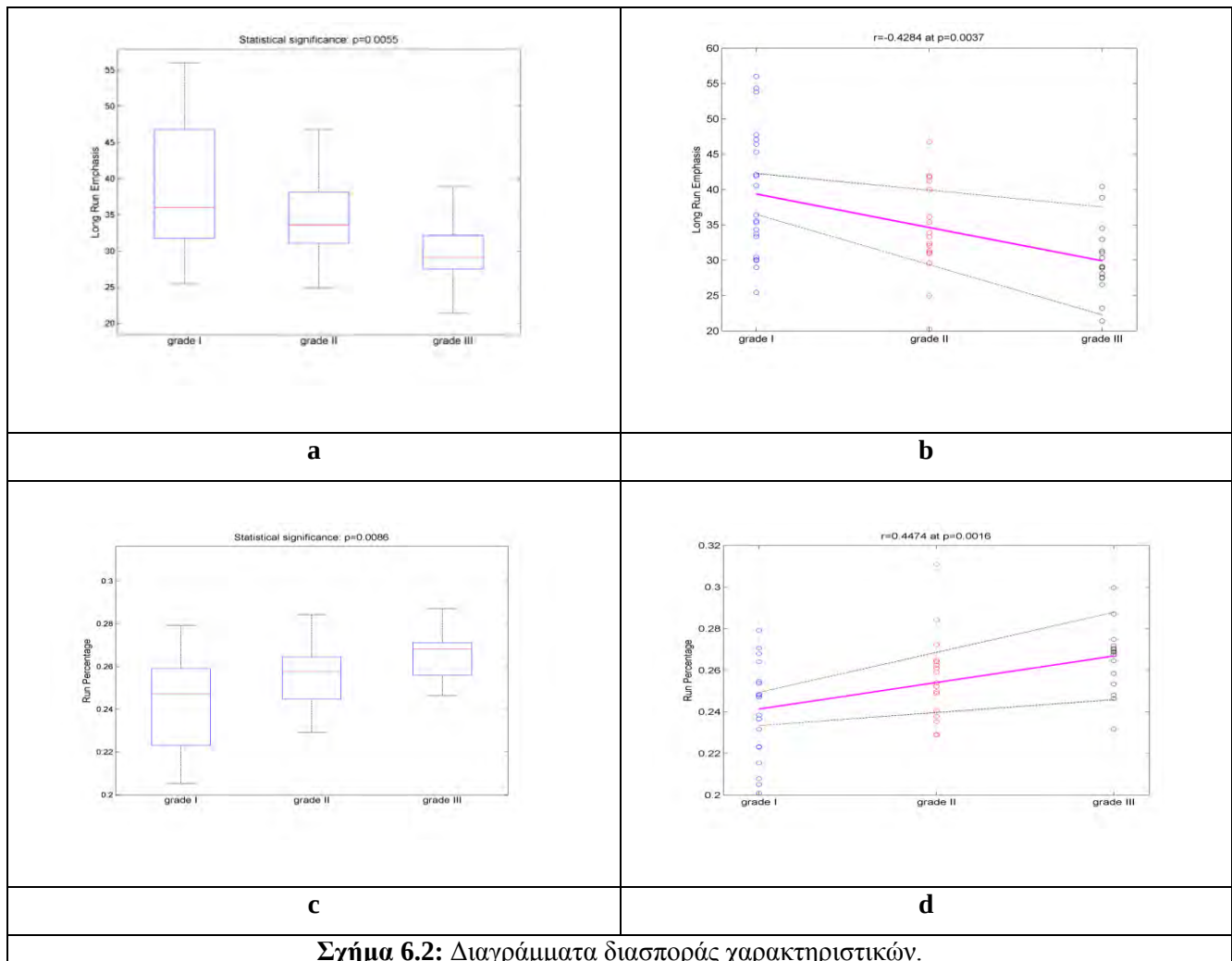
6.4. Αποτελέσματα

Στην αξιολόγηση της τμηματοποίησης της εικόνας για την εύρεση των p63 εκφρασμένων πυρήνων, περίπου το **87%** των τμηματοποιημένων αντικειμένων αναγνωρίστηκαν από την έμπειρο παθολογοανατόμο ως πυρήνες. Η ακρίβεια αυτή δεν διαφοροποιείται από τα ευρήματα προηγούμενων μελετών [21, 38-41]. Η ιατρός αφαίρεσε από τις τμηματοποιημένες εικόνες τα αντικείμενα που δεν ήταν πυρήνες, με τη βοήθεια ειδικά σχεδιασμένου προγράμματος, και ήταν αυτές οι τελικές εικόνες που περιείχαν μόνο πυρήνες που χρησιμοποιήθηκαν στην περαιτέρω επεξεργασία.

Εξετάζοντας τις τιμές των χαρακτηριστικών των πυρήνων και το πως αυτές μεταβάλλονται με τον βαθμό κακοήθειας, βρέθηκε ότι στο 1% ($p=0.1$) στατιστικό επίπεδο αναδείχτηκαν δύο χαρακτηριστικά που είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**ΣΣΔ**) μεταξύ των τριών βαθμών κακοήθειας: το **Long Run Emphasis (LRE)** και το **Run Percentage (RP)**.

Σχετικά με το LRE χαρακτηριστικό, το **Σχήμα 6.2a** δείχνει τη διασπορά και την μεσαία (median) τιμή του χαρακτηριστικού. Η ΣΣΔ του LRE ανάμεσα στις τρεις κατηγορίες ήταν $p=0.006$ και είχε αρνητική συσχέτιση ($r=-0.42$) με αυξανόμενη κακοήθεια σε επίπεδο αξιοπιστίας $p=0.004$ (δηλαδή ότι το εύρημα δεν είναι τυχαίο). Εξετάζοντας τις ΣΣΔ μεταξύ των βαθμών κακοήθειας ανά 2 βρέθηκε ότι μόνο οι βαθμού I και βαθμού III περιπτώσεις είχαν ΣΣΔ στο 1% επίπεδο ($p=0.0008$) και τα

πρότυπα των κλάσεων II και III δεν είχαν ΣΣΔ. Το **Σχήμα 6.2b** δείχνει την συσχέτιση του LRE με αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας και τα 95% επίπεδα αξιοπιστίας.

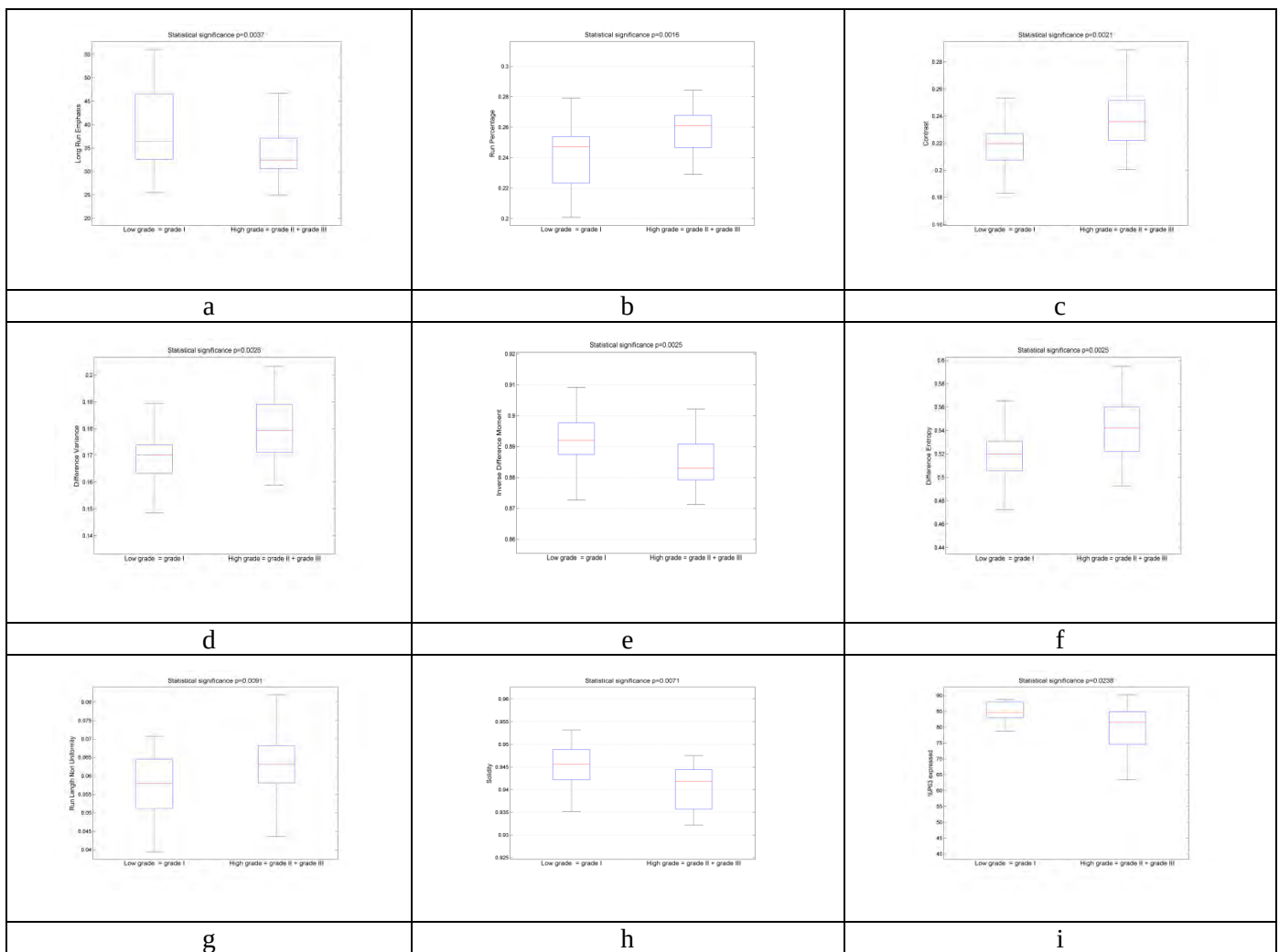


Σχήμα 6.2: Διαγράμματα διασποράς χαρακτηριστικών.

Το χαρακτηριστικό RP είχε ΣΣΔ στην στατιστική δοκιμασία ανάμεσα στις τρεις κατηγορίες. Το **Σχήμα 6.2c** δείχνει τη διασπορά και μεσαίες τιμές του RP ανάμεσα στις 3 κατηγορίες με στατιστικά σημαντική διαφορά $p=0.0009$ και θετική συσχέτιση με αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας ($r=0.45$, $p=0.002$). Εξετάζοντας τις διαφορές μεταξύ των κλάσεων ανά δύο, βρέθηκε ότι σημαντικές διαφορές υπήρχαν μεταξύ των κατηγοριών I και III. Στο **Σχήμα 6.2d** παρουσιάζεται η συσχέτιση του χαρακτηριστικού με το βαθμό κακοήθειας.

Λόγω των ευρημάτων των δύο χαρακτηριστικών, όπου οι κατηγορίες βαθμού κακοήθειας II και III δεν είχαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά, αποφασίστηκε τα δεδομένα να χωριστούν σε δύο μόνο κατηγορίες, την χαμηλού βαθμού κακοήθεια (πρότυπα βαθμού I) και την υψηλού βαθμού κακοήθεια (πρότυπα

βαθμών II και III μαζί). Κατά την σύγκριση μεταξύ της χαμηλού βαθμού (XB) και υψηλού βαθμού (YB) κακοήθειας κατηγορίες, βρέθηκαν έξι επιπλέον χαρακτηριστικά με ΣΣΔ ανάμεσα στις δύο κατηγορίες στο 1% επίπεδο σημαντικότητας. Τα χαρακτηριστικά αυτά ήταν τα contrast, inverse difference moment, difference variance, difference entropy, run length non-uniformity, and solidity. Τα τέσσερα πρώτα υπολογίζονταν από την μήτρα co-occurrence, το πέμπτο από την μήτρα run-length, και το τελευταίο από τη μορφολογία του πυρήνα. Επιπρόσθετα, παρουσιάζεται και το % p63 χαρακτηριστικό που βρέθηκε να έχει ΣΣΔ στο 5% επίπεδο σημαντικότητας. Το **Σχήμα 6.3** απεικονίζει γραφήματα της διασποράς και μεσαίων τιμών κάθε ενός από τα εννιά (9) χαρακτηριστικά και ο **Πίνακας 6.2** δείχνει τις μέσες τιμές, τις τυπικές αποκλίσεις, τις ΣΣΔ και συσχετίσεις των ίδιων χαρακτηριστικών, με αυξανόμενη κακοήθεια.



Σχήμα 6.3: Γραφήματα διασποράς χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ κλάσεων **XB** και **YB** κακοήθειας.

Πίνακας 6.2: Μέσες τιμές, τυπικές αποκλίσεις, στατιστική σημαντικότητα και συσχετίσεις των χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ Χαμηλού Βαθμού (XB) και Υψηλού Βαθμού (YB) κακοήθειας όγκων του λάρυγγα.

	XB-κλάση		YB-κλάση		XB Vs YB	XB Vs YB
	mv	std	mv	std	Στατιστική	συσχέτιση r
					σημαντικότητα	p<0.05
% P63	84.840	3.251	79.833	9.565	0.02	-0.300
CONT ^a	0.216	0.024	0.238	0.02	0.002	0.436
IDF ^a	0.893	0.012	0.883	0.009	0.003	-0.434
DVAR ^a	0.168	0.014	0.179	0.010	0.003	0.434
DENTR ^a	0.515	0.033	0.542	0.023	0.003	0.434
LRE ^a	39.475	9.026	32.351	6.122	0.004	-0.428
RLNU ^a	0.057	0.008	0.064	0.009	0.009	0.354
RP ^a	0.240	0.022	0.261	0.019	0.002	0.447
Solidity	0.945	0.008	0.940	0.005	0.007	-0.332

% P63: ποσοστό P63 εκφρασμένων πυρήνων

CONT: Contrast

IDF: Inverse Difference Moment

DVAR: Difference Variance

DENTR: Difference Entropy

LRE: Long Runs Emphasis

RLNU: Run Length Non-Uniformity

RP: Run Percentage

mv: μέση τιμή και std: τυπική απόκλιση

a: μέσος όρος τιμών χαρακτηριστικού σε 4 κατευθύνσεις (0°, 45°, 90°, 135°)

Αν και καθένα από τα 9 χαρακτηριστικά αυτά είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των XB και YB κακοήθειας κλάσεις, εντούτοις, όπως μπορεί να γίνει αντιληπτό από το **Σχήμα 6.3**, υπάρχει επικάλυψη ανάμεσα στις διασπορές των δύο κατηγοριών, που υποδηλώνει ότι δεν μπορεί κάποιο από τα χαρακτηριστικά αυτά να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης εκτίμησης της κακοήθειας ενός νέου περιστατικού. Αντί αυτού, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας συνδυασμός από χαρακτηριστικά, όχι ακριβώς από τα επτά με τη στατιστικά σημαντική διαφορά [34], που ίσως απομακρύνει τις δύο κατηγορίες.

Κάνοντας χρήση των SSFS και LOO μεθόδων βρέθηκε ότι ο συνδυασμός χαρακτηριστικών percentage of P63 expressed nuclei, Angular Second Moment (range), correlation (average), Inverse Difference Moment (range), Sum Entropy (range), Solidity, and Radial Distance (range), όταν ενσωματώθηκαν στην εξίσωση του non-linear logistic regression έδωσε ακρίβεια εκτίμησης του βαθμού κακοήθειας 85%, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 6.3**.

Πίνακας 6.3: Πίνακας εκτίμησης του βαθμού κακοήθειας καρκίνου του λάρυγγα με την non-linear logistic regression.

LG+	LG-	HG+	HG-	% overall accuracy	Cohen – Kappa statistic	AUC
16	5	31	3	85.5	0.654	0.87

Σημείωση: LG+ και LG- αναφέρονται στους χαμηλού βαθμού (grade I) σωστά και λανθασμένα εκτιμηθέντες από την εξίσωση καρκίνους και τα HG+ και HG- στους υψηλού βαθμού (grade II + grade III) σωστά και λανθασμένα εκτιμηθέντες καρκίνους. Η συνολική ακρίβεια εκτίμησης του βαθμού κακοήθειας πραγματοποιήθηκε με την LOO μέθοδο αξιολόγησης.

Μία διαφορετική εκτίμηση της διαχωριστικής δυναμικής του συγκεκριμένου συνδυασμού χαρακτηριστικών στην εξίσωση μπορεί να βρεθεί με την καμπύλη ROC και την επιφάνεια AUC, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.4**. Βρέθηκε AUC=0.87, που θεωρείται πολύ καλή διαχωριστική ακρίβεια μεταξύ των 2 κατηγοριών.

Η εξίσωση non-linear logistic regression, κάνοντας χρήση του βέλτιστου συνδυασμού χαρακτηριστικών δίνεται στη σχέση:

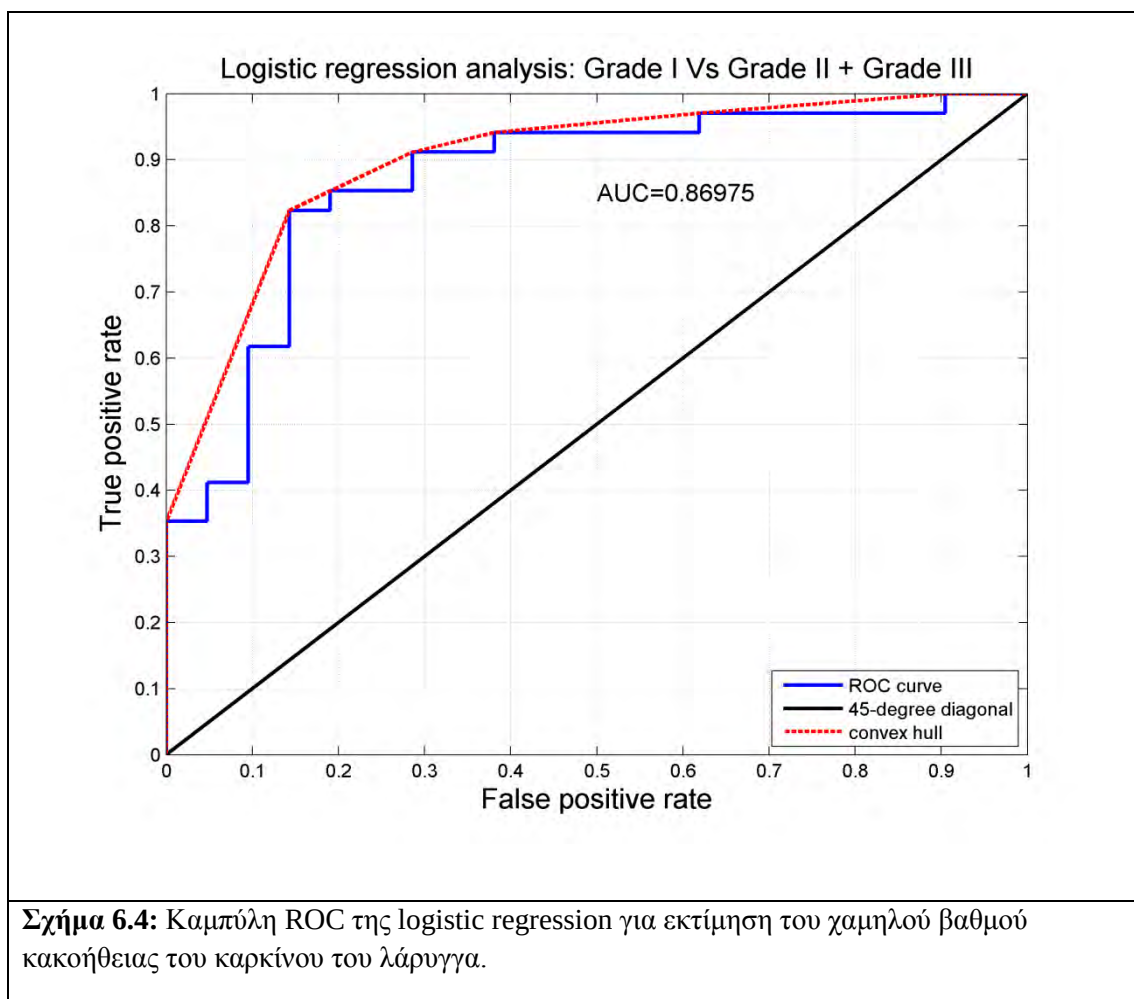
$$p(f_i) = \frac{1}{(1 + e^{-Fw_i})} \quad (6.1)$$

όπου p είναι η πιθανότητα του συγκεκριμένου προτύπου, αν $p > 0.5$ τότε το συγκεκριμένο πρότυπο ταξινομείται στην ΥΒ κακοήθειας κλάση αλλιώς ταξινομείται στην ΧΒ κακοήθειας κλάση, όπου:

$$Fw_i = \sum_{i=0}^7 w_i * f_i \quad (6.2)$$

και $w_i = (1.63, -3.96, 30.06, 10.37, -7.32, -22.25, -2.52, -1.38)$ for $i = 0, 1, \dots, 7$ είναι τα βάρη της εξίσωσης και

$f_i = (1, \%P63 \text{ expressed nuclei}, 'Angular \text{ Second Moment}'^r, 'Correlation^a', 'Inverse \text{ Difference Moment}'^r, 'Sum \text{ Entropy}'^r, 'Solidity', \text{ and } 'Radial \text{ Distance range}')$, αντιπροσωπεύουν τις αριθμητικές τιμές των συγκεκριμένων χαρακτηριστικών (είναι κανονικοποιημένα), και όπου a και r είναι η μέση τιμή και το εύρος τιμών των χαρακτηριστικών κατά τις 4 κατευθύνσεις ($0^\circ, 45^\circ, 90^\circ, 135^\circ$).



6.5. Συζήτηση

Ο σκοπός της παρούσας ερευνητικής δουλειάς ήταν η ανάλυση της κυτταρολογικής εικόνας, υλικού βιοψίας από αλλοιώσεις με καρκίνο του λάρυγγα που είχε βαφεί ανοσοιστοχημικά για p63 έκφραση. Η p63 χρώση επικεντρώνεται κυρίως στους πυρήνες του κυττάρου ενώ η χρώση H&E, που χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του βαθμού κακοήθειας, επικαλύπτει και τους περιβάλλοντες των πυρήνων ιστούς. Είναι λοιπόν σημαντικό να προσδιοριστούν οι p63 εκφρασμένοι πυρήνες, να αναλυθούν οι ιδιότητες των πυρήνων, που αφορούν στην υφή, σχήμα, μορφολογία και διασπορά στο κύτταρο, και να διερευνηθεί αν ορισμένες από αυτές τις ιδιότητες ή χαρακτηριστικά συσχετίζονται με την φύση του όγκου αλλά και με αλλαγές στη δομή του πυρήνα με την επιδείνωση της ασθένειας. Τα δεδομένα αρχικά χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες βαθμού κακοήθειας από την έμπειρο παθολογοανατόμο,

χρησιμοποιώντας προς τούτο δείγματα βιοψίας από τον όγκο με χρώση H&E. Τα δεδομένα επίσης βάφθηκαν για p63 έκφραση, επιλεγμένες εικόνες μικροσκοπίου ψηφιοποιήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση με υπολογιστή.

Τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά που βρέθηκαν ήταν τα Long Run Emphasis και Run Percentage, τα οποία εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις 3 κατηγορίες κακοήθειας. Οι διαφορές αυτές οφείλονταν κυρίως στις διαφορές μεταξύ των κατηγοριών I και III.

Το χαρακτηριστικό *Long Run Emphasis* αναδεικνύει την παρουσία μεγάλων σχετικά δομών στην υφή του πυρήνα. Βρέθηκε ότι οι τιμές του χαρακτηριστικού ήταν μικρότερες στην κατηγορία με την Υψηλού Βαθμού (YB) κακοήθεια (**Σχήμα 6.2a**) και αυτό φαίνεται και από την αρνητική συσχέτιση με προϊούσα κακοήθεια (**Σχήμα 6.2b**). Αυτό πιθανώς σχετίζεται με την αποδόμηση της υφής του πυρήνα, που οφείλεται στην καταστροφή των p63 υποδοχέων στην YB κακοήθεια και την απώλεια της συνέχειας των δομών. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι τα YB κακοήθειας κύτταρα διακρίνονται με δυσκολία και ότι στερούνται φυσιολογικής κυτταρικής δομής [71]. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και στην περίπτωση της σύγκρισης δύο κατηγοριών όπως διαπιστώνεται τόσο από τον **Πίνακα 6.2** όσο και από το **Σχήμα 6.3a**.

Το χαρακτηριστικό *Run Percentage* εκφράζει τον αριθμό των διαφορετικών δομών που υπάρχουν στη δομή του πυρήνα και παίρνει χαμηλές τιμές όταν ο αριθμός των διαφορετικών δομών είναι μικρός, υποδηλώνοντας έτσι ότι η υφή του πυρήνα είναι κυρίως γραμμικής δομής. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.2c**, το χαρακτηριστικό είχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών κατηγοριών και είχε θετική συσχέτιση που υποδεικνύει ότι η υφή στους YB κακοήθειας πυρήνες τείνει να είναι περισσότερο ανομοιογενής και να περιέχει περισσότερες και διαφορετικές δομές. Η απώλεια συνέχειας της υφής στους πυρήνες YB κακοήθειας, λόγω της καταστροφής των p63 υποδοχέων, έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία πολλών και διαφορετικού μεγέθους δομών με αύξηση της ανομοιογένειας της υφής. Παρόμοια συμπεράσματα προκύπτουν και από την σύγκριση δύο κατηγοριών, χαμηλού βαθμού (XB) και υψηλού βαθμού (YB) κακοήθειας όπως φαίνεται στον **Πίνακα 6.2** και το **Σχήμα 6.3b**.

Οργανώνοντας τα δεδομένα σε δύο κατηγορίες, την XB και YB βαθμού κακοήθειας κλάσεις, 7 ακόμα χαρακτηριστικά προέκυψαν με στατιστικά σημαντική διαφορά, τα contrast, inverse difference moment, difference variance, difference entropy, run length non-uniformity, solidity και η % ποσοστιαία P63 έκφραση των πυρήνων.

Το χαρακτηριστικό *Contrast* μετρά το ποσό των τοπικών μεταβολών στην υφή του πυρήνα και αποκτά υψηλές τιμές σε υφή με πολλές τοπικές μεταβολές. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.3c** το χαρακτηριστικό αποκτά υψηλές τιμές σε πυρήνες YB κακοήθειας, που μπορεί να εξηγηθεί από την καταστροφή των p63 υποδοχέων σε πυρήνες υψηλής κακοήθειας, που καταλήγει στην τυχαία διασπορά των ενεργών υποδοχέων και την ενίσχυση των τοπικών μεταβολών στην χρώση και στην υφή του πυρήνα.

Το χαρακτηριστικό *Difference Variance* μετρά την μεταβολή του κοντράστ στην εικόνα του πυρήνα. Αποκτά χαμηλές τιμές σε ομοιόμορφα κατανεμημένα μεταβολές του κοντράστ. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.3d**, το χαρακτηριστικό είχε υψηλές τιμές στου YB κακοήθειας πυρήνες, που δείχνει ότι στις εικόνες των YB κακοήθειας πυρήνων υπήρχαν πολλές και ανομοιόμορφα κατανεμημένες τοπικές μεταβολές στη χρώση των P63 πυρήνων.

Το χαρακτηριστικό *Inverse Difference Moment* εκτιμά την ομοιογένεια της εικόνας του πυρήνα και αποκτά υψηλές τιμές για μικρότερες μεταβολές έντασης γειτονικών pixels. Το χαρακτηριστικό είχε μικρότερες τιμές στις εικόνες YB κακοήθειας (βλ. **Σχήμα 6.3e**), που υποδηλώνει ότι η απεικονιζόμενη υφή των YB κακοήθειας πυρήνων παρουσιαζόταν με μεγαλύτερες μεταβολές έντασης. Αυτό δείχνει ότι η ομοιογένεια της υφής των πυρήνων μειωνόταν στους YB κακοήθειας πυρήνες και μπορεί να αποδοθεί στην καταστροφή των p63 υποδοχέων.

Το χαρακτηριστικό *Difference Entropy* εκτιμά την έλλειψη δομής ή τάξης στο κοντράστ της εικόνας. Προσλαμβάνει υψηλές τιμές σε τυχαία κατανεμημένες διαφορές έντασης. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.3f**, η τιμή του χαρακτηριστικού αυξανόταν με προϊούσα κακοήθεια. Υποδηλώνει ότι η υφή των YB κακοήθειας πυρήνων χαρακτηρίζεται από περισσότερο αποδομημένη κατανομή του κοντράστ στην εικόνα.

Το χαρακτηριστικό *Run Length Non-Uniformity* ποσοτικοποιεί την ανομοιογένεια των δομών και αποκτά χαμηλές τιμές όταν το μέγεθος των δομών στην εικόνα του πυρήνα είναι ομοιόμορφα κατανομημένες σε όλα τα πιθανά μεγέθη. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.3g**, οι τιμές του χαρακτηριστικού αυξάνονταν με προϋούσα κακοήθεια. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι τα μεγέθη των p63 εκφρασμένων δομών στην υφή των YB κακοήθειας πυρήνων διέφεραν και ήταν ανομοιογενώς κατανομημένα.

Το χαρακτηριστικό *Solidity* εκτιμά την κυρτότητα του σχήματος του πυρήνα, σχετίζεται με την κανονικότητα του περιγράμματος του πυρήνα και αυξάνει με την ομαλότητα της παρυφής. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6.3h**, η τιμή του χαρακτηριστικού μειώνονταν με αυξανόμενο βαθμό κακοήθειας, που υποδηλώνει ότι οι p63 εκφρασμένοι πυρήνες τείνουν να αποκτούν ακανόνιστα σχήματα στην YB κακοήθεια.

Όπως γίνεται αντιληπτό, πολλά από τα ανωτέρω χαρακτηριστικά αξιολογούν παρόμοιες ιδιότητες της υφής των πυρήνων, όπως είναι η ένταση, το κοντράστ, η ομοιογένεια, το περιεχόμενο.

Σχετικά με το χαρακτηριστικό που εκτιμά την % ανοσοϊστοχημική έκφραση p63 πυρήνων, βρέθηκε ότι το ποσοστό των εκφρασμένων πυρήνων ελαττώνονταν με προϋούσα κακοήθεια (βλ. **Σχήμα 6.3i**). Αυτό σχετίζεται με την καταστροφή των p63 υποδοχέων σε YB κακοήθειας πυρήνες. Ο βαθμός P63 έκφρασης έχει σε προηγούμενες μελέτες συσχετιστεί με την πρόγνωση [69], όπου έχει βρεθεί ότι ελαττωμένη έκφραση P63, σε βαθμού κακοήθειας II αλλοιώσεις καρκίνου του λάρυγγα, σχετίζεται με την επανεμφάνιση του καρκίνου και με κακή πρόγνωση. Αντίθετα, σε μία άλλη μελέτη [7] έχει βρεθεί το αντίθετο αποτέλεσμα, ενώ άλλες μελέτες [6, 73] δεν έχουν βρει συσχετισμό μεταξύ της p63 έκφρασης και της επιβίωσης του ασθενούς.

Σχετικά με την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας με την non-linear logistic regression, ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών στο σχεδιασμό της εξίσωσης μέσα από τα ανωτέρω 9 χαρακτηριστικά, επέφερε μέτρια μέγιστη ακρίβεια (AUC=0.75). Όταν ο συνδυασμός χαρακτηριστικών περιελάμβανε και άλλα χαρακτηριστικά, τότε προέκυψε ένας βέλτιστος συνδυασμός με πολύ καλό ποσοστό επιτυχίας (AUC=0.87). Ο βέλτιστος συνδυασμός περιελάμβανε τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: το ποσοστό των % P63 εκφρασμένων πυρήνων, *Angular Second*

Moment (εύρος), Correlation (μέση τιμή), Inverse Difference Moment (εύρος), Sum Entropy (εύρος), Solidity and Radial Distance (εύρος). Το χαρακτηριστικό Angular Second Moment (εύρος) εκτιμά την ανισοτροπία στην ομοιογένεια κατά τις κατευθύνσεις (0,45,90,135 μοιρών), το χαρακτηριστικό Inverse Difference Moment (εύρος) εκτιμά την ανισοτροπία στις διαφορές έντασης, το χαρακτηριστικό Correlation (μέση τιμή) μετρά τις γραμμικές συσχετίσεις στις εντάσεις των pixels, το χαρακτηριστικό Sum Entropy (εύρος) εκτιμά την ανισοτροπία στην έλλειψη δομής ή τάξης στην εικόνα, το χαρακτηριστικό Solidity εκφράζει την κυρτότητα του σχήματος του πυρήνα και το χαρακτηριστικό Radial Distance εκτιμά την ανομοιογένεια στο περίγραμμα του πυρήνα. Από τα καλύτερα αυτά χαρακτηριστικά, μόνο το ποσοστό P63 έκφρασης και το Solidity, είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην XM και YB κακοήθεια.

6.6. Συμπεράσματα 1ης πειραματικής μελέτης

Τα αποτελέσματά μας έδειξαν, ότι με αυξανόμενο το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα το ποσοστό P63 έκφρασης μειώνεται, η ένταση απεικόνισης των p63 εκφρασμένων πυρήνων μειώνεται, η υφή των καθίσταται πιο ανομοιογενής και αποτελείται από μικρότερα ανόμοια δομικά στοιχεία τυχαία κατανομημένα και το σχήμα των γίνεται περισσότερο ακανόνιστο. Η εκτίμηση του χαμηλού ή υψηλού βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα είναι δυνατή, με καλό βαθμό αξιοπιστίας, από την προτεινόμενη στην παρούσα ερευνητική εργασία μη-γραμμική logistic regression εξίσωση, σχεδιασμένη με χαρακτηριστικά υφής, σχήματος, μορφής και ποσοστού p63 έκφρασης και κάνοντας χρήση δειγμάτων βιοψίας, επισημασμένα ανοσοϊστοχημικά για p63 έκφραση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 - Σύστημα υποστήριξης απόφασης για την εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα

7.1. Περίληψη

Στο κεφάλαιο αυτό μελετάται ο σχεδιασμός και αξιολόγηση ενός συστήματος υποστήριξης διάγνωσης, με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, για τον διαχωρισμό του καρκίνου του λάρυγγα σε χαμηλού βαθμού και υψηλού βαθμού κακοήθειας, από εικόνες υλικού βιοψίας, με χρώση p63. Το σύστημα σχεδιάστηκε ως ένα εργαλείο υποβοήθησης του παθολογοανατόμου ιατρού. Η λήψη, χρώση και επεξεργασία του υλικού έχει περιγραφεί αναλυτικά στα κεφάλαια 2,3 και 6.

7.2. Εισαγωγή και ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

Η ακριβής διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα αποτελεί ένα πολύ σημαντικό βήμα στον σχεδιασμό της κατάλληλης θεραπείας για την βελτίωση της επιβίωσης του ασθενή. Η μέθοδος που ακολουθείται για ιστολογική αξιολόγηση του βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα είναι η ιστοπαθολογική εξέταση των βιοψιών με χρώση H&E σε οπτικό μικροσκόπιο [4]. Εντούτοις, η αξιολόγηση των λαρυγγικών αλλοιώσεων εξαρτάται από την εμπειρία του παθολογοανατόμου ιατρού και, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, έχει πολύ μεγάλη μεταβλητότητα τόσο ανάμεσα σε διαφορετικούς ιατρούς όσο και μεταξύ διαγνώσεων του ίδιου υλικού από τον ίδιο ιατρό [2-4]. Στην παρούσα ερευνητική εργασία αναπτύχθηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για τον αυτόματο χαρακτηρισμό του καρκίνου του λάρυγγα σε χαμηλού βαθμού και υψηλού βαθμού κακοήθειας, από εικόνες υλικού βιοψίας, με χρώση p63. Το σημαντικό με την πρωτεΐνη p63 είναι στη διατήρηση των επιθηλιακών κυττάρων και η υπερέκφρασή της έχει θεωρηθεί ως πρόωρο στάδιο καρκινογένεσης στην περιοχή του εγκεφάλου και λαιμού [5].

Η δυσκολία στη σχεδίαση του προτεινόμενου συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων έγκειται στο πολυδιάστατο του προβλήματος, που δημιουργείται από το μεγάλο αριθμό των χαρακτηριστικών των πυρήνων (υφή - μορφολογία - τοπολογία) που χρησιμοποιήθηκαν. Για το λόγο αυτό, ο σχεδιασμός και

η αξιολόγηση του συστήματος αναγνώρισης προτύπων πραγματοποιήθηκε σε κάρτα γραφικών (Graphics Processing Unit - GPU), κάνοντας χρήση της δυνατότητας παράλληλου προγραμματισμού της κάρτας γραφικών και της προγραμματιστικής πλατφόρμας CUDA σε γλώσσα προγραμματισμού C++ [74]. Αυτό πρόσφερε τη δυνατότητα: α) για το βέλτιστο σχεδιασμό του συστήματος, με την εφαρμογή της εξαντλητικής αναζήτησης των χαρακτηριστικών ώστε μέσα σε εύλογο χρονικό διάστημα να διαμορφωθεί ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών και β) για την αξιολόγηση της ακρίβειας ταξινόμησης του συστήματος σε νέα, άγνωστα στο σύστημα δεδομένα, κάνοντας χρήση της μεθόδου external-cross-validation, που απαιτεί τον πολλαπλό επανασχεδιασμό του συστήματος.

Η τεχνολογία GPU έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες στο πεδίο της επεξεργασίας και ανάλυσης της εικόνας [75-82], εντούτοις όχι για το συγκεκριμένο πρόβλημα του βέλτιστου σχεδιασμού ενός συστήματος Pattern Recognition (PR) για το χαρακτηρισμό των λαρυγγικών αλλοιώσεων σε εικόνες μικροσκοπίας.

Η συνεισφορά της παρούσας μελέτης στη διεθνή βιβλιογραφία έγκειται στο γεγονός ότι, παρόλο που έχουν προηγουμένως δημοσιευθεί μελέτες σχετικά με τον αυτόματο χαρακτηρισμό όγκων με συστήματα υποστήριξης απόφασης, με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, με εικόνες μικροσκοπίου από το μαστό [16, 17], την ουροδόχο κύστη [19, 83], το θυρεοειδή [20], τον εγκέφαλο [18, 21], και το ενδομήτριο [22], δεν υπάρχει προηγούμενη μελέτη ανάπτυξης συστήματος αναγνώρισης προτύπων για τον χαρακτηρισμό, από εικόνες μικροσκοπίου, του βαθμού κακοήθειας περιστατικών με καρκίνο του λάρυγγα. Αντίθετα, τεχνικές αναγνώρισης προτύπων έχουν εφαρμοστεί σε δύο προηγούμενες μελέτες [23, 24] αλλά σε εικόνες λαρυγγοσκοπίου.

7.3. Υλικό και μέθοδοι

Η συλλογή και χρώση του κλινικού υλικού καθώς και οι μέθοδοι λήψης, ψηφιοποίησης και επεξεργασίας των επιλεγμένων εικόνων μικροσκοπίας καθώς και η δημιουργία των χαρακτηριστικών υφής, μορφολογίας, σχήματος και τοπολογίας (διασποράς) των πυρήνων περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 5. Ο σχεδιασμός του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων

περιλαμβάνει τα στάδια του σχεδιασμού του ταξινομητή και της αξιολόγησης του συστήματος.

Στην αναζήτηση για τον σχεδιασμό ενός αποτελεσματικού συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, πρέπει να εξεταστούν διάφοροι παράγοντες. Πρώτον, η επιλογή του ταξινομητή είναι καθοριστικής σημασίας, γιατί ο ταξινομητής πρέπει: α) να είναι γρήγορος στην εκτέλεση ώστε να συμβάλει καθοριστικά στην συντόμευση του σταδίου σχεδιασμού, και β) υψηλής διακριτικής ικανότητας, διότι η διάκριση μεταξύ των τύπων του καρκίνου του λάρυγγα στη μικροσκοπία είναι προβληματική, όπως γίνεται αντιληπτό από τους χαμηλούς βαθμούς επαναληψιμότητας τόσο μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών όσο και από τον ίδιο παρατηρητή [2, 4, 84]. Μετά από πειραματισμό με διάφορους ταξινομητές ως προς την ακρίβεια ταξινόμησης, ο ταξινομητής Πιθανοκρατικού Νευρωνικού Δικτύου (PNN) [52] επιλέχτηκε για το σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, δεδομένου ότι είναι γρήγορος στο σχεδιασμό του, και επειδή διαπιστώθηκε ότι είχε ίδια ακρίβεια ταξινόμησης με περιπλοκότερους ταξινομητές όπως είναι ο SVM [55]. Η συνάρτηση διάκρισης του PNN δίνεται στο κεφάλαιο 5.

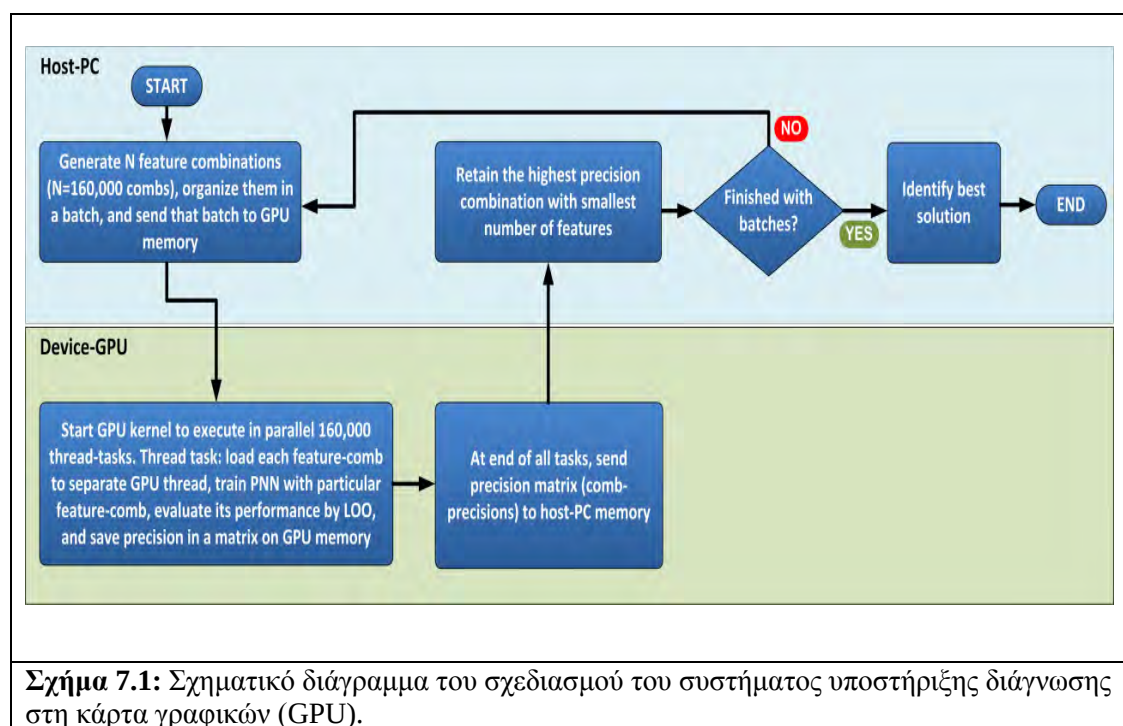
Παράλληλα με την κατάλληλη επιλογή ενός αποδοτικού ταξινομητή, η σχεδίαση ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων περιλαμβάνει διάφορες μεθόδους «εκπαίδευσης» και αξιολόγησης ταξινομητών, με σκοπό να σχεδιαστεί το βέλτιστο σύστημα που προσφέρει υψηλότερη ακρίβεια με μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών. Στην αναζήτηση του βέλτιστου σχεδιασμού, δύο μη-βέλτιστες και μια βέλτιστη τεχνικές σχεδιασμού εφαρμόστηκαν. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκαν μη-βέλτιστες μέθοδοι είναι ότι είναι λιγότερο απαιτητικές στο χρόνο επεξεργασίας, και για να αποκλεισθεί το γεγονός ότι μπορούσε να είχε προκύψει ένας σχεδιασμός εξίσου καλός με τον σχεδιασμό της βέλτιστης μεθόδου.

Στην πρώτη μη-βέλτιστη μέθοδο αξιολόγησης, τα χαρακτηριστικά κατατάχθηκαν σε κατιούσα σειρά, με βάση ένα κριτήριο διαχωρισιμότητας βασισμένο στη στατιστική δοκιμασία *Wilcoxon* και στη συσχέτιση κάθε χαρακτηριστικού με τα υπόλοιπα [45]. Τα δέκα υψηλότερα στην κατάταξη χαρακτηριστικά συνδυάστηκαν με όλους τους πιθανούς τρόπους, ώστε να δημιουργηθούν συνδυασμοί χαρακτηριστικών, που στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν στη σχεδίαση του PNN. Η ακρίβεια σχεδίασης του PNN

με κάθε έναν από τους συνδυασμούς χαρακτηριστικών, αξιολογήθηκε χωριστά με τη βοήθεια της μεθόδου LOO, δηλαδή εκπαιδεύοντας τον ταξινομητή με όλα τα πρότυπα εκτός ενός, στη συνέχεια ταξινομώντας το πρότυπο αυτό, και επαναλαμβάνοντας όλη τη διαδικασία για όλα τα πρότυπα διαδοχικά. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ο πίνακας αληθείας των ορθά και μη ορθά ταξινομημένων προτύπων και εκτιμάται η ακρίβεια διαχωρισμού κάθε συγκεκριμένης σχεδίασης ως το ποσοστό των ορθά ταξινομημένων προτύπων. Στην δεύτερη μη-βέλτιστη μέθοδο, την *Sequential Backward Selection*, χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο επιλογής χαρακτηριστικών η απόδοση του ταξινομητή. Πάλι, η ακρίβεια κάθε σχεδιασμού εξετάστηκε με τη βοήθεια της μεθοδολογίας LOO. Η βέλτιστη μέθοδος περιελάμβανε τον σχηματισμό όλων των πιθανών συνδυασμών των χαρακτηριστικών και σε κάθε συνδυασμό, τον σχεδιασμό και αξιολόγηση της ακρίβειας του συστήματος με την μέθοδο αξιολόγησης LOO. Εντούτοις, αυτό απαιτούσε τον σχηματισμό ενός μεγάλου αριθμού συνδυασμών χαρακτηριστικών, ο οποίος μειώθηκε σχετικά λαμβάνοντας υπόψη έναν εμπειρικό κανόνα [34], ότι προς αποφυγή υπερεκτίμησης της ακρίβειας ταξινόμησης, ο αριθμός των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιούνται δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1/3 του αριθμού των προτύπων της μικρότερης από τις δυο κλάσεις. Κατά συνέπεια γνωρίζοντας ότι στην παρούσα μελέτη η μικρότερη κατηγορία περιείχε είκοσι ένα (21) πρότυπα, τότε ο μέγιστος αριθμός των επιτρεπών χαρακτηριστικών δεν μπορούσε να υπερβεί τα επτά (7) χαρακτηριστικά ανά συνδυασμό. Ακόμα και σε αυτή την περίπτωση, οι συνδυασμοί ήταν απαγορευτικά πολλοί για να υποστούν επεξεργασία σε ένα υπολογιστή, αν ληφθεί επίσης υπόψη ότι σε κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών ο ταξινομητής πρέπει να ξανασχεδιαστεί τόσες φορές όσος ήταν ο συνολικός αριθμός προτύπων και στις 2 κατηγορίες, προκειμένου να αξιολογηθεί η ακρίβεια σχεδιασμού του με τη βοήθεια της LOO μεθόδου. Πρακτικά, ο σχεδιασμός με την βέλτιστη μέθοδο δε θα μπορούσε να επιτευχθεί σε ένα H/Y, κάνοντας χρήση σειριακού προγραμματισμού. Εναλλακτικά, ο στόχος μπορούσε να επιτευχθεί με την υιοθέτηση τεχνικών προγραμματισμού παράλληλης επεξεργασίας είτε σε όλους τους διαθέσιμους πυρήνες της CPU χρησιμοποιώντας περιβάλλον προγραμματισμού OpenMP, είτε στους πολυ-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών Nvidia, χρησιμοποιώντας μεθοδολογία CUDA (Compute Unified Architecture) toolkit v.4.0, και περιβάλλον προγραμματισμού C++ [74]. Η διαδικασία σχεδιασμού περιελάμβανε τον χωρισμό του προβλήματος σε μικρές διαδικασίες (tasks), οι οποίες φορτώθηκαν ξεχωριστά η καθεμία σε ένα νήμα (thread) της κάρτας

γραφικών (GPU-threads), και πραγματοποιήθηκε παράλληλη εκτέλεση των διαδικασιών ταυτόχρονα στους διαφορετικούς πυρήνες των πολυεπεξεργαστών της κάρτας γραφικών.

Μία τέτοια μικρή διεργασία, εκτελέσιμη σε ένα νήμα, ήταν η σχεδίαση του ταξινομητή PNN με έναν συνδυασμό χαρακτηριστικών και ο έλεγχος της ακρίβειας του συστήματος με τη βοήθεια της μεθόδου LOO. Το **Σχήμα 7.1** είναι ένα σχηματικό διάγραμμα της παράλληλης επεξεργασίας μικρών διεργασιών στην κάρτα γραφικών.



Η παράλληλη επεξεργασία σχεδιάστηκε ως ακολούθως: οι όμοιες εργασίες (συνδυασμός χαρακτηριστικών - σχεδιασμός PNN - αξιολόγηση με LOO) χωρίστηκαν στον Η/Υ σε μεγάλες ομάδες των 160000 εργασιών και κάθε ομάδα μεταφέρθηκε, σειριακά, από την CPU του Η/Υ στην μνήμη της κάρτας γραφικών. Ο κύκλος της μεταφοράς της κάθε ομάδας εργασιών από την CPU του Η/Υ στη GPU της κάρτας γραφικών επαναλήφθηκε μέχρι την ολοκλήρωση όλων των ομάδων. Στο τέλος κάθε κύκλου τα αποτελέσματα στάλθηκαν στον Η/Υ. Στο **Σχήμα 7.2** δίνεται, σε ψευδο-κώδικα, ο προγραμματισμός μίας διεργασίας με σκοπό την εκπαίδευση του PNN ταξινομητή με συγκεκριμένο συνδυασμό χαρακτηριστικών και την LOO μέθοδο σε ένα νήμα του επεξεργαστή της κάρτας γραφικών.

Read feature combination $C_t [F_1, F_2, F_3...F_n]$ from Device global memory

FOR each pattern $P_{j,i}$ in the training dataset

SET $P_{j,i}$ as the test pattern X

Leave $P_{j,i}$ out of the training dataset

Train PNN with the remaining dataset and using feature combination C_t

Classify test pattern X and UPDATE truth table in local memory

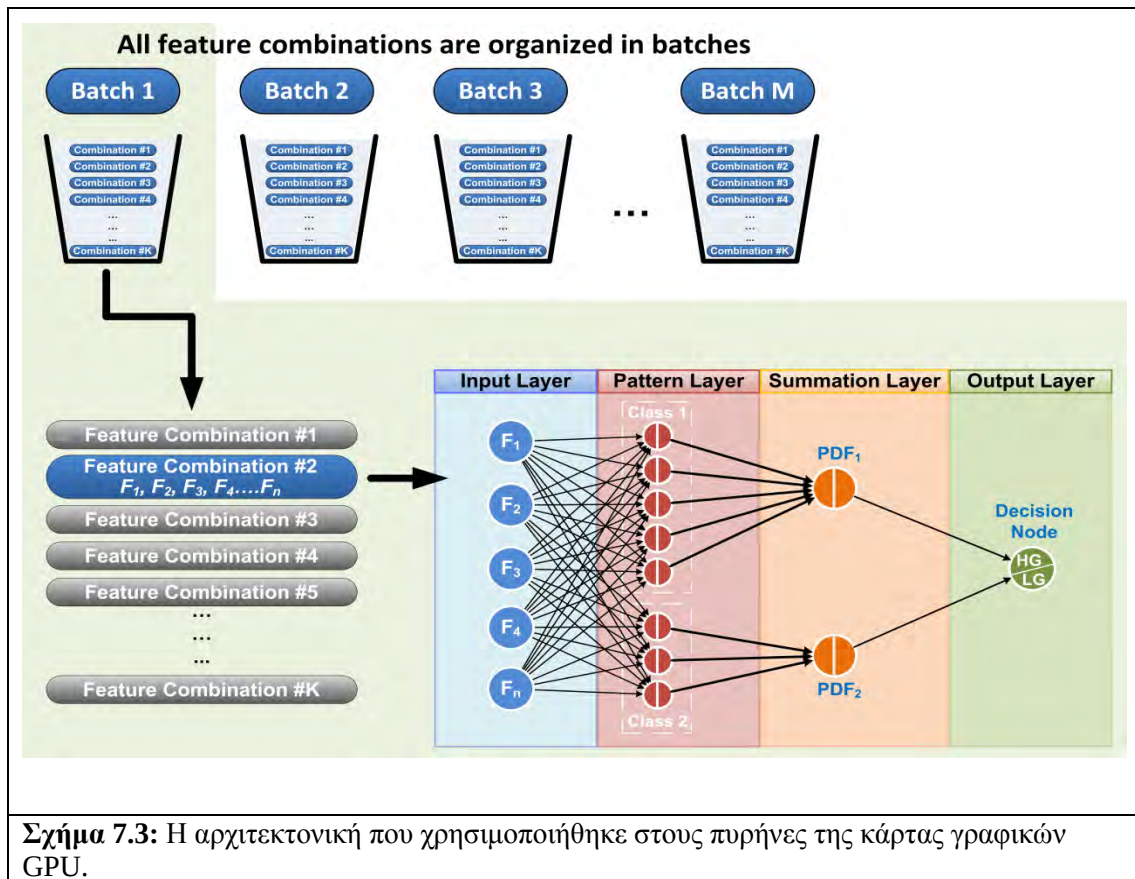
ENDFOR

Calculate overall accuracy A_t for feature combination C_t

Store A_t in Device global memory

Σχήμα 7.2: Ψευδο-κώδικας εκτέλεσης μίας διεργασίας για εκπαίδευση του PNN ταξινομητή με ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών και την LOO μέθοδο πάνω σε ένα νήμα t .

Το **Σχήμα 7.3** δείχνει την αρχιτεκτονική του δικτύου όπως υλοποιήθηκε στη GPU. Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιελάμβανε μια κάρτα γραφικών Nvidia 580GTX με 16 πολυ-επεξεργαστές, καθένας από τους οποίους αποτελείτο από 32 πυρήνες, με αποτέλεσμα ένα σύνολο 512 παράλληλα προγραμματιζόμενων πυρήνων, με 1536MB μνήμης GGDR5 και υποστήριξη CUDA υπολογιστικής ικανότητας 2.0. Η GPU ενσωματώθηκε σε ένα H/Y με 4-πύρηνο επεξεργαστή (CPU) Intel Core Quad των 2.83 GHz με 4MB μνήμη RAM.



Τέλος, για να αξιολογηθεί η επίδοση του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων σε άγνωστα στο σύστημα δεδομένα, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος *External Cross Validation* (ECV) [59]. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, τα πρότυπα σε κάθε κλάση χωρίστηκαν με τυχαίο τρόπο σε δυο μη επικαλυπτόμενα τμήματα, το τμήμα εκπαίδευσης, που αποτελείτο από το 70% των προτύπων των κατηγοριών, και το τμήμα αξιολόγησης που περιελάμβανε το υπόλοιπο 30% των προτύπων. Το τμήμα εκπαίδευσης χρησιμοποιήθηκε για να σχεδιαστεί ο ταξινομητής PNN με μη-βέλτιστη ή βέλτιστη μέθοδο και το τμήμα αξιολόγησης χρησιμοποιήθηκε ως είσοδος στο σχεδιασμένο σύστημα προς ταξινόμηση. Στη συνέχεια, καταγράφηκε η ακρίβεια ταξινόμησης και ολόκληρη η διαδικασία επαναλήφθηκε 10 φορές. Στο τέλος υπολογίστηκε η μέση ακρίβεια ταξινόμησης, και αυτό αποτέλεσε την αξιολόγηση της ακρίβειας του συστήματος σε άγνωστα δεδομένα. Όσον αφορά τις μη-βέλτιστες μεθόδους, η μεθοδολογία ECV εκτελέστηκε στη CPU του H/Y, ενώ στη βέλτιστη μέθοδο η μεθοδολογία ECV εκτελέστηκε στους μικρο-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών (GPU). Για την εφαρμογή της ανωτέρω διαδικασίας, τα δεδομένα χωρίστηκαν πρώτα σε ένα αριθμό συνόλων εκπαίδευσης και αξιολόγησης, και εν συνεχεία εστάλησαν στην κάρτα

γραφικών, όπου όμοιες υπολογιστικές εργασίες ολοκληρώθηκαν εν παραλλήλω, όπως προηγουμένως. Με την ολοκλήρωση κάθε κύκλου, τα αποτελέσματα επιστρέφονταν από την κάρτα στον H/Y.

7.4. Αποτελέσματα

Στον **Πίνακα 7.1** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που επετεύχθησαν με τις δύο μη-βέλτιστες και με τη βέλτιστη μέθοδο σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, χρησιμοποιώντας τον ταξινομητή PNN και την μέθοδο αξιολόγησης LOO. Η πρώτη στήλη του Πίνακα 7.1 δείχνει τις συγκεκριμένες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, η δεύτερη και η τρίτη στήλη δείχνουν τις επιμέρους ακρίβειες ταξινόμησης που επετεύχθησαν κατά την ορθή ταξινόμηση των χαμηλού βαθμού και υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνου του λάρυγγα αντίστοιχα, και η τέταρτη στήλη δείχνει την ολική ακρίβεια του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, ακολουθώντας διαφορετικές μεθόδους σχεδίασης. Τέλος, η πέμπτη στήλη δείχνει τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν στους καλύτερους συνδυασμούς χαρακτηριστικών, όπως εφαρμόστηκαν στις διαφορετικές μεθόδους σχεδίασης του συστήματος.

Πίνακας 7.1: Αποτελέσματα σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης με δύο μη-βέλτιστες και μία βέλτιστη μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών.

	Ακρίβεια (%)		Ολική	Βέλτιστος συνδυασμός χαρακτηριστικών
	Χαμηλού Βαθμού Κακοήθεια	Υψηλού Βαθμού Κακοήθεια		
1 ^η μη-βέλτιστη: rank-features & LOO	66.7 (14/21)	82.3 (28/34)	76.4 (42/55)	Contrast ^r , Inverse Difference Moment ^r , Sum of Entropy ^r , Difference of Entropy ^r , Mean of Spanning Tree, Standard Deviation of Spanning Tree, Maximum of Spanning Tree
2 ^η μη-βέλτιστη: SBFS	71.4 (15/21)	85.3 (29/34)	80 (44/55)	Mean Value, Angular Second Moment ^a , Contrast ^a , Short Run Emphasis ^a , Autocorrelation ^a , Run Length Non Uniformity ^r
Βέλτιστη: exhaustive search & LOO σε GPU	85.7 (18/21)	94.1 (32/34)	90.9 (50/55)	Angular Second Moment ^r , Correlation ^r , Autocorrelation ^r , Sum of Average ^r , Short Run Emphasis ^r , Grey Level Non Uniformity ^r , Minimum of Spanning tree

a: μέση τιμή, r: εύρος τιμών

Όπως μπορεί να παρατηρηθεί από τη στήλη της ολικής ακρίβειας του **Πίνακα 7.1**, οι δύο μη-βέλτιστες μέθοδοι παρουσιάζουν χαμηλότερη ακρίβεια σε σχέση με τη βέλτιστη μέθοδο. Η πρώτη μη-βέλτιστη μέθοδος έφτασε σε περίπου ποσοστό επιτυχίας **76%**, κατηγοριοποιώντας εσφαλμένα **13** από τις 55 περιπτώσεις, η δεύτερη μη-βέλτιστη μέθοδος έφτασε το **80%** επιτυχούς ταξινόμησης, έχοντας ταξινομήσει λανθασμένα **11** περιπτώσεις, ενώ η βέλτιστη μέθοδος, η οποία πραγματοποιήθηκε στους επεξεργαστές της GPU, είχε ποσοστό επιτυχίας **90,9%**, ταξινομώντας εσφαλμένα μόνο **5** περιπτώσεις προτύπων. Εξετάζοντας τις μερικές ακρίβειες στις στήλες 2 και 3, διαπιστώθηκε ότι σχετικά με τις χαμηλού βαθμού περιπτώσεις καρκίνου, το ποσοστό επιτυχίας έφτασε το **66.7%** στην πρώτη μη-βέλτιστη μεθοδολογία, ταξινομώντας σωστά **14** από τις 21 χαμηλού βαθμού περιπτώσεις καρκίνου, **71.4%** στην δεύτερη μη-βέλτιστη μέθοδο, ταξινομώντας εσφαλμένα **6** περιπτώσεις και **85.7%** στην βέλτιστη μέθοδο, ταξινομώντας σωστά **18** από τις 21 χαμηλού βαθμού περιπτώσεις καρκίνου του λάρυγγα. Όσον αφορά στις περιπτώσεις υψηλού βαθμού κακοήθειας που παρουσιάζονται στην 3η στήλη, καταγράφηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα: **82.3%**, **85.3%** και **94.1%** ακρίβειες ταξινόμησης, ταξινομώντας ορθά 28, 29, και 32 από τις 34 περιπτώσεις, αντίστοιχα.

Η μέγιστη ακρίβεια ταξινόμησης που επιτυγχάνεται από τη βέλτιστη μέθοδο μπορεί να εξεταστεί με μεγαλύτερη λεπτομέρεια στον **Πίνακα 7.2**. Αυτή η σχεδίαση επετεύχθη, στους μικρο-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών GPU, με τον ταξινομητή PNN, τη μέθοδο εξαντλητικής αναζήτησης (Exhaustive Search) και την μέθοδο αξιολόγησης LOO.

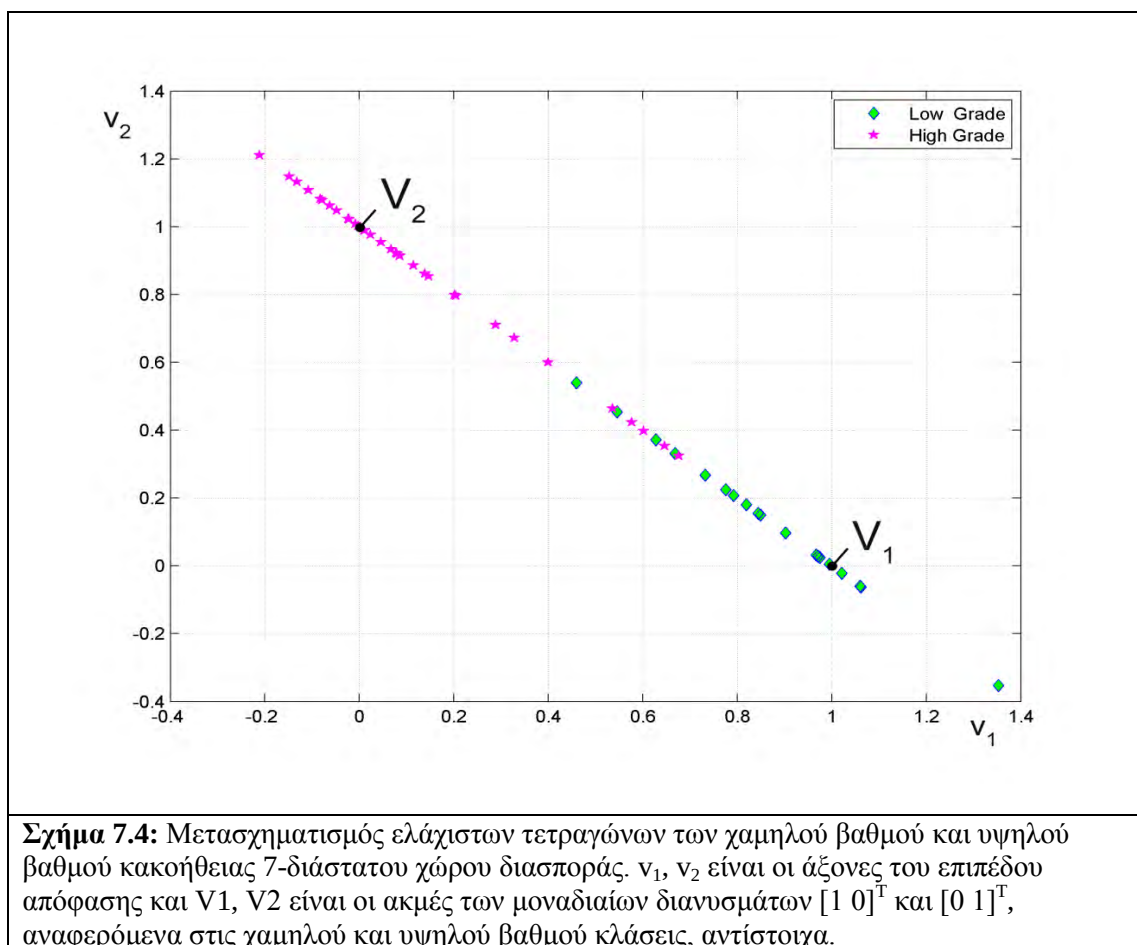
Πίνακας 7.2: Πίνακας αληθείας όπου φαίνεται η ακρίβεια ταξινόμησης των χαμηλού βαθμού (XB) και υψηλού βαθμού (YB) κακοηθειών.

Πίνακας Αληθείας			
	XB	YB	Ακρίβεια (%)
XB	18	3	85.7
YB	2	32	94.1
			90.9

Αυτό το βέλτιστο σύστημα υποστήριξης απόφασης επετεύχθη με ένα συνδυασμό των εξής 7 χαρακτηριστικών: *Angular Second Moment^r*, *Correlation^r*, *Autocorrelation^r*, *Sum of Avarage^r*, *Short Run Emphasis^r*, *Grey Level Non Uniformity^r* και *Minimum of*

the Spanning Tree. Στις ονομασίες των προηγούμενων χαρακτηριστικών, ο εκθέτης (r) εκφράζει το εύρος (range). Τα πρώτα τέσσερα από τα καλύτερα χαρακτηριστικά υφής υπολογίστηκαν από τους πίνακες co-occurrence των τόνων του γκρι, τα επόμενα δύο από τους πίνακες run-length των τόνων του γκρι και το τελευταίο είναι ένα αρχιτεκτονικής φύσης χαρακτηριστικό το οποίο υπολογίστηκε από το δένδρο MST και έχει σχέση με το μικρότερο μήκος μεταξύ των πυρήνων (βλέπε κεφάλαιο 5).

Το **Σχήμα 7.4** δείχνει ένα διάγραμμα διασποράς, όπου ο 7-διάστατος χώρος των χαρακτηριστικών μετασχηματίζεται κατάλληλα, για λόγους απεικόνισης, σε ένα χώρο δύο διαστάσεων (ίσο με το πλήθος των κατηγοριών) με τη διαδικασία μετασχηματισμού ελαχίστων τετραγώνων δευτέρου βαθμού (Quadratic Least Square, QLS) [85]. Στην εικόνα αυτή, τα σημεία σε σχήμα διαμαντιών και αστερίσκων, αντιστοιχούν σε λαρυγγικές αλλοιώσεις χαμηλού και υψηλού βαθμού κακοήθειας αντίστοιχα. Ο μετασχηματισμός QLS είναι ένας κατάλληλος τρόπος για την απεικόνιση των στοιχείων στο χώρο, όταν πάνω από τρία χαρακτηριστικά εμπλέκονται σε ένα πρόβλημα τριών ή λιγότερων κλάσεων.



Όσον αφορά τους χρόνους επεξεργασίας για να επιτευχθεί ένα βέλτιστο σύστημα σχεδίασης υποστήριξης απόφασης χρησιμοποιώντας τεχνικές παράλληλης επεξεργασίας, οι χρονικές μετρήσεις εκτελέστηκαν στους τέσσερις πυρήνες του H/Y καθώς και στους δεκαέξι πολυ-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών. Ο σκοπός ήταν κατά πρώτον να πραγματοποιηθεί εξαντλητική αναζήτηση όλων των πιθανών συνδυασμών μέχρι ανά 7, ανάμεσα σε σύνολο υπαρκτών χαρακτηριστικών και κατά δεύτερον, για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών να σχεδιαστεί το σύστημα υποστήριξης απόφασης και να αξιολογηθεί η απόδοσή του με τη βοήθεια της μεθόδου LOO, καταλήγοντας τελικά στη σχεδίαση που προσφέρει την υψηλότερη ακρίβεια με το μικρότερο αριθμό χαρακτηριστικών. Δεδομένου ότι υπάρχει ένα υπερβολικά μεγάλο πλήθος συνδυασμών χαρακτηριστικών και ότι σε κάθε συνδυασμό το σύστημα έπρεπε να επανασχεδιαστεί 55 φορές (όσος είναι ο συνολικός αριθμός όλων των προτύπων) με τη βοήθεια της μεθόδου αξιολόγησης LOO, χρειάστηκαν πάνω από 24 ώρες για να επιτευχθεί ο καλύτερος σχεδιασμός του συστήματος με χρήση των τεσσάρων πυρήνων της CPU και εφαρμογή μεθόδων παράλληλης επεξεργασίας, με χρήση της πλατφόρμας OpenMP, και 44 λεπτά με χρήση της κάρτας γραφικών και το πρότυπο προγραμματισμού CUDA.

Θα είχαν απαιτηθεί πάνω από 4 ημέρες για να ολοκληρωθεί η επεξεργασία με τη χρησιμοποίηση διαδοχικού προγραμματισμού και όχι παράλληλης επεξεργασίας σε H/Y. Για να αξιολογηθεί η απόδοση του συστήματος σε νέα, άγνωστα στο σύστημα δεδομένα, όπως συμβαίνει όταν εγκαθιδρύονται τέτοια συστήματα σε κλινικό περιβάλλον, ως εργαλεία δεύτερης γνώμης, εφαρμόστηκε η μεθοδολογία **External Cross Validation** χρησιμοποιώντας τις δύο μη-βέλτιστες και την βέλτιστη μέθοδο σχεδιασμού. Ο λόγος που δοκιμάστηκαν και οι μη-βέλτιστες μέθοδοι ήταν για να αναιρεθεί οποιαδήποτε υποψία ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ισοδύναμα μια μη-βέλτιστη μέθοδος και ότι θα μπορούσε να αποφευχθεί ο πολύπλοκος στόχος της παράλληλης επεξεργασίας στους πολυ-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών. Σύμφωνα με τα συμπεράσματά μας, οι μέσες ακρίβειες επί 10 δοκιμών σε κάθε μέθοδο ήταν $(66.9 \pm 5.1)\%$, $(71.2 \pm 7.3)\%$ και $(80 \pm 8.1)\%$, όσον αφορά τη μέθοδο rank-features, τη μέθοδο SBFS και τη μέθοδο εξαντλητικής αναζήτησης (Exhaustive Search) στη GPU αντίστοιχα.

7.5. Συζήτηση

Ο σχεδιασμός του προτεινόμενου συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων και της τεχνολογίας που χρησιμοποιείται, έχουν επηρεαστεί από το πολυδιάστατο του προβλήματος. Οι παράγοντες που συνεισφέρουν σε αυτό είναι: (α) το μεγάλος πλήθος των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιείται, για να εκτιμηθούν οι ιδιότητες των πυρήνων όπως η υφή, η μορφολογία και η τοπολογία τους, (β) το πλήθος των προτύπων των δύο κλάσεων (XB και YB κακοήθεις όγκοι), (γ) η ανάγκη να αξιολογηθεί η ακρίβεια του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης με άγνωστα για το σύστημα δεδομένα, χρησιμοποιώντας την μεθοδολογία External Cross Validation και (δ) η πολυπλοκότητα της λειτουργίας του σχετικού ταξινομητή, που μπορεί να περιλαμβάνει διαδικασίες βελτιστοποίησης για να συγκλίνει. Όπως διαπιστώθηκε, το πολυδιάστατο του προβλήματος εμπόδισε την πραγματοποίηση μιας βέλτιστης σχεδίασης σε ένα H/Y, ακολουθώντας σειριακό προγραμματισμό, και ότι λύσεις, όπως η μεταφορά της σχεδίασης του συστήματος στους πολυ-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών, θα μπορούσε να παρέχει μία εφικτή λύση. Εντούτοις, πριν την προσφυγή σε τέτοια απαιτητικά βήματα, μη-βέλτιστες μέθοδοι σχεδιασμού έπρεπε πρώτα να ελεγχθούν, ώστε να διαπιστωθεί η αναγκαιότητα μίας τέτοιας μεταφοράς. Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 7.1**, η καλύτερη μη-βέλτιστη μέθοδος σχεδιασμού του συστήματος ήταν κατά 10 ποσοστιαίες μονάδες περίπου χαμηλότερη από την βέλτιστη μέθοδο. Η μέθοδος SBFS είχε ακρίβεια στην ταξινόμηση 80% ενώ η βέλτιστη μέθοδος έφτασε περίπου στο 90%. Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι οι μη-βέλτιστες μέθοδοι έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματά τους χρησιμοποιώντας διαφορετικά χαρακτηριστικά.

Αυτό το εύρημα επιβεβαιώνει την αναγκαιότητα μετάβασης σε άλλες πλατφόρμες προγραμματισμού, οι οποίες επέτρεψαν την παράλληλη εκτέλεση τμημάτων του προγράμματος και κατά συνέπεια τη σημαντική μείωση του χρόνου επεξεργασίας. Οι πλατφόρμες αυτές ήταν η openMP, για τον προγραμματισμό των τεσσάρων πυρήνων του H/Y, και τα εργαλεία προγραμματισμού σε CUDA, για τον προγραμματισμό των πολυ-επεξεργαστών της κάρτας γραφικών (GPU). Οι διαδικασίες παράλληλου προγραμματισμού σε CPU και GPU, εξετάστηκαν ξεχωριστά για την εκτέλεση της ίδιας υπολογιστικής διεργασίας, π.χ. τη σχεδίαση του PNN με χρήση ενός συνδυασμού χαρακτηριστικών και μετά τον έλεγχο της ακρίβειας του συστήματος με τη μέθοδο LOO. Εύλογοι χρόνοι επεξεργασίας μπόρεσαν να επιτευχθούν μόνο στους

επεξεργαστές της κάρτας γραφικών και έτσι η κάρτα υιοθετήθηκε για τη σχεδίαση του αυτόνομου συστήματος υποστήριξης απόφασης που να μπορεί, επίσης, να επανασχεδιάζεται και επιτόπου, σε κλινικό περιβάλλον, όταν νέα και επιβεβαιωμένα περιστατικά καρκίνου του λάρυγγα πρόκειται να εμπλουτίσουν τα δεδομένα σχεδιασμού του συστήματος.

Επιπλέον, προκειμένου να διαλυθεί οποιαδήποτε αμφιβολία για την ανωτερότητα της ακρίβειας της βέλτιστης μεθόδου, τόσο οι μη-βέλτιστες όσο και η βέλτιστη μέθοδος σχεδιασμού συμπεριελήφθησαν στη δοκιμασία της μεθόδου ECV (External Cross Validation), που υπολογίζει την ακρίβεια σχεδίασης σε άγνωστα στο σύστημα δεδομένα. Παρόμοια αποτελέσματα αλλά χαμηλότερης ακρίβειας προέκυψαν, όπως αναμενόταν [59]. Η μέση ακρίβεια της μεθόδου SBFS ήταν περίπου 70% σε σχέση με τη μέση ακρίβεια 80% της βέλτιστης μεθόδου. Έτσι, προέκυψε το συμπέρασμα ότι για τον καλύτερο σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων έπρεπε να υιοθετηθεί η βέλτιστη μέθοδος σχεδιασμού σε συνδυασμό με την κάρτα γραφικών και τον παράλληλο προγραμματισμό. Τέτοια κριτήρια έχουν χρησιμοποιηθεί ξανά στο παρελθόν στην αντιμετώπιση προβλημάτων απαιτητικών σε χρόνο επεξεργασίας, όπως σε προβλήματα επεξεργασίας εικόνας με χρήση Support Vector Machines [86], Νευρωνικών Δικτύων [87], ταξινομητών k-Nearest Neighbour [88], μεθόδων ταύτισης (registration) εικόνων [77, 78] ή αλγορίθμων τομογραφικής ανακατασκευής [75].

Υιοθετώντας τις τεχνολογίες GPU και CUDA οι απαιτούμενοι χρόνοι σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης μειώθηκαν σημαντικά, έτσι ώστε να γίνουν εφικτές διάφορες δοκιμαστικές διαδικασίες με σκοπό την καλύτερη ρύθμιση των παραμέτρων του συστήματος για βελτίωση της ακρίβειας ταξινόμησης. Καταρχάς εξετάστηκαν διάφοροι ταξινομητές (βλέπε κεφάλαιο 5), όπως ο Bayesian [50], ο KNN [51], ο LDA [54], ο PNN [52] και ο SVM [55], για την καταλληλότητά τους να ικανοποιήσουν ορισμένα κριτήρια σχεδιασμού. Τέτοια κριτήρια ήταν η ταχύτητα εκτέλεσης του ταξινομητή, η σταθερότητά του στην ολοκλήρωση της διαδικασίας ταξινόμησης, με την έννοια της ολοκλήρωσης της εκπαίδευσης για διαφορετικούς τύπους κατανομών δεδομένων, η πολυπλοκότητά του, από την άποψη της χρήσης περίπλοκων διαδικασιών σύγκλισης, και τέλος η ακρίβειά του στη διάκριση μεταξύ των δυο κατηγοριών. Ο ταξινομητής PNN απεδείχθη πιο αποδοτικός και υιοθετήθηκε για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης. Κατά δεύτερον, η τεχνολογία GPU και

CUDA συνέβαλαν στην καλύτερη ρύθμιση των παραμέτρων του ταξινομητή PNN, όπως της παραμέτρου σ στην εξίσωση 5.12β, η οποία ετέθη μεταξύ των τιμών 0.1 και 0.9, υιοθετώντας τελικά την τιμή $\sigma=0.2$, μετά από πειραματισμό για μεγαλύτερη ακρίβεια ταξινόμησης.

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 7.1**, τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν στον καλύτερο σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων ήταν το *Angular Second Moment* (range), που χαρακτηρίζει την ανισοτροπία στην ομοιογένεια της εικόνας, το *Correlation* (range), που εκφράζει την ανισοτροπία στις γραμμικές εξαρτήσεις των εντάσεων των pixels, το *Autocorrelation* (range), που εκφράζει την ανισοτροπία στο βαθμό συσχέτισης στις εντάσεις των pixels με την απόσταση μεταξύ των pixels, το *Sum of Average Range*, που εκτιμά την ανισοτροπία στην ανομοιογένεια των τόνων του γκρι, το *Short Run Emphasis* (range), που εκφράζει την ανισοτροπία στις μικρές δομές, το *Gray Level Uniformity* (range), που είναι η ανισοτροπία στις μεταβολές των τόνων του γκρι και το *Minimum Spanning Tree distance*, που δίνει μια εκτίμηση κυτταροβρίθειας (συγκέντρωση πυρήνων). Μια οπτική απεικόνιση της ομαδοποίησης των δύο κλάσεων φαίνεται στο **Σχήμα 7.4**. Όπως μπορεί να παρατηρηθεί, ο συνδυασμός των 7 χαρακτηριστικών, που δίνει την μεγαλύτερη ακρίβεια ταξινόμησης, έχει επιτύχει ένα καλό διαχωρισμό μεταξύ των κλάσεων.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία που χρησιμοποιήθηκε είναι αναγκαία μόνο κατά τη σχεδίαση του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης. Μόλις το σύστημα εγκατασταθεί για επιτόπια εφαρμογή σε κλινικό περιβάλλον ως εργαλείο δεύτερης γνώμης, η λειτουργία του είναι γρήγορη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στην CPU του οικείου υπολογιστή. Εντούτοις, όσο νέες περιπτώσεις καρκίνου του λάρυγγα επιβεβαιώνονται ιστολογικά, μπορούν να προστεθούν στο ήδη σχεδιασμένο σύστημα για την βελτίωση της αξιοπιστίας του. Για να επιτευχθεί όμως αυτό, το σύστημα υποστήριξης απόφασης πρέπει να επανασχεδιαστεί χρησιμοποιώντας τα νέα δεδομένα. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί επιτόπου, χρησιμοποιώντας τις προτεινόμενες τεχνολογίες της κάρτας γραφικών.

7.6. Συμπεράσματα 2ης πειραματικής μελέτης

Προτάθηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης, στηριζόμενο σε μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, για το διαχωρισμό με εύλογη ακρίβεια των χαμηλού βαθμού-υψηλού βαθμού κακοήθειες του καρκίνου του λάρυγγα, χρησιμοποιώντας ιστοπαθολογικές εικόνες με βαφή p63 για την έκφραση του αντισώματος p63. Ο σχεδιασμός του συστήματος έγινε εφικτός χρησιμοποιώντας τεχνικές παράλληλης επεξεργασίας σε επεξεργαστές κάρτας γραφικών. Το προτεινόμενο σύστημα αναπτύχθηκε μόνο για ερευνητικούς σκοπούς, εντούτοις μπορεί να λειτουργήσει σε κλινικό περιβάλλον, ως δεύτερο εργαλείο υποβοήθησης της απόφασης του ιατρού, και με την δυνατότητα να μπορεί να επανασχεδιαστεί επιτόπου όταν προστεθούν νέα επιβεβαιωμένα δεδομένα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 – Σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για πρόγνωση της πενταετούς επιβίωσης ασθενούς με καρκίνο του λάρυγγα

8.1. Περίληψη

Στο κεφάλαιο αυτό μελετάται ο σχεδιασμός ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για την πρόβλεψη της πενταετούς επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα από εικόνες υλικού βιοψίας, με ανοσοϊστοχημική βαφή για την έκφραση του αντισώματος p63. Ο σχεδιασμός του συστήματος έγινε εφικτός χρησιμοποιώντας τεχνικές παράλληλης επεξεργασίας σε επεξεργαστές κάρτας γραφικών. Το προτεινόμενο σύστημα σχεδιάστηκε ως υποβοηθητικό εργαλείο εκτίμησης πενταετούς επιβίωσης για χρήση από εξειδικευμένο ιατρό, που σχεδιάζει την θεραπεία ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα, ώστε να βελτιωθεί η επιβίωση των ασθενών.

8.2. Εισαγωγή – γενικές παρατηρήσεις

Ο καρκίνος του λάρυγγα είναι ο πιο συχνός από τους καρκίνους του εγκεφάλου και του λαιμού και έχει κακή πρόγνωση, η οποία εξαρτάται από το στάδιο και το βαθμό κακοήθειας κατά τη πρώτη διάγνωση, τη θέση του όγκου στον λάρυγγα, και από τον τρόπο ζωής του ασθενούς μετά την πρώτη διάγνωση. Το 62% των ασθενών με διαγνωσμένο καρκίνο του λάρυγγα επιβιώνει της πενταετίας [1]. Η πενταετής επιβίωση είναι ένα κατώφλι που έχει στατιστικά ευρεθεί στο ότι αν ο όγκος μετά την θεραπεία (αφαίρεση - ακτινοθεραπεία) δεν επανεμφανιστεί εντός 5 ετών τότε υπάρχει λίγη πιθανότητα να επανεμφανιστεί, εφόσον ο ασθενής ακολουθεί υγιεινό τρόπο ζωής. Είναι σημαντικό για την επιβίωση του ασθενούς η έγκαιρη και σωστή διάγνωση καθώς και η κατάλληλη θεραπεία. Όμως, παρά την λήψη μέτρων και την ενημέρωση του πληθυσμού, η επιβίωση των ασθενών δεν έχει μειωθεί κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Έτσι, η έρευνα έχει μετατοπιστεί στην εύρεση νέων προγνωστικών δεικτών που να σχετίζονται με την εμφάνιση και την εξέλιξη (ή πρόγνωση) της πορείας της ασθένειας. Ένας τέτοιος προγνωστικός δείκτης είναι η

παραγωγή της πρωτεΐνης p63 από το TP63 γονίδιο. Έχει βρεθεί ότι η υπερ-έκφραση της p63 σχετίζεται με τα νεοπλάσματα του επιθηλίου του λάρυγγα [5, 6, 8].

Προηγούμενες μελέτες έχουν προσπαθήσει να εκτιμήσουν την επιβίωση των ασθενών με υπολογιστικές μεθόδους ανάλυσης εικόνας μικροσκοπίου από δείγματα βιοψίας με H&E χρώση. Μελετήθηκαν παράμετροι από τους πυρήνες, όπως είναι η *fractal dimension* [9], που σχετίζεται με την ετερογένεια της υφής των πυρήνων, ή όπως είναι παράμετροι από την μορφολογία των πυρήνων.

Η συνεισφορά της παρούσας μελέτης στη διεθνή βιβλιογραφία είναι: α) ο εντοπισμός χαρακτηριστικών πυρήνων, που οι τιμές τους έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα που επιβίωσαν λιγότερο ή περισσότερο της πενταετίας, ώστε να συσχετιστεί η εξέλιξη της νόσου με την σύσταση των πυρήνων κατά την πρώτη διάγνωση και β) ο σχεδιασμός ενός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, με είσοδο ψηφιοποιημένες ιστοπαθολογικές εικόνες με p63 χρώση, που να εκτιμά με υψηλή ακρίβεια, από τις παραμέτρους των p63 εκφρασμένων πυρήνων, την επιβίωση του ασθενούς με καρκίνο του λάρυγγα πέραν της πενταετίας.

8.3. Υλικό και μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν

Η συλλογή και χρώση του κλινικού υλικού καθώς και οι μέθοδοι λήψης, ψηφιοποίησης και επεξεργασίας των επιλεγμένων εικόνων μικροσκοπίας καθώς και η δημιουργία των χαρακτηριστικών υφής, μορφολογίας, σχήματος και τοπολογίας (διασποράς) των πυρήνων περιγράφονται αναλυτικά στα προηγούμενα κεφάλαια 3-6. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, 16 ασθενείς που απεβίωσαν πριν την πενταετία και 26 ασθενείς που επιβίωσαν της πενταετίας από την πρώτη διάγνωση του καρκίνου, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 8.1**.

Πίνακας 8.1: Θέση, στάδιο και βαθμός κακοήθειας όγκων λάρυγγα σε επιζήσαντες και αποβιώσαντες 5 έτη μετά την πρώτη διάγνωση.

		5-year επιβίωση 26	5-year μη- επιβίωση 16	Αθροίσματα 42
Περιοχή λάρυγγα	Γλωττίδα	20	9	29
	Άνω γλωττίδα	4	6	10
	Άλλα μέρη	2	1	3
Στάδιο	T2	6	2	8
	T3	15	7	22
	T4	4	7	11
	N0	21	13	34
	N1	2		2
	N2	2	3	5
	N/A	1		1
	II	5	2	7
	III	14	6	20
	IV	7	8	15
Βαθμός κακοήθειας	Grade I	12	4	16
	Grade II	9	6	15
	Grade III	5	6	11

Πέραν των χαρακτηριστικών που περιγράφονται στο κεφάλαιο 4, έξι επιπλέον χαρακτηριστικά καταγράφηκαν, που αφορούσαν σε δημογραφικά στοιχεία και συνήθειες του ασθενή, όπως ηλικία, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ, επικινδυνότητα εργασίας, και στάδιο και βαθμό κακοήθειας του όγκου. Το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ ιεραρχήθηκαν σε μία κλίμακα 0-4, όπου τέσσερα αντιστοιχούσε σε μεγάλη χρονική διάρκεια. Η επικινδυνότητα της εργασίας ιεραρχήθηκε σε κλίμακα 0-2, όπου το 2 αντιστοιχούσε σε εργασία για μεγάλο χρονικό διάστημα με έκθεση σε ανθυγιεινούς παράγοντες για καρκίνο του λάρυγγα όπως άσβεστος, οργανικούς διαλύτες, ασφαλτο, μεταλλική σκόνη, σκόνη ρινίσματος, κ.ά. Η ηλικία καταγράφηκε ως συνεχής μεταβλητή, ο βαθμός κακοήθειας ιεραρχήθηκε σε τρία επίπεδα (I, II, III)

και το στάδιο του όγκου σε τέσσερα (I-IV). Όλα τα χαρακτηριστικά αυτά, πλην της ηλικίας, κανονικοποιήθηκαν στο διάστημα [0 1] με την [89]:

$$f = \frac{r - 1}{R - 1} \quad (8.1)$$

όπου $r=1$ έως R είναι η τιμή της ιεραρχημένης κλίμακας του χαρακτηριστικού.

Η στατιστική ανάλυση περιελάμβανε τον εντοπισμό των χαρακτηριστικών των πυρήνων που οι τιμές τους είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών πενταετούς επιβίωσης ή μη-επιβίωσης, κάνοντας χρήση της στατιστικής δοκιμασίας *Wilcoxon* [90]. Αυτό είναι ένα σημαντικό στάδιο για την εύρεση ιδιοτήτων του πυρήνα όπως της υφής, του περιγράμματος, της μορφολογίας και διασποράς που διαφοροποιούν τις δύο κατηγορίες ασθενών. Επιπλέον η συσχέτιση των τιμών κάθε χαρακτηριστικού στην πενταετή επιβίωση - αποβίωση του ασθενή βρέθηκε με την *Point Biserial Correlation*, που είναι κατάλληλη για ανάλυση προβλημάτων όπου μία παράμετρος έχει διακριτές τιμές για δύο κατηγορίες (π.χ. επιβίωσαντες - αποβίωσαντες πενταετίας) [90].

8.4. Σχεδιασμός συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων

Ο σχεδιασμός του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για διάκριση μεταξύ ασθενών πενταετούς αποβίωσης - επιβίωσης πραγματοποιήθηκε ως ακολούθως.

Πρώτα, έπρεπε να επιλεγεί ένας αποτελεσματικός ταξινομητής που, για τα συγκεκριμένα δεδομένα, θα ήταν γρήγορος στην εκτέλεση και υψηλής διαχωριστικής ικανότητας. Μετά από πειραματισμό, ο PNN με Gaussian πυρήνα επιλέχτηκε ως ο πιο κατάλληλος, επειδή είχε όμοια ακρίβεια ταξινόμησης όπως πιο απαιτητικοί και περίπλοκοι ταξινομητές (π.χ. ο αλγόριθμος SVM). Ο PNN περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 5.

Σχετικά με την επιλογή του βέλτιστου αριθμού και είδους χαρακτηριστικών για τον σχεδιασμό ενός συστήματος υψηλής ακρίβειας, ο μέγιστος επιτρεπτός συνδυασμός χαρακτηριστικών ανά συνδυασμό ήταν πέντε (5), που καθορίστηκε από

το 1/3 των 16 περιστατικών της μικρότερης κατηγορίας (αποβιώσαντες πενταετίας). Παρόλα αυτά, χρησιμοποιώντας την εξαντλητική μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών, ο αριθμός όλων των δυνατών συνδυασμών μέχρι ανά πέντε, εντός των 77 χαρακτηριστικών της μελέτης και των 42 περιστατικών, είναι αποτρεπτικά μεγάλος για εφαρμογή σε έναν H/Y με σειριακό προγραμματισμό. Επομένως, ο σχεδιασμός του συστήματος υλοποιήθηκε στους επεξεργαστές της κάρτας γραφικών χρησιμοποιώντας παράλληλο προγραμματισμό. Η κάρτα γραφικών (GPU) ήταν της Nvidia ή Tesla K20c, με 13 πολύ επεξεργαστές και με 192 πυρήνες έκαστος, προγραμματιζόμενοι παράλληλα. Η κάρτα ήταν τοποθετημένη εντός ενός H/Y που έφερε επεξεργαστή Intel QUAD Core CPU με συχνότητα 2.83 GHz και 4 GB μνήμη RAM. Η παράλληλη επεξεργασία περιελάμβανε: α) καταμερισμό του προβλήματος σε πολλές όμοιες μικρές διαδικασίες, όπως είναι ο σχεδιασμός του PNN με ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών και αξιολόγηση της ακρίβειάς του με την LOO μέθοδο, β) την ανάρτηση κάθε διαδικασίας σε ένα GPU-νήμα, που είναι εκτελέσιμο παράλληλα με άλλες όμοιες διαδικασίες σε άλλα GPU-νήματα και γ) την μεταφορά των αποτελεσμάτων στον H/Y, όπου επιλέγεται ο καλύτερα σχεδιασμένος ταξινομητής.

Η επίδοση του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων επιβεβαιώθηκε επίσης με την AUC της καμπύλης ROC [34], κάνοντας χρήση του ταξινομητή PNN, της LOO μεθόδου αξιολόγησης, και των ίδιων χαρακτηριστικών του βέλτιστου σχεδιασμού. Η AUC μεταβάλλεται στο διάστημα [0.5 - 1] και όταν είναι μεγαλύτερη του 0.9 ο διαχωρισμός των δύο κατανομών και κατά συνέπεια της ακρίβειας ταξινόμησης θεωρείται «άριστος». Η AUC δείχνει το πόσο καλά ο ταξινομητής PNN, σχεδιασμένος από έναν συγκεκριμένο συνδυασμό χαρακτηριστικών, μπορεί να διαχωρίσει μεταξύ των δύο κατηγοριών, των επιβιωσάντων – αποβιωσάντων την πενταετία, από πρώτη διάγνωση.

8.5. Αποτελέσματα

Τα χαρακτηριστικά που προέκυψαν από τους πυρήνες (υφή-περίγραμμα-μορφολογία-διασπορά-δημογραφικά) υπέστησαν επεξεργασία με τη δοκιμασία Wilcoxon ώστε να εντοπιστούν εκείνα τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν στατιστικά τις 2

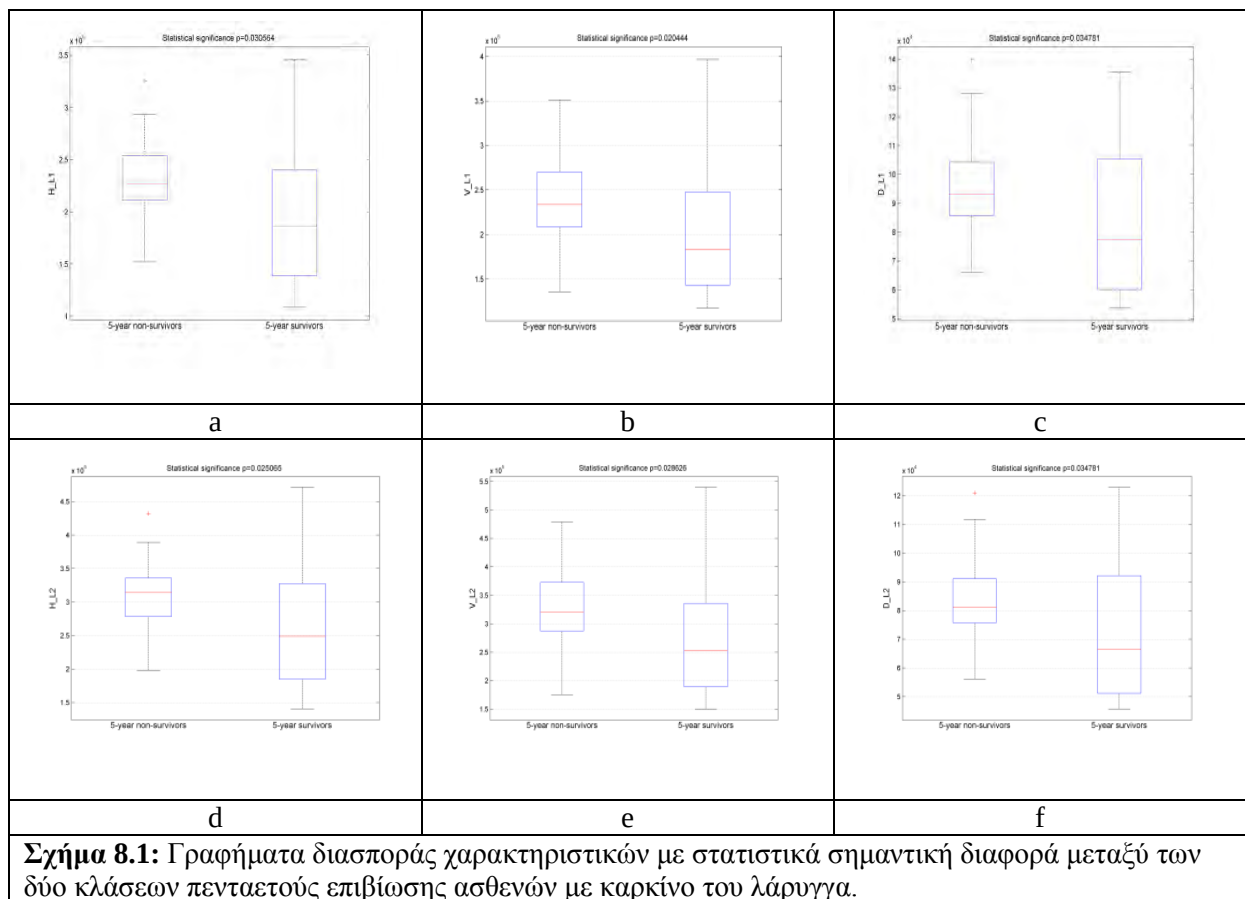
κατηγορίες, τους αποβιώσαντες από τους επιβιώσαντες την πενταετία, από την πρώτη διάγνωση του καρκίνου του λάρυγγα. Βρέθηκαν έξι τέτοια χαρακτηριστικά, όλα προερχόμενα από την ίδια οικογένεια αυτών του διάκριτου μετασχηματισμού κυματιδίων (dwt). Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 8.2**, στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p < 0.05$ μεταξύ των δύο κατηγοριών βρέθηκαν για χαρακτηριστικά που υπολογίστηκαν στο πρώτο επίπεδο dwt-ανάλυσης (H_L1, V_L1, D_L1) και στο δεύτερο επίπεδο dwt-ανάλυσης (H_L2, V_L2, D_L2) της εικόνας του πυρήνα: H, V, D αντιπροσωπεύουν τον δισδιάστατο πίνακα συντελεστών κατά την οριζόντια, κάθετο και διαγώνια κατεύθυνση αντίστοιχα και L1 και L2 αντιστοιχούν στο πρώτο και δεύτερο επίπεδο της dwt-ανάλυσης. Οι τιμές αυτών των χαρακτηριστικών βρέθηκαν να μειώνονται με την αύξηση της επιβίωσης των ασθενών και αυτή η φθίνουσα (αρνητικό πρόσημο) τάση ήταν στατιστικά έγκυρη σε επίπεδο $p < 0.05$, όπως φαίνεται στην τρίτη στήλη του πίνακα. Οι τελευταίες δύο στήλες του πίνακα δείχνουν τις μέσες τιμές, τις τυπικές αποκλίσεις και τις μεσαίες τιμές των έξι dwt-χαρακτηριστικών.

Πίνακας 8.2 Η μέση τιμή, η μεσαία τιμή και η τυπική απόκλιση των χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιβιωσάντων και αποβιωσάντων της πενταετίας ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα.

χαρακτηριστικό	Στατιστική σημαντικότητα ($p < 0.05$)	Συσχέτιση r / σε p επίπεδο αξιοπιστίας ($p < 0.05$)	(αποβιώσαντες) Mean $\pm$ std/ median	(επιβιώσαντες) Mean $\pm$ std/ median
H_L1	0.030564	-0.340 / 0.028	234174 $\pm$ 40494 / 227166	198714 $\pm$ 64838/ 186551
V_L1	0.020444	-0.364 / 0.018	244623 $\pm$ 56699/ 233429	201920 $\pm$ 71032/ 183427
D_L1	0.034781	-0.332 / 0.032	97010 $\pm$ 18404/ 93262	83387 $\pm$ 25315/ 77453
H_L2	0.025065	-0.352 / 0.022	314493 $\pm$ 55359/ 313915	265306 $\pm$ 89339/ 248935
V_L2	0.028626	-0.344 / 0.026	335065 $\pm$ 83859/ 320681	275758 $\pm$ 101236/ 252668
D_L2	0.034781	-0.332 / 0.032	85037 $\pm$ 16426 / 81059	72561 $\pm$ 22858/ 66331

όπου H, V, D είναι οι κατά οριζόντια-κάθετη-διαγώνια κατεύθυνση dwt-συντελεστές των επιπέδων ανάλυσης L1 και L2 του δισδιάστατου διάκριτου μετασχηματισμού κυματιδίων (2-dimensional discrete wavelet transform).

Τα **Σχήματα 8.1** (a-f) δείχνουν τις διασπορές των dwt-χαρακτηριστικών εν είδη boxplots και τις μεσαίες τιμές (οριζόντια ευθεία εντός του παραλληλόγραμμου διασποράς), όπου οι διαφορές στις τιμές των dwt-χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο κατηγοριών είναι εμφανής.



Εντούτοις, όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό, υπάρχει αρκετή επικάλυψη στις διασπορές των τιμών των χαρακτηριστικών που γίνεται επίσης αντιληπτό και από τις μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις των χαρακτηριστικών στον **Πίνακα 8.2**. Αυτό το γεγονός περιορίζει την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ένα τέτοιο χαρακτηριστικό ως δείκτης εκτίμησης της πιθανότητας ενός νέου περιστατικού να ανήκει σε κάποια από τις δύο κατηγορίες. Για να γίνει αυτό κατορθωτό, πρέπει να συνδυαστεί πληροφορία από διάφορα χαρακτηριστικά, όχι απαραίτητα από αυτά τα έξι με στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις κατηγορίες, ώστε σε ένα πολύ-επίπεδο χώρο οι κατηγορίες να απομακρυνθούν η μία από την άλλη. Ένας τέτοιος συνδυασμός χαρακτηριστικών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στον σχεδιασμό ενός πολυδιάστατου δείκτη ή μίας συνάρτησης διαχωρισμού που θα εκτιμούσε με ικανοποιητική ακρίβεια την πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης ενός νέου περιστατικού καρκίνου του λάρυγγα. Ένας τέτοιος σχεδιασμός πραγματοποιήθηκε με τον ταξινομητή PNN, την εξαντλητική μέθοδο αναζήτησης χαρακτηριστικών, την LOO μέθοδο αξιολόγησης της ακρίβειας ταξινομητή, στους επεξεργαστές της κάρτας γραφικών με παράλληλο προγραμματισμό. Ο καλύτερος σχεδιασμός του συστήματος

επετεύχθη από ένα συνδυασμό πέντε χαρακτηριστικών: Sum Average (μέση τιμή), Difference Entropy (εύρος τιμών), Roughness Index, V_L1, και βαθμός κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα. Στον **Πίνακα 8.3** φαίνονται τα αποτελέσματα της ταξινόμησης των όγκων στις δυο κατηγορίες.

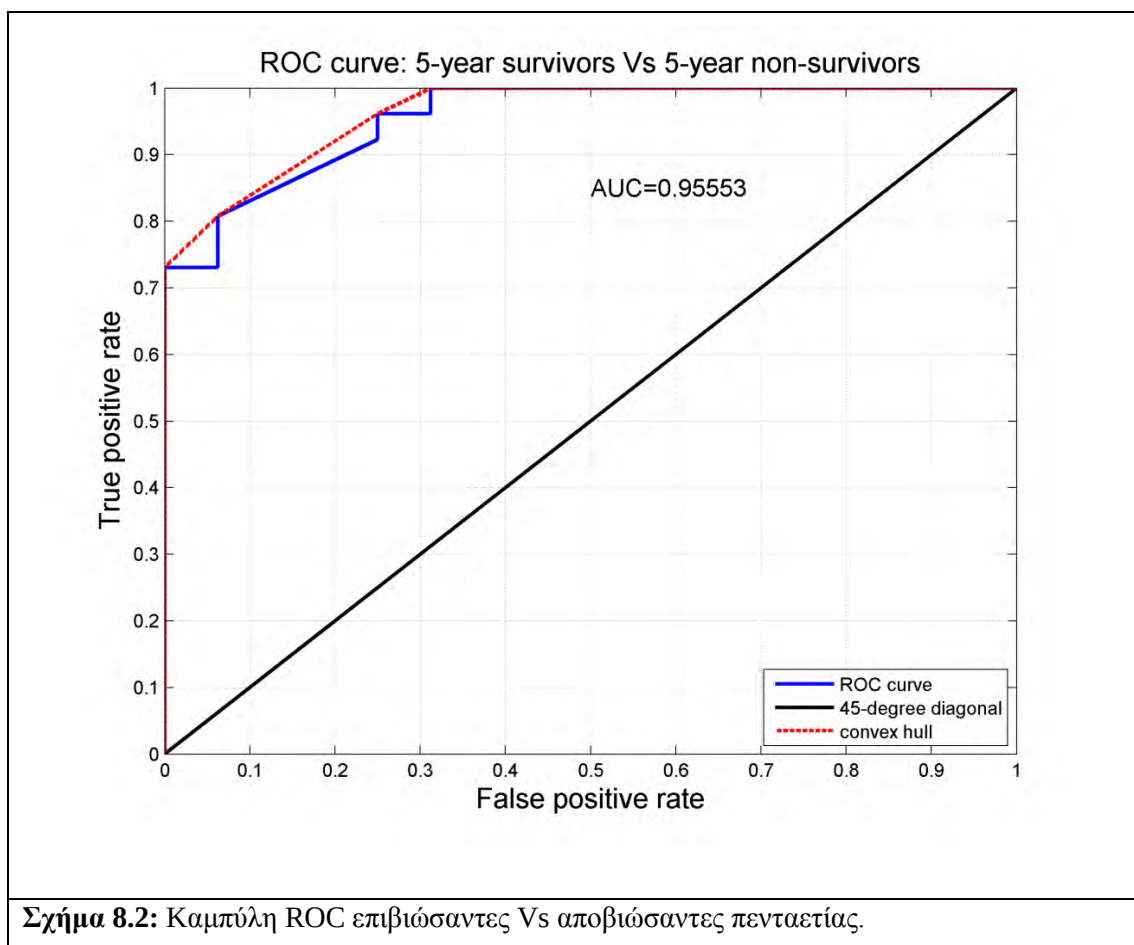
Πίνακας 8.3: Πίνακας ταξινόμησης Επιβιωσάντων έναντι Αποβιωσάντων πενταετίας.

Πίνακας Αληθείας			
	Επιβιώσαντες πενταετίας	Αποβιώσαντες πενταετίας	Accuracy (%)
Επιβιώσαντες πενταετίας	24	2	92.3
Αποβιώσαντες πενταετίας	2	14	87.5
			90.5

Χαρακτηριστικά: Sum Average (average), Difference Entropy (range), D_L1, Roughness Index, Tumor's Grade.

Δύο επιβιώσαντες ταξινομήθηκαν λανθασμένα στην κατηγορία των αποβιωσάντων (92.3% ειδικότητα) και δύο αποβιώσαντες κατηγοριοποιήθηκαν λανθασμένα στην κατηγορία των επιβιωσάντων (87.5% ευαισθησία), προσφέροντας έτσι συνολική ακρίβεια **90.5%**. Το στατιστικό κριτήριο Cohen-Kappa έδωσε τιμή 0.8, που είναι μία πολύ καλή ένδειξη ότι το αποτέλεσμα του συστήματος δεν επετεύχθη τυχαία.

Η διαχωριστικότητα των κατηγοριών εξετάστηκε επίσης με την ROC, χρησιμοποιώντας αυτόν ακριβώς το σχεδιασμό του PNN με τα πέντε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και την μέθοδο αξιολόγησης LOO. Στο **Σχήμα 8.2** απεικονίζεται η καμπύλη ROC και η AUC=0.96 δείχνει την άριστη διαχωριστικότητα των δύο κατηγοριών.



8.6. Συζήτηση

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξεταστούν δείγματα βιοψίας ασθενών που είχαν διαγνωστεί με καρκίνο του λάρυγγα, να αναλυθούν παράμετροι των πυρήνων του όγκου σε ψηφιακές εικόνες μικροσκοπίου όπως και δημογραφικά και άλλα στοιχεία του ασθενούς, ώστε να εντοπιστούν διαφορές μεταξύ επιβιωσάντων και αποβιωσάντων της πενταετίας, και τέλος να σχεδιαστεί ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων που να εκτιμά την πενταετή επιβίωση του ασθενούς μετά την πρώτη διάγνωση του καρκίνου. H&E και P63 χρώσεις χρησιμοποιήθηκαν σε δείγματα βιοψίας, το πρώτο για χρήση στην διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του όγκου και το δεύτερο για την εκτίμηση της σχέσης των p63 εκφρασμένων πυρήνων με τον τύπο του όγκου και της πενταετούς επιβίωσης του ασθενούς. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες, σε αυτούς που επιβίωσαν πέραν της πενταετίας και σε αυτούς που απεβίωσαν.

Καταρχάς, από τις ψηφιακές εικόνες δειγμάτων βιοψίας με p63 χρώση, αναζητήθηκαν συσχετίσεις μεταξύ ιδιοτήτων των πυρήνων, όπως της υφής, του σχήματος, της μορφολογίας, της συγκέντρωσης των πυρήνων και προσωπικών στοιχείων του ασθενή, με την πενταετή επιβίωση του ασθενή και δεύτερον σχεδιάστηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης, βασισμένο σε μεθόδους αναγνώρισης προτύπων και σε χαρακτηριστικά p63 εκφρασμένων πυρήνων, για την εκτίμηση της πενταετούς επιβίωσης του ασθενή. Οι διαδικασίες επεξεργασίας και στατιστικής ανάλυσης εικόνας πραγματοποιήθηκαν σε έναν H/Y και οι διαδικασίες σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων πραγματοποιήθηκαν στους μικροεπεξεργαστές μίας κάρτας γραφικών χρησιμοποιώντας μεθόδους παράλληλης επεξεργασίας.

Η εκτίμηση της επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα, κάνοντας χρήση μεθόδων ανάλυσης ιστοπαθολογικής εικόνας μικροσκοπίου, έχει διερευνηθεί σε προηγούμενες μελέτες [9, 10]. Οι συγγραφείς μελέτησαν χαρακτηριστικά της υφής, μορφολογίας και σχήματος πυρήνων με χρώση H&E και βρήκαν ότι το χαρακτηριστικό fractal dimension [9] και τα χαρακτηριστικά εμβαδόν, περίμετρος, πυκνότητα, καμπυλότητα και συγκέντρωση [10] ήταν σημαντικά χαρακτηριστικά και προχώρησαν στο να καθορίσουν κατώφλια τιμών των χαρακτηριστικών, σχετιζόμενες με την επιβίωση των ασθενών. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν εικόνες από υλικό βιοψίας καρκίνου του λάρυγγα με ανοσοϊστοχημική χρώση για p63 έκφραση, επειδή η p63 βάφει κυρίως τους πυρήνες του κυττάρου και έτσι καθιστά τους πυρήνες και την παρυφή τους περισσότερο διακριτές αλλά και επειδή η p63 έκφραση έχει συσχετισθεί με την επιβίωση του ασθενή. Η στατιστική ανάλυση των χαρακτηριστικών έδειξε ότι από τα χαρακτηριστικά που αναλύθηκαν, μόνο οι τιμές του δισδιάστατου διάκριτου μετασχηματισμού κυματιδίων (dwt) είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο χαρακτηριστικό fractal dimension όπως στους [9] ή στα μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως στους [10], αν και η χρώση (H&E) ήταν διαφορετική από αυτήν που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη (p63) για την ανάλυση της εικόνας. Εντούτοις, η χρησιμότητα της υφής και σχήματος των πυρήνων όπως και στοιχείων του ασθενή, αποδείχθηκαν στην παρούσα εργασία χρήσιμα χαρακτηριστικά στον βέλτιστο σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων.

Από τα boxplots του σχήματος 8.1 και τα στοιχεία του πίνακα 8.2 παρατηρείται ότι οι τιμές και των έξι dwt-χαρακτηριστικών μειώνονταν με αυξανόμενη επιβίωση. Οι επιβιώσαντες την πενταετία είχαν χαμηλότερες τιμές στα dwt-χαρακτηριστικά. Αυτή η ελάττωση γίνεται αντιληπτή και από την συσχέτιση των τιμών των χαρακτηριστικών με την αύξηση της επιβίωσης. Η ισχύς της αρνητικής αυτής συσχέτισης επιβεβαιώθηκε σε στατιστικό επίπεδο $p < 0.05$. Σχετικά με την ιδιότητα υφής που αυτά τα χαρακτηριστικά εκφράζουν, αυτή σχετίζεται με την ενέργεια (το άθροισμα των τετραγώνων των τιμών των pixels) των εικόνων (dwt-συντελεστών), που προκύπτουν κατά τα δύο επίπεδα ανάλυσης και στις 3 κατευθύνσεις (οριζόντια, διαγώνια, κάθετη). Στο πρώτο επίπεδο ανάλυσης (βλέπε κεφάλαιο 4), σε κάθε εικόνα περιλαμβάνονται οι ακμές της εικόνας κατά οριζόντια, κάθετη και διαγώνια κατεύθυνση και παρόμοια στο δεύτερο επίπεδο αλλά σε χαμηλότερη ανάλυση. Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά, και επειδή οι ακμές αντιστοιχούν σε περιεχόμενο των υψηλών συχνοτήτων της εικόνας και εκφράζουν την τραχύτητα της υφής της εικόνας, μπορεί να θεωρηθεί ότι οι πυρήνες των κυττάρων, σε ασθενείς που επιβίωσαν της πενταετίας, είχαν πιο ομαλή υφή.

Σχετικά με τον σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, υπήρχαν μία σειρά από παράγοντες που επηρέασαν τα στάδια σχεδιασμού. Υπήρχαν πολλά χαρακτηριστικά μέσα από τα οποία έπρεπε να επιλεγεί ένας μικρός αριθμός βέλτιστων χαρακτηριστικών, ο αλγόριθμος ταξινόμησης έπρεπε να επιλεγεί ανάμεσα σε άλλους και έπρεπε να είναι ταχύς στην εκτέλεση αλλά και να προσφέρει υψηλή ακρίβεια στα συγκεκριμένα δεδομένα, και η μέθοδος αξιολόγησης του εκάστοτε σχεδιασμού, κατά την εξαντλητική αναζήτηση συνδυασμών χαρακτηριστικών, έπρεπε να εξασφαλίζει όσο το δυνατόν λιγότερη μεροληψία στην εκτίμηση της ακρίβειας. Από την άλλη, η αμερόληπτη external cross validation μέθοδος δεν μπορούσε να εφαρμοστεί λόγω του σχετικά μικρού αριθμού των δεδομένων [41]. Με βάση τα ανωτέρω, ο σχεδιασμός σε έναν υπολογιστή με σειριακές μεθόδους προγραμματισμού ήταν χρονικά απαγορευτικός. Έτσι ο σχεδιασμός του συστήματος πραγματοποιήθηκε στους πολύ-επεξεργαστές της κάρτας γραφικών χρησιμοποιώντας μεθόδους παράλληλου προγραμματισμού. Χρειάστηκαν 3.3 λεπτά της ώρας στην Nvidia κάρτα γραφικών για την εύρεση του καλύτερου σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων χρησιμοποιώντας την μέθοδο αξιολόγησης LOO. Οι δυνατοί συνδυασμοί

χαρακτηριστικών μέχρι ανά πέντε στα υπαρκτά χαρακτηριστικά ήταν 21.187.243 και σε κάθε συνδυασμό το σύστημα έπρεπε να ξανασχεδιαστεί και η ακρίβειά του να ελεγχθεί με την LOO 42 φορές, όσα ήταν και τα δεδομένα της μελέτης.

Σχετικά με την επιλογή του ταξινομητή, εξετάστηκαν οι Nearest Neighbour, Bayesian, Probabilistic Neural Network, Linear Discriminant Analysis, και ο Support Vectors Machine (βλέπε κεφάλαιο 5). Οι ταξινομητές δοκιμάστηκαν ως προς την ταχύτητα εκτέλεσης, σταθερότητα, υπολογιστική πολυπλοκότητα, και ακρίβεια διαχωρισμού των κατηγοριών της μελέτης. Ο PNN με τον Gaussian πυρήνα επιλέχτηκε λόγω της ταχύτητας εκτέλεσης και ακρίβειας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο συνδυασμός χαρακτηριστικών που έδωσε τον καλύτερο σχεδιασμό του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων ήταν από την υφή του πυρήνα τα sum average (μέση τιμή), difference entropy (εύρος τιμών), dwt-energy στην διαγώνιο εικόνα, σε ανάλυση 1^{ου} επιπέδου, από το σχήμα το χαρακτηριστικό roughness index, και από τα στοιχεία του ασθενή ήταν ο βαθμός κακοήθειας του όγκου. Το χαρακτηριστικό sum average μετρά την ανομοιογένεια των τόνων των pixels, σχετικά με την ύπαρξη δομών με μεταβολή στους τόνους και λαμβάνει υψηλές τιμές σε περισσότερο τραχείες επιφάνειες. Το χαρακτηριστικό difference entropy (εύρος τιμών) εκτιμά την ανισοτροπία στην τυχαιότητα των τόνων και προσλαμβάνει υψηλές τιμές σε ομοιόμορφα κατανεμημένες διαφορές τόνων ή για εικόνες με χαμηλή μεταβολή στο κοντράστ της εικόνας. Το χαρακτηριστικό dwt-energy ποσοτικοποιεί την τραχύτητα της επιφάνειας και ήταν το μόνο από τα χαρακτηριστικά του βέλτιστου συνδυασμού που είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο κατηγοριών. Το χαρακτηριστικό roughness index εκτιμά το ακανόνιστο του σχήματος του περιγράμματος του πυρήνα και το χαρακτηριστικό του βαθμού κακοήθειας (grade) σχετίζεται με την σοβαρότητα της κακοήθειας. Σχετικά με την ακρίβεια του συστήματος υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων, η ολική ακρίβεια του ήταν 90.5% ή αλλιώς AUC=0.96, που υποδεικνύει την υψηλή ακρίβεια του προτεινόμενου συστήματος.

8.7. Συμπεράσματα 3ης πειραματικής μελέτης

Σχεδιάστηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για την εκτίμηση της πενταετούς επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα, χρησιμοποιώντας εικόνες μικροσκοπίου από ιστοπαθολογικά δείγματα βιοψίας του όγκου με χρώση p63. Ο σχεδιασμός του συστήματος κατέστη δυνατός με την μεταφορά της επεξεργασίας στους επεξεργαστές μίας κάρτας γραφικών και της εφαρμογής μεθόδων παράλληλου προγραμματισμού. Χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με το περιεχόμενο υψηλής συχνότητας της εικόνας του πυρήνα, με την ανισοτροπία στην τυχειότητα των τόνων της υφής του πυρήνα, με το σχήμα του πυρήνα, και τον βαθμό κακοήθειας του όγκου συνεισέφεραν στο σχεδιασμό του συστήματος. Χαρακτηριστικά από τον δισδιάστατο διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων, σχετιζόμενα με την ύπαρξη ακμών στην υφή του πυρήνα, έδειξαν ότι η υφή των πυρήνων των αποβιωσάντων ασθενών ήταν περισσότερο τραχεία σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Το προτεινόμενο σύστημα σχεδιάστηκε ώστε να λειτουργεί σε ένα κλινικό περιβάλλον ως ένα εργαλείο υποβοηθούμενης διάγνωσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 - Ευρήματα - Συμπεράσματα - Μελλοντική Δουλειά

Σημαντικά ευρήματα και συμπεράσματα της ερευνητικής δουλειάς της διατριβής αναγράφονται ακολούθως:

9.1. Ευρήματα και Συμπεράσματα

1. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι με αυξανόμενο το βαθμό κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα το ποσοστό P63 έκφρασης μειώνεται, η ένταση απεικόνισης των p63 εκφρασμένων πυρήνων μειώνεται, η υφή των καθίσταται πιο ανομοιογενής και αποτελείται από μικρότερα ανόμοια δομικά στοιχεία τυχαία κατανομημένα και το σχήμα των γίνεται περισσότερο ακανόνιστο. Η εκτίμηση του χαμηλού ή υψηλού βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα είναι δυνατή, με καλό βαθμό αξιοπιστίας, από την προτεινόμενη στην παρούσα ερευνητική εργασία μη-γραμμική logistic regression εξίσωση, σχεδιασμένη με χαρακτηριστικά υφής, σχήματος, μορφής και ποσοστού p63 έκφρασης και κάνοντας χρήση δειγμάτων βιοψίας, επισημασμένα ανοσοϊστοχημικά για p63 έκφραση.
2. Προτάθηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για το διαχωρισμό με εύλογη ακρίβεια των χαμηλού βαθμού από τις υψηλού βαθμού κακοήθειες του καρκίνου του λάρυγγα, χρησιμοποιώντας ιστοπαθολογικές εικόνες με p63 χρώση. Ο σχεδιασμός του συστήματος έγινε εφικτός χρησιμοποιώντας τεχνικές παράλληλης επεξεργασίας σε επεξεργαστές κάρτας γραφικών. Τα ποσοστά διάγνωσης στα συγκεκριμένα δεδομένα ήταν υψηλά με περίπου 90% συνολική ακρίβεια στην εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας και για χαρακτηριστικά που σχετίζονταν με την ομοιογένεια της υφής των πυρήνων, των δομών εντός του πυρήνα, και της διασποράς ή συγκέντρωσης των πυρήνων. Το προτεινόμενο σύστημα που αναπτύχθηκε μπορεί να λειτουργήσει σε κλινικό περιβάλλον, ως δεύτερο εργαλείο υποβοήθησης της απόφασης του ιατρού, και με την δυνατότητα να μπορεί να επανασχεδιαστεί επιτόπου όταν προστεθούν νέα επιβεβαιωμένα δεδομένα.
3. Σχεδιάστηκε ένα σύστημα υποστήριξης απόφασης με μεθόδους αναγνώρισης προτύπων για την εκτίμηση της πενταετούς επιβίωσης των ασθενών με

καρκίνο του λάρυγγα, χρησιμοποιώντας δείγματα βιοψίας του όγκου με χρώση p63. Ο σχεδιασμός του συστήματος κατέστη δυνατός με την μεταφορά της επεξεργασίας στους επεξεργαστές μίας κάρτας γραφικών και της εφαρμογής μεθόδων παράλληλου προγραμματισμού. Χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με το περιεχόμενο υψηλής συχνότητας της εικόνας του πυρήνα, με την ανισοτροπία στην τυχειότητα των τόνων της υφής του πυρήνα, με το σχήμα του πυρήνα, και τον βαθμό κακοήθειας του όγκου συνεισέφεραν στο σχεδιασμό του συστήματος. Η ακρίβεια εκτίμησης της επιβίωσης των ασθενών, στα δεδομένα της μελέτης, ήταν περίπου 90%. Χαρακτηριστικά από τον δισδιάστατο διάκριτο μετασχηματισμό κυματιδίων, σχετιζόμενα με την ύπαρξη ακμών στην υφή του πυρήνα, έδειξαν ότι η υφή των πυρήνων των αποβιωσάντων ασθενών ήταν περισσότερο τραχεία σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Το προτεινόμενο σύστημα σχεδιάστηκε ώστε να λειτουργεί σε ένα κλινικό περιβάλλον ως ένα εργαλείο υποβοηθούμενης διάγνωσης.

4. Ο σχεδιασμός συστημάτων υποστήριξης απόφασης με υψηλή ακρίβεια ταξινόμησης, επηρεάστηκε από το πολυδιάστατο του προβλήματος, λόγω του (α) μεγάλου πλήθους των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθούν οι ιδιότητες των πυρήνων όπως η υφή, η μορφολογία και η τοπολογία τους, (β) το πλήθος των προτύπων των κλάσεων, και (γ) η ανάγκη να αξιολογηθεί η ακρίβεια του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης με άγνωστα για το σύστημα δεδομένα, χρησιμοποιώντας την μεθοδολογία External Cross Validation. Όπως διαπιστώθηκε, το πολυδιάστατο του προβλήματος εμπόδιζε την πραγματοποίηση μιας βέλτιστης σχεδίασης σε ένα H/Y, ακολουθώντας σειριακό προγραμματισμό, και πως η μεταφορά της σχεδίασης των συστημάτων στους πολυ-επεξεργαστές μίας κάρτας γραφικών και η χρήση μεθόδων παράλληλου προγραμματισμού, παρείχαν εφικτές λύσεις. Η κάρτα γραφικών διαθέτει πολλούς επεξεργαστές και πολλούς πυρήνες έκαστος που δύνανται να προγραμματιστούν παράλληλα. Ο παράλληλος προγραμματισμός περιελάμβανε τον καταμερισμό του προβλήματος σε πολλές όμοιες μικρές διαδικασίες, όπως είναι ο σχεδιασμός του ταξινομητή με ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών και αξιολόγηση της ακρίβειάς του, και την ανάρτηση κάθε διαδικασίας σε ένα GPU-νήμα, που

είναι εκτελέσιμο παράλληλα με άλλες όμοιες διαδικασίες σε άλλα GPU-νήματα.

9.2. Μελλοντική Δουλειά

Μία ενδιαφέρουσα επέκταση της παρούσας ερευνητικής δουλειάς θα ήταν ο συνδυασμός πληροφορίας και από άλλες χρώσεις, όπως είναι η χρώση H&E, σε μία προσπάθεια ενίσχυσης της ακρίβειας στην εκτίμηση του βαθμού κακοήθειας και την εκτίμησης της επιβίωσης του ασθενούς. Αυτό είναι άμεσα εφικτό επειδή η χρώση H&E είναι κλινική ρουτίνα διαγνωστικής εξέτασης και τα δεδομένα είναι άμεσα διαθέσιμα. Βέβαια, σημαντική παράμετρος είναι η παρακολούθηση των ασθενών και η αύξηση του δείγματος για ενίσχυση της αξιοπιστίας του συστήματος σε πολλά δεδομένα.

Μία επίσης επέκταση της ερευνητικής δραστηριότητας θα ήταν η δημιουργία πρωτοκόλλου συνεργασίας με κλινική ΩΡΛ, όπου πραγματοποιείται πρώτη διάγνωση των ασθενών με εικόνες λαρυγγοσκοπίου. Πληροφορίες από την εικόνα του όγκου συνδυαζόμενες με πληροφορίες της ιστοπαθολογικής εικόνας θα ενίσχυαν την ακρίβεια των συστημάτων υποβοήθησης της διάγνωσης στη διάγνωση του βαθμού κακοήθειας και στην εκτίμηση της επιβίωσης των ασθενών.

Μία άλλη διάσταση της εργασίας θα ήταν η χρήση της σύγχρονης τεχνολογίας των τηλεπικοινωνιών και διαδικτύου ώστε το σύστημα να λειτουργεί σαν εργαλείο δεύτερης διάγνωσης από άλλα απομακρυσμένα παθολογοανατομικά εργαστήρια, σαν μέσο συνεργασίας εργαστηρίων, αλλά και σαν εργαλείο απομακρυσμένης εκπαίδευσης ιδίως νέων γιατρών, λόγω της πληθώρας περιστατικών που θα έχουν μελλοντικά συσσωρευτεί. Η χρησιμοποίηση ενός cluster καρτών γραφικών και ο κατάλληλος προγραμματισμός ώστε η εκπαίδευση των συστημάτων υποστήριξης να μοιράζεται κατάλληλα σε παράλληλες διεργασίες θα συνέβαλε σημαντικά στην βελτίωση του χρόνου σχεδιασμού πολύπλοκων συστημάτων υποστήριξης απόφασης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sant, M., et al., *EUROCORE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary*. Eur J Cancer, 2009. **45**(6): p. 931-91.
2. Bosman, F.T., *Dysplasia classification: pathology in disgrace?* J Pathol, 2001. **194**(2): p. 143-4.
3. Fleskens, S.A., et al., *Interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions: a histopathological evaluation*. Mod Pathol, 2011. **24**(7): p. 892-8.
4. Warnakulasuriya, S., et al., *Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement*. J Oral Pathol Med, 2008. **37**(3): p. 127-33.
5. Borba, M., et al., *Expression profile of p63 in 127 patients with laryngeal squamous cell carcinoma*. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2010. **72**(6): p. 319-24.
6. Dong, P., et al., *Application of tissue microarray: evaluation of the expression of S-100-positive dendritic cells, tumor suppressor gene p63 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in laryngeal carcinoma*. Acta Otolaryngol, 2004. **124**(10): p. 1204-7.
7. Pruner, G., et al., *p63 in laryngeal squamous cell carcinoma: evidence for a role of TA-p63 down-regulation in tumorigenesis and lack of prognostic implications of p63 immunoreactivity*. Lab Invest, 2002. **82**(10): p. 1327-34.
8. Takahashi, Y., et al., *Reduced expression of p63 has prognostic implications for patients with esophageal squamous cell carcinoma*. Oncol Rep, 2006. **15**(2): p. 323-8.
9. Delides, A., et al., *Fractal dimension as a prognostic factor for laryngeal carcinoma*. Anticancer Res, 2005. **25**(3B): p. 2141-4.
10. Dobros, W., et al., *The use of nuclear morphometry for the prediction of survival in patients with advanced cancer of the larynx*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 1999. **256**(5): p. 257-61.
11. Miranda, F.A., et al., *Galectin-3 overexpression in invasive laryngeal carcinoma, assessed by computer-assisted analysis*. J Histochem Cytochem, 2009. **57**(7): p. 665-73.
12. Dreyer, T., et al., *Nuclear texture features for classifying benign vs. dysplastic or malignant squamous epithelium of the larynx*. Anal Quant Cytol Histol, 2001. **23**(3): p. 193-200.
13. Teresa, D.B., et al., *Computer-assisted analysis of cell proliferation markers in oral lesions*. Acta Histochem, 2007. **109**(5): p. 377-87.
14. Kostopoulos, S., et al., *Cascade pattern recognition structure for improving quantitative assessment of estrogen receptor status in breast tissue carcinomas*. Anal Quant Cytol Histol, 2008. **30**(4): p. 218-225.
15. Loukas, C.G., et al., *An image analysis-based approach for automated counting of cancer cell nuclei in tissue sections*. Cytometry A, 2003. **55**(1): p. 30-42.

16. Kostopoulos, S., et al., *Computer-Based Association of the Texture of Expressed Estrogen Receptor Nuclei with Histologic Grade Using Immunohistochemically-Stained Breast Carcinomas*. Anal Quant Cytol Histol, 2009. **31**(4): p. 187-196.
17. Wolberg, W.H., W.N. Street, and O.L. Mangasarian, *Importance of nuclear morphology in breast cancer prognosis*. Clin Cancer Res, 1999. **5**(11): p. 3542-8.
18. Glotsos, D., et al., *An image-analysis system based on support vector machines for automatic grade diagnosis of brain-tumour astrocytomas in clinical routine*. Med Inform Internet Med, 2005. **30**(3): p. 179-93.
19. Spyridonos, P., et al., *Computer-based grading of haematoxylin-eosin stained tissue sections of urinary bladder carcinomas*. Med Inform Internet Med, 2001. **26**(3): p. 179-90.
20. Daskalakis, A., et al., *Design of a multi-classifier system for discriminating benign from malignant thyroid nodules using routinely H&E-stained cytological images*. Comput Biol Med, 2008. **38**(2): p. 196-203.
21. Kolles, H., et al., *Data-driven approaches to decision making in automated tumor grading. An example of astrocytoma grading*. Anal Quant Cytol Histol, 1996. **18**(4): p. 298-304.
22. Vlachokosta, A.A., et al., *Classification of Histological Images of the Endometrium Using Texture Features*. Anal Quant Cytol Histol, 2013.
23. Bacauskiene, M., et al., *A feature selection technique for generation of classification committees and its application to categorization of laryngeal images*. Pattern Recognition, 2009. **42**(5): p. 645-654.
24. Verikas, A., et al., *Multiple feature sets based categorization of laryngeal images*. Comput Methods Programs Biomed, 2007. **85**(3): p. 257-66.
25. Ninos K., et al., *Computer based correlation of the texture of P63 expressed nuclei with histological tumour grade, in laryngeal carcinomas*. Analytical Cellular Pathology, 2014. Volume 2014, Article number 963076.
26. Ninos, K., et al., *Computer-based image analysis system designed to differentiate between low-grade and high-grade laryngeal cancer cases*. Anal Quant Cytol Histol, 2013. **35**(5): p. 261-72.
27. Ninos K., et al., *Microscopy image analysis of p63 immunohistochemically stained laryngeal cancer lesions for predicting patient 5-year survival*. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology, 2014. **under revision**.
28. Fleskens, S. and P. Slootweg, *Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility*. Head Neck Oncol, 2009. **1**: p. 11.
29. Siegel, R., D. Naishadham, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2012*. CA Cancer J Clin, 2012. **62**(1): p. 10-29.
30. Joshi, V.M., V. Wadhwa, and S.K. Mukherji, *Imaging in laryngeal cancers*. The Indian Journal of Radiology & Imaging, 2012. **22**(3): p. 209-226.

31. Cowan, D., *Informatics for the Clinical Laboratory: A Practical Guide for the Pathologist*. 2005, NY: Springer Verlag.
32. Abramowitz, M., *Microscope Basics and Beyond*. 2003, NY: Olympus America Inc.
33. Kerlikowske, K., et al., *Characteristics associated with recurrence among women with ductal carcinoma in situ treated by lumpectomy*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(22): p. 1692-702.
34. Theodoridis, S. and K. Koutroumbas, *Pattern Recognition, Fourth Edition*. 2008: Academic Press. 900.
35. Haralick, R.M., K. Shanmugam, and I.H. Dinstein, *Textural Features for Image Classification*. IEEE Trans Sys Man Cyb, 1973. **3**: p. 610-621.
36. Bocchi, L., et al., *Tissue characterization from X-ray images*. Medical Engineering and Physics, 1997. **19**(4): p. 336-342.
37. Van De Wouwer, G., et al., *Wavelets as chromatin texture descriptors for the automated identification of neoplastic nuclei*. J Microsc, 2000. **197**(Pt 1): p. 25-35.
38. Issac Niwas, S., et al., *Analysis of nuclei textures of fine needle aspirated cytology images for breast cancer diagnosis using Complex Daubechies wavelets*. Signal Processing, 2013. **93**(10): p. 2828-2837.
39. Sparks, R. and A. Madabhushi, *Explicit shape descriptors: Novel morphologic features for histopathology classification*. Medical Image Analysis, 2013. **17**(8): p. 997-1009.
40. Betal, D., N. Roberts, and G.H. Whitehouse, *Segmentation and numerical analysis of microcalcifications on mammograms using mathematical morphology*. Br J Radiol, 1997. **70**(837): p. 903-17.
41. Shamir, L., et al., *Pattern recognition software and techniques for biological image analysis*. PLoS Computational Biology, 2010. **6**(11).
42. Shamir, L., et al., *Wndchrm - An open source utility for biological image analysis*. Source Code for Biology and Medicine, 2008. **3**.
43. Zhang, D. and G. Lu, *Review of shape representation and description techniques*. Pattern Recognition, 2004. **37**(1): p. 1-19.
44. Gurcan, M.N., et al., *Histopathological image analysis: a review*. IEEE reviews in biomedical engineering, 2009. **2**: p. 147-171.
45. Theodoridis, S., et al., *Introduction to Pattern Recognition: A Matlab Approach*. Introduction to Pattern Recognition: A Matlab Approach. 2010.
46. McCrum-Gardner, E., *Which is the correct statistical test to use?* British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2008. **46**(1): p. 38-41.
47. Chap, T.L., *Introductory biostatistics*. 2003, Hoboken, NJ, USA: Wiley.
48. Brown, J.D. *Point-biserial correlation coefficients*. JALT Testing & Evaluation SIG Newsletter 2001; Available from: http://jalt.org/test/bro_12.htm.
49. Rexhepaj, E., et al., *Novel image analysis approach for quantifying expression of nuclear proteins assessed by immunohistochemistry: application to measurement of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer*. Breast Cancer Res, 2008. **10**(5): p. R89.
50. Gonzalez, R. and R. Woods, *Digital image processing*. 2nd ed, ed. R. Gonzalez. 2002, NY: Addison-Wesley Pub 518-528.

51. Gose, E., R. Johnsonbaugh, and S. Jost, *Pattern Recognition and Image Analysis*. 1996, New Jersey: Prentice Hall PTR. 159-175.
52. Specht, D.F., *Probabilistic Neural Networks*. Neural Networks, 1990. **3**: p. 109-118.
53. Duda, R.O. and P.E.S. Hart, David. G., *Pattern Classification*. 2nd ed. 2001, NY: John Wiley & Sons.
54. Kuncheva, L.I., *Combining Pattern Classifiers: Methods and Algorithms*. 2004, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
55. Kechman, V., *Support Vector Machines*, in *Learning and Soft Computing*. 2001, MIT: Cambridge. p. 121-184.
56. Burges, C.J.C., *A tutorial on Support Vector Machines for pattern recognition*. Data Mining and Knowledge Discovery, 1998. **2**(2): p. 121-167.
57. Veltri, R.W., et al., *Comparison of logistic regression and neural net modeling for prediction of prostate cancer pathologic stage*. Clin Chem, 2002. **48**(10): p. 1828-34.
58. Jain, A.K., *Fundamentals of digital image processing*. 1989: Prentice-Hall, Inc. 569.
59. Ambroise, C. and G.J. McLachlan, *Selection bias in gene extraction on the basis of microarray gene-expression data*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(10): p. 6562-6.
60. Sen, R., *Developing parallel programs*. Advances in Computer Science: an International Journal, 2012. **1**(1): p. 18-27.
61. Park, I.K., et al., *Design and performance evaluation of image processing algorithms on GPUs*. Parallel and Distributed Systems, IEEE Transactions on, 2011. **22**(1): p. 91-104.
62. Nvidia. *CUDA C Programming Guide*. 2014 [24/04/2014]; Available from: <http://docs.nvidia.com/cuda/cuda-c-programming-guide/index.html>.
63. OpenMP. *OpenMP Application Program Interface*. 2005 [25/04/2014]; Available from: <http://www.openmp.org/mp-documents/spec25.pdf>.
64. Becher, H., et al., *Occupation, exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and laryngeal cancer risk*. Int J Cancer, 2005. **116**(3): p. 451-7.
65. Boffetta, P., et al., *Occupation and larynx and hypopharynx cancer: an international case-control study in France, Italy, Spain, and Switzerland*. Cancer Causes Control, 2003. **14**(3): p. 203-12.
66. Dietz, A., et al., *Exposure to cement dust, related occupational groups and laryngeal cancer risk: results of a population based case-control study*. Int J Cancer, 2004. **108**(6): p. 907-11.
67. Ramroth, H., A. Dietz, and H. Becher, *Interaction effects and population-attributable risks for smoking and alcohol on laryngeal cancer and its subsites. A case-control study from Germany*. Methods Inf Med, 2004. **43**(5): p. 499-504.
68. Talamini, R., et al., *Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study*. Cancer Causes Control, 2002. **13**(10): p. 957-64.

69. Borba, M., et al., *Expression profile of p63 in 127 patients with laryngeal squamous cell carcinoma*. ORL, 2010. **72**(6): p. 319-324.
70. Stewart, B.W. and P. Kleihues, *World Cancer Report*. 2003, Lyon: IARC Press.
71. Greene, F.L., et al., *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. 2002, New York: Springer-Verlag.
72. Cheng, H.D., et al., *Color image segmentation: advances and prospects*. Pattern Recognition, 2001. **34**(12): p. 2259-2281.
73. Jia, H., et al., *[The clinical significance of the expression of p63 gene in laryngeal squamous cell carcinoma]*. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi, 2006. **20**(3): p. 119-21.
74. Kirk, D.B. and W.-m.W. Hwu, *Programming Massively Parallel Processors A Hands-on Approach*. 2010, Amsterdam: Morgan Kaufmann.
75. Xu, F. and K. Mueller, *Real-time 3D computed tomographic reconstruction using commodity graphics hardware*. Phys Med Biol, 2007. **52**(12): p. 3405-19.
76. Ruiz, A., et al., *Stroma classification for neuroblastoma on graphics processors*. Int J Data Min Bioinform, 2009. **3**(3): p. 280-98.
77. Lapeer, R.J., S.K. Shah, and R.S. Rowland, *An optimised radial basis function algorithm for fast non-rigid registration of medical images*. Comput Biol Med, 2010. **40**(1): p. 1-7.
78. Shams, R., et al., *Parallel computation of mutual information on the GPU with application to real-time registration of 3D medical images*. Comput Methods Programs Biomed, 2010. **99**(2): p. 133-46.
79. Dai, Y., et al., *Real-time visualized freehand 3D ultrasound reconstruction based on GPU*. IEEE Trans Inf Technol Biomed, 2010. **14**(6): p. 1338-45.
80. Sidiropoulos, K., et al., *Real time decision support system for diagnosis of rare cancers, trained in parallel, on a graphics processing unit*. Comput Biol Med, 2012. **42**(4): p. 376-86.
81. Kostopoulos, S., et al., *Pattern-recognition system, designed on GPU, for discriminating between injured normal and pathological knee cartilage*. Magn Reson Imaging, 2013.
82. Miki, T., et al., *Patient-specific modelling of pulmonary airflow using GPU cluster for the application in medical practice*. Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, 2011. **15**(7): p. 771-778.
83. Glotsos, D., et al., *Automated segmentation of routinely hematoxylin-eosin-stained microscopic images by combining support vector machine clustering and active contour models*. Anal Quant Cytol Histol, 2004. **26**(6): p. 331-40.
84. McLaren, K.M., et al., *Consistency of histopathological reporting of laryngeal dysplasia. The Scottish Pathology Consistency Group*. Histopathology, 2000. **37**(5): p. 460-3.
85. Ahmed, N. and K.R. Rao, *Orthogonal Transforms for Digital Signal Processing*. 1975, Berlin - Heidelberg - New York: Springer-Verlag.
86. Farber, R., *CUDA Application Design and Development*. 2011: Morgan Kaufmann.

87. Oh, K.-S. and K. Jung, *GPU implementation of neural networks*. Pattern Recognition, 2004. **37**(6): p. 1311-1314.
88. Beliaikov, G. and G. Li, *Improving the speed and stability of the k-nearest neighbors method*. Pattern Recognition Letters, 2012. **33**(10): p. 1296-1301.
89. Bandyopadhyay, S. and S. Saha, *Unsupervised Classification: Similarity Measures, Classical and Metaheuristic Approaches, and Applications*. 2013, Berlin: Springer-Verlag.
90. Le, C.T., *Introductory biostatistics*. 2003: John Wiley & Sons.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα Ι

Κατάλογος δημοσιεύσεων σε περιοδικά με δείκτη απήχησης (impact factor) ως αποτέλεσμα της ερευνητικής εργασίας της διδακτορικής διατριβής:

1. **Ninos K.**, Kostopoulos S., Kalatzis I., Ravazoula P., Sakelaropoulos G., Panayiotakis G., Economou G., Cavouras D. “*Computer based correlation of the texture of P63 expressed nuclei with histological tumour grade, in laryngeal carcinomas*”. Analytical Cellular Pathology, 2014.
2. **Ninos K.**, Kostopoulos S, Sidiropoulos K, Kalatzis I, Glotsos D, Athanasiadis E, Ravazoula P, Panayiotakis G, Economou G, Cavouras D, “*Computer-based image analysis system designed to differentiate between low-grade and high-grade laryngeal cancer cases*”. Anal Quant Cytol Histol, 2013. 35(5): p. 261-72.
3. **Ninos K.**, Kostopoulos S, Kalatzis I, Sidiropoulos K, Ravazoula P, Sakelaropoulos G, Panayiotakis G, Economou G, Cavouras D, “*Microscopy image analysis of p63 immunohistochemically stained laryngeal cancer lesions for predicting patient 5-year survival*”. Acta Histochemica, 2014 (**Submitted under revision**).

Παράρτημα II

Συντμήσεις

Συντμήσεις	Περιγραφή
CCD	Charged-Coupled Device
CIE	Commission Internationale de l' Eclairage
DSS	Decision Support System
ECV	External Cross Validation
FCM	fuzzy c-means
GLCM	Grey Level Co-occurrence Matrix
H&E	Hematoxylin & Eosin
IHC	Immunohistochemistry
k-NN	k-Nearest Neighbor
Lab	L*a*b* colour space defined by CIE (CIElab)
LDA	Linear Discriminant Analysis
LOO	Leave One Out
MOS	Metal Oxide Semiconductors
NA	Numerical Aperture
PNN	Probabilistic Neural Network
RGB	Red Green Blue Colour space
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROI	Region Of Interest
ROI	Region Of Interest
SBFS	Sequential Backward Floating Selection
SBS	Sequential Backward Selection
SBS	Sequential Backward Selection
SFFS	Sequential Forward Floating Selection
SFS	Sequential Forward Selection
SFS	Sequential Forward Selection
SVM	Support Vector Machines
TIFF	Tagged Image File Format
WHO	World Health Organization

Παράρτημα III

Κατάλογος Σχημάτων

Αριθμός σχήματος	Επεξήγηση	Σελίδα
Σχήμα 2.1	Σχηματική απεικόνιση του λάρυγγα.	15
Σχήμα 2.2	Ενδοσκοπική εικόνα φυσιολογικού λάρυγγα.	15
Σχήμα 2.3	Καλυπτρίδα με ιστό.	19
Σχήμα 2.4	Ψηφιακή εικόνα μικροσκοπίου με χρώση αιματοξυλίνης-ιωσίνης.	19
Σχήμα 2.5	Βαφή με ανοσοϊστοχημική μέθοδο.	19
Σχήμα 2.6	Σχηματικό διάγραμμα βασικών μερών οπτικού μικροσκοπίου.	20
Σχήμα 2.7	Διατομή ενός σύγχρονου οπτικού μικροσκοπίου.	20
Σχήμα 2.8	Αρχιτεκτονική CCD ανιχνευτή.	22
Σχήμα 2.9	Σύστημα μικροσκοπίου - ψηφιακής κάμερας - υπολογιστή.	23
Σχήμα 2.10	Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, χαμηλού βαθμού κακοήθειας (grade I).	23
Σχήμα 2.11	Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, μεσαίου βαθμού κακοήθειας (grade II).	24
Σχήμα 2.12	Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση P63, υψηλού βαθμού κακοήθειας (grade III).	24
Σχήμα 3.1	Συνάρτηση για μετατροπή έγχρωμης εικόνας σε γκρι εικόνα.	29
Σχήμα 3.2	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Απεικόνιση ιστοπαθολογικής εικόνας σε κλίμακα γκρι.	29
Σχήμα 3.3	Αλγόριθμος υπολογισμού $\log$ (Laplacian-Of-Gaussian) φίλτρου.	30
Σχήμα 3.4	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα σε γκρι-κλίμακα, (β) Επεξεργασμένη εικόνα με $\log$ φίλτρο, (γ) $\log$ φίλτρο στο πεδίο του χώρου, (δ) $\log$ φίλτρο στο πεδίο των συχνοτήτων.	31
Σχήμα 3.5	Συνάρτηση divGauss για υπολογισμό της 1 ^{ης} παραγώγου φίλτρων κατά 0 και 90 μοίρες.	32
Σχήμα 3.6	Συνάρτηση για υπολογισμό της $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$	32
Σχήμα 3.7	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Φίλτρο πρώτης παραγώγου Gaussian οριζόντια, (γ) Επεξεργασμένη εικόνα Gx .	33
Σχήμα 3.8	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Φίλτρο πρώτης παραγώγου Gaussian κάθετα, (γ) Επεξεργασμένη εικόνα Gy .	33
Σχήμα 3.9	(α) Επεξεργασμένη εικόνα Gx , (β) Επεξεργασμένη εικόνα Gy , (γ) Επεξεργασμένη εικόνα $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$	34
Σχήμα 3.10	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα αλλοίωσης λάρυγγα, (β) Επεξεργασμένη εικόνα $G = \sqrt{Gx^2 + Gy^2}$, (γ) Εικόνα με κατωφλίωση της (β).	34
Σχήμα 3.11	Εντολές για επεξεργασία μορφολογικών φίλτρων με συναρτήσεις <i>Matlab open, fill holes</i> και <i>close</i> .	36
Σχήμα 3.12	(α) Ανίχνευση ακμών με την μέθοδο Canny, (β) Επεξεργασία της εικόνας (α) με λειτουργία «close», (γ) Επεξεργασία εικόνας (β) για γέμισμα οπών «fill holes», (δ) Επεξεργασία εικόνας (γ) με λειτουργία «open».	37
Σχήμα 3.13	(α) Επεξεργασία λογικού ΚΑΙ (AND) μεταξύ αρχικής εικόνας (Σχήμα 3.2 (α)) και τμηματοποιημένης δυαδικής εικόνας (Σχήμα 3.12 (δ)), (β) Ανίχνευση αντικειμένων/πυρήνων με επιφάνεια μεγαλύτερη των 40 pixels.	37
Σχήμα 3.14	Μετασχηματισμός απεικόνισης εικόνας από RGB (α) σε L^*a^*b (β). Ακολουθεί ο κώδικας μετατροπής και απεικόνισης της L^*a^*b εικόνας.	39
Σχήμα 3.15	Τμηματοποίηση εικόνας με τον k-means αλγόριθμο μη-	40

	εποπτευόμενης ταξινόμησης. (β) μη εκφρασμένοι πυρήνες, (γ) παρέγχυμα, (δ) P63 εκφρασμένοι πυρήνες.	
Σχήμα 3.16	Κώδικας διαχωρισμού της L^*a^*b εικόνας σε 3 εικόνες - clusters για μη-εκφρασμένους πυρήνες (Σχήμα 3.15 (β)), κυτταρικό παρέγχυμα (Σχήμα 3.15 (γ)) και εκφρασμένους πυρήνες (Σχήμα 3.15 (δ)).	41
Σχήμα 3.17	(α) Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με χρώση p63, (β) Δυναμική μορφή τμηματοποιημένης εικόνας, όπου οι άσπροι σχηματισμοί αντιστοιχούν στους εκφρασμένους πυρήνες του κυττάρου, (γ) Τμηματοποιημένη εικόνα, με περιεχόμενο τους εκφρασμένους με χρώση p63 πυρήνες.	41
Σχήμα 4.1	Δειγματοληψία και υπολογισμός χαρακτηριστικών από πυρήνες ιστοπαθολογικής εικόνας, που έχει υποστεί κατάλληλη επεξεργασία για τμηματοποίηση των πυρήνων.	45
Σχήμα 4.2	Υπολογισμός χαρακτηριστικών $1^{ηs}$ τάξης.	48
Σχήμα 4.3	Υπολογισμός ορισμένων, σημαντικών, εκ των χαρακτηριστικών $2^{ηs}$ τάξης.	51
Σχήμα 4.4	(α) $1^{ου}$ επιπέδου ανάλυση dwt εικόνας πυρήνα, (β) $2^{ου}$ επιπέδου dwt ανάλυση εικόνας πυρήνα.	52
Σχήμα 4.5	Φίλτρα Daubechies.	52
Σχήμα 4.6	Υπολογισμός χαρακτηριστικών βασισμένων στον $1^{ου}$ επιπέδου ανάλυσης διάκριτου μετασχηματισμού κυματιδίων με Φίλτρα Daubechies.	53
Σχήμα 4.7	Υπολογισμός ορισμένων, σημαντικών, εκ των χαρακτηριστικών $2^{ηs}$ τάξης.	55
Σχήμα 4.8	Υπολογισμός επιλεγμένων μορφολογικών χαρακτηριστικών πυρήνων τμηματοποιημένης εικόνας (L).	59
Σχήμα 4.9	Δέντρο ελάχιστων αποστάσεων (MST).	60
Σχήμα 4.10	Δοκιμασία Lilliefors για τον έλεγχο της κανονικότητας της κατανομής των χαρακτηριστικών.	62
Σχήμα 4.11	Δοκιμασία Students t-test για τον έλεγχο της διαφοράς των μέσων τιμών.	63
Σχήμα 4.12	Δοκιμασία Anova για τον έλεγχο της διαφοράς χαρακτηριστικών σε τρεις κατηγορίες.	65
Σχήμα 4.13	Δοκιμασία Wilcoxon για τον έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ δύο κλάσεων.	66
Σχήμα 4.14	Δοκιμασία Kruskal-Wallis για τον έλεγχο της στατιστικής διαφοράς χαρακτηριστικών μεταξύ τριών κλάσεων.	67
Σχήμα 4.15	Boxplots για οπτικό έλεγχο της διασποράς των τιμών χαρακτηριστικών ανάμεσα σε κλάσεις.	68
Σχήμα 4.16	Αλγόριθμος για την Point Biserial correlation καθώς και μία γραφική παράσταση για την μεταβολή ενός χαρακτηριστικού με την εξέλιξη της κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα.	69
Σχήμα 4.17	Αλγόριθμος για την Spearman/Pearson correlation.	70
Σχήμα 5.1	Ταξινομητής ελάχιστης απόστασης.	83
Σχήμα 5.2	Ταξινομητής K-Nearest Neighbor.	84
Σχήμα 5.3α	Ταξινομητής πολυεπίπεδου νευρωνικού δικτύου 2 εσωτερικών επιπέδων, όπου σε κάθε κόμβο ενεργοποιείται μία σιγμοειδής συνάρτηση, ως το άνω σχήμα.	85
Σχήμα 5.3β	Σχηματικό διάγραμμα Πιθανοκρατικού Νευρωνικού Δικτύου για 2 κλάσεις με 3 και 5 πρότυπα.	87
Σχήμα 5.3γ	Ταξινομητής Probabilistic Neural Network.	88
Σχήμα 5.4	Ταξινομητής Bayesian.	90
Σχήμα 5.5	Ταξινομητής Linear Discriminant Analysis.	91
Σχήμα 5.6α	Επίδειξη της αρχής λειτουργίας του ταξινομητή SVM.	92
Σχήμα 5.6β	Ταξινομητής Support Vector Machines.	93
Σχήμα 5.7	Ταξινομητής Logistic Regression.	94
Σχήμα 5.8	Καμπύλη ROC.	99
Σχήμα 5.9α	Συγκριτική ταχύτητα εκτέλεσης ίδιου προγράμματος σε 1, 2, 3, ή 4	102

	πυρήνες επεξεργαστή H/Y (Intel Core 2 Quad CPU).	
Σχήμα 5.9β	Βελτίωση ταχύτητας εκτέλεσης ίδιου προγράμματος με τον αριθμό χρησιμοποιούμενων πυρήνων επεξεργαστή.	103
Σχήμα 5.10	Συγκριτική ταχύτητα εκτέλεσης ίδιου προγράμματος μεταξύ τετρα-πύρηνου επεξεργαστή H/Y (Intel Core 2 Quad CPU) και κάρτας γραφικών GPU (Nvidia GeForce GTX 580, 512 πυρήνες).	104
Σχήμα 6.1	Οπτικό μικροσκόπιο Leica DM2500 M με προσαρτημένη ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Leica DFC420C.	111
Σχήμα 6.1α	Ιστοπαθολογική εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με p63 χρώση.	113
Σχήμα 6.1β	Τμηματοποιημένη εικόνα καρκίνου του λάρυγγα με p63 χρώση.	113
Σχήμα 6.2	Διαγράμματα διασποράς χαρακτηριστικών.	116
Σχήμα 6.3	Γραφήματα διασποράς χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ κλάσεων χαμηλής και υψηλής κακοήθειας.	117
Σχήμα 6.4	Καμπύλη ROC της logistic regression για εκτίμηση του χαμηλού βαθμού κακοήθειας του καρκίνου του λάρυγγα.	120
Σχήμα 7.1	Σχηματικό διάγραμμα του σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης στη κάρτα γραφικών (GPU).	130
Σχήμα 7.2	Ψευδο-κώδικας εκτέλεσης μίας διεργασίας για εκπαίδευση του PNN ταξινομητή με ένα συνδυασμό χαρακτηριστικών και την LOO μέθοδο πάνω σε ένα νήμα t .	131
Σχήμα 7.3	Η αρχιτεκτονική που χρησιμοποιήθηκε στους πυρήνες της κάρτας γραφικών GPU.	132
Σχήμα 7.4	Μετασχηματισμός ελάχιστων τετραγώνων των χαμηλού βαθμού και υψηλού βαθμού κακοήθειας 7-διάστατου χώρου διασποράς. v_1, v_2 είναι οι άξονες του επιπέδου απόφασης και $V1, V2$ είναι οι ακμές των μοναδιαίων διανυσμάτων $[1\ 0]^T$ και $[0\ 1]^T$, αναφερόμενα στις χαμηλού και υψηλού βαθμού κλάσεις, αντίστοιχα.	135
Σχήμα 8.1	Γραφήματα διασποράς χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο κλάσεων πενταετούς επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα.	148
Σχήμα 8.2	Καμπύλη ROC επιβίωσαντες Vs αποβιώσαντες πενταετίας.	150

Παράρτημα IV

Κατάλογος Πινάκων

Αριθμός Πίνακα	Επεξήγηση	Σελίδα
Πίνακας 4.1	Υπολογισμός διασπορών και F-test για one-way Anova.	64
Πίνακας 6.1	Θέση, στάδιο και βαθμός κακοήθειας όγκων λάρυγγα.	111
Πίνακας 6.2	Μέσες τιμές, τυπικές αποκλίσεις, στατιστικά σημαντικότητα και συσχετίσεις των χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ Χαμηλού Βαθμού (XB) και Υψηλού Βαθμού (YB) κακοήθειας όγκων του λάρυγγα.	118
Πίνακας 6.3	Πίνακας εκτίμησης του βαθμού κακοήθειας καρκίνου του λάρυγγα με την non-linear logistic regression.	119
Πίνακας 7.1	Αποτελέσματα σχεδιασμού του συστήματος υποστήριξης διάγνωσης με δύο μη-βέλτιστες και μία βέλτιστη μέθοδο επιλογής χαρακτηριστικών.	133
Πίνακας 7.2	Πίνακας αληθείας όπου φαίνεται η ακρίβεια ταξινόμησης των χαμηλού βαθμού (XB) και υψηλού βαθμού (YB) κακοηθειών.	134
Πίνακας 8.1	Θέση, στάδιο και βαθμός κακοήθειας όγκων λάρυγγα σε επιζήσαντες και αποβιώσαντες 5 έτη μετά την πρώτη διάγνωση.	144
Πίνακας 8.2	Η μέση τιμή, η μεσαία τιμή και η τυπική απόκλιση των χαρακτηριστικών με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιβιωσάντων και αποβιωσάντων της πενταετίας ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα.	147
Πίνακας 8.3	Πίνακας ταξινόμησης Επιβιωσάντων έναντι Αποβιωσάντων πενταετίας.	149