



Τμήμα Ηλεκτρονικών Μηχανικών  
και  
Μηχανικών Υπολογιστών

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Διπλωματική Εργασία με τίτλο:

“ Χαρτογράφηση των Χωρικών Μεταβολών των Εντάσεων της  
Οπισθοσκεδασμένης Ακτινοβολίας ως Νέο Διαγνωστικό Κριτήριο για την  
Ανίχνευση της Επιθηλιακής Νεοπλασίας”

Πολογιώργη Ιφιγένεια

Επιτροπή Διπλωματικής:

Επιβλέπων: Μπάλας Κώστας (Αναπληρωτής Καθηγητής)

Μέλη: Ζερβάκης Μιχάλης (Καθηγητής)

Μπούχερ Ματτίας (Επίκουρος Καθηγητής)

Στη μνήμη του πατέρα μου

## Ευχαριστίες

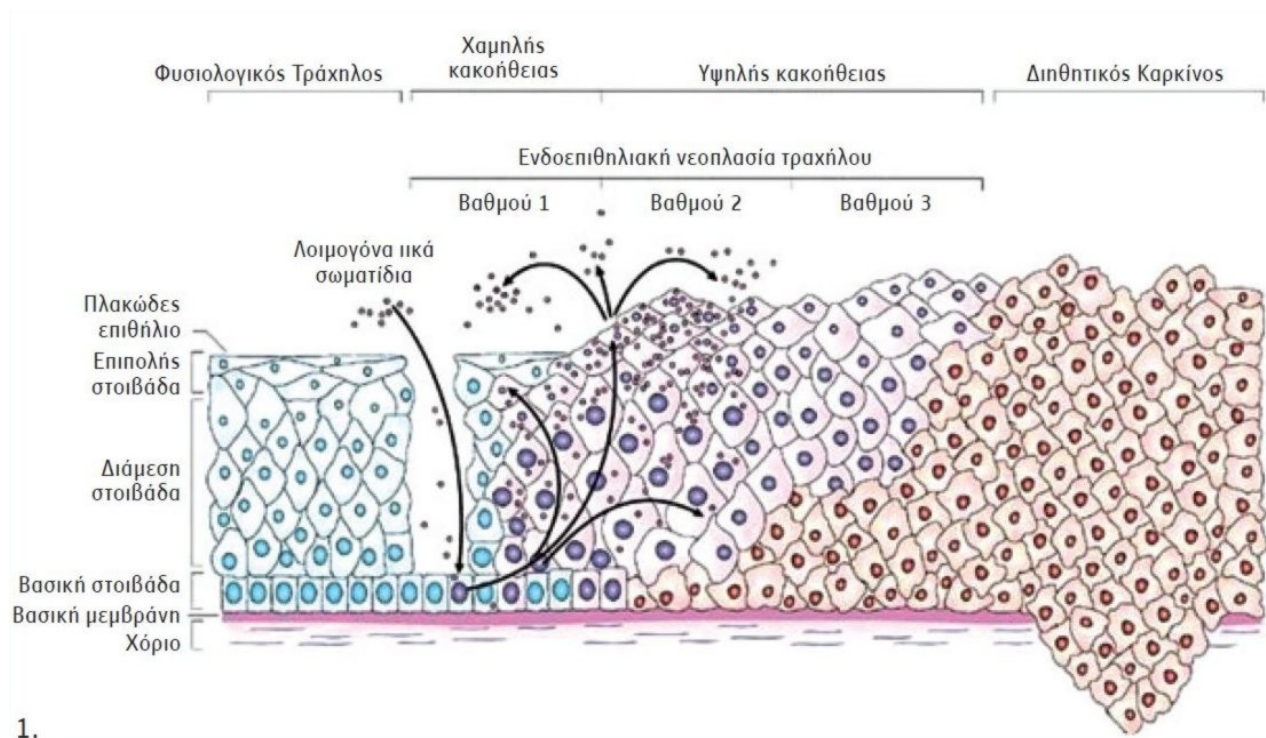
Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και να εκφράσω την ειλικρινή εκτίμησή μου προς τον επιβλέπων καθηγητή μου Κώστα Μπάλα που μου εμπιστεύθηκε να αναλάβω τη διπλωματική εργασία με θέμα: “ Χαρτογράφηση των χωρικών μεταβολών των εντάσεων της οπισθοσκεδασμένης ακτινοβολίας ως νέο διαγνωστικό κριτήριο για την ανίχνευση της επιθηλιακής νεοπλασίας “. Η καθοδήγησή, η υποστήριξη και οι πολύτιμες συμβουλές του με καθοδήγησαν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο στην ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Ακόμη, θέλω να ευχαριστήσω θερμά του καθηγητές Μιχάλη Ζερβάκη και Ματτία Μπούχερ για τη συμμετοχή τους στην παρουσίαση και αξιολόγηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Πάνω από όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τη μητέρα μου για τη στήριξη της καθ’ όλη τη διάρκεια των προπτυχιακών σπουδών μου, αλλά και ένα πολύ κοντινό μου πρόσωπο για την ψυχολογική του υποστήριξη κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας.

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΩΝ ΧΩΡΙΚΩΝ ΕΝΤΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΟΠΙΣΘΟΣΚΕΔΑΣΜΕΝΗΣ  
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΩΣ ΝΕΟ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ  
ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ

Copyright © July 2010 Diploma Thesis by Pologiori Ifigeneia



Πολυτεχνείο Κρήτης  
Τμήμα Ηλεκτρονικών Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών  
Τομέας Ηλεκτρονικής  
Πολυτεχνειούπολη – Κουνουπιδιανά  
73100 Χανιά – Ελλάδα

Επιτροπή Διπλωματικής:  
Επιβλέπων: Μπάλας Κώστας (Αναπληρωτής Καθηγητής)  
Μέλη: Ζερβάκης Μιχάλης (Καθηγητής)  
Μπούχερ Ματτίας (Επίκουρος Καθηγητής)

Χανιά, Ιούλιος 2010

## Περίληψη

Σε αρκετές διαγνωστικές τεχνικές χρησιμοποιούνται διαγνωστικοί δείκτες (biomarkers) για την ενίσχυση της αντίθεσης μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί τεχνολογίες οπτικής και μοριακής απεικόνισης οι οποίες χρησιμοποιούν διαγνωστικούς δείκτες με την ιδιότητα να αλλάζουν τα χαρακτηριστικά σκέδασης ή/και φθορισμού του παθολογικού ιστού επιλεκτικά. Η *in vivo* μέτρηση των οπτικών αυτών σημάτων παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τις αλλαγές στη δομή και τη λειτουργικότητα του ιστού, οι οποίες προκαλούνται κατά την εξέλιξη της νόσου από το προκαρκινικό στο καρκινικό στάδιο.

Μέχρι σήμερα, δεν έχει προσδιοριστεί κάποια ποσοτική οπτική παράμετρος για την ποσοτικοποίηση του βαθμού οριοθέτησης (demarcation) της περιοχής που αντιδρά θετικά με το διαγνωστικό δείκτη. Ο λόγος που αυτό κρίνεται αναγκαίο και ιδιαίτερα σημαντικό είναι ότι είναι δυνατόν μέσω της παραμέτρου αυτής να εκτιμηθεί η χωρική κατεύθυνση ανάπτυξης της νεοπλασίας στον ιστό και κατά συνέπεια του ρίσκου για μεταστάσεις. Ο προσδιορισμός μιας τέτοιας παραμέτρου στην περίπτωση του προκαρκίνου του τραχήλου της μήτρας, όπου αραιό διάλυμα οξικού οξέος χρησιμοποιείται ως διαγνωστικός δείκτης αποτελεί το αντικείμενο της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Αναλύθηκαν δεδομένα από εικόνες που έχουν ληφθεί σε χρονική διαδοχή για την καταγραφή σε κάθε εικονοστοιχείο (pixel) των δυναμικών χαρακτηριστικών της οπισθοσκεδασμένης ακτινοβολίας. Οι παραγόμενες καμπύλες ένταση-χρόνος εκφράζουν το ρυθμό πρόσληψης του διαγνωστικού δείκτη. Η εικόνα πριν την εφαρμογή του δείκτη αφαιρείται από αυτήν που λαμβάνεται στο peak (στο μέγιστο) της πρόσληψης για την παραγωγή μιας νέας εικόνας η οποία εκφράζει τη χωρική κατανομή της επαγόμενης από το δείκτη μέγιστης αλλαγής των οπτικών χαρακτηριστικών.

Στη συνέχεια υπολογίζεται πάνω σε αυτή τη νέα εικόνα, ένας πολύ σημαντικός παράγοντας, αυτός του gradient που μας βοηθά να υλοποιήσουμε μια διαδικασία edge detection σε ολόκληρη την εικόνα. Θέτουμε επίσης και ένα κατώφλι στην εικόνα του gradient που θα μας βοηθήσει να απομονώσουμε καλύτερα την εικόνα που θέλουμε. Έπειτα συνδυάζουμε τα στοιχεία της έντασης της αρχικής εικόνας με το μέγεθος gradient εφαρμόζοντας στο συνδυασμό αυτό κάποια ποσοστά-βάρη. Στην εικόνα που προκύπτει πραγματοποιούμε ψευδοχρωματισμό ώστε να διαχωρίσουμε τέσσερις κλάσεις εντάσεων και υπολογίζουμε και τα αντίστοιχα ιστογράμματα. Τελικά, χαρακτηρίζεται το συνολικό demarcation της βλάβης με μία και μοναδική παράμετρο.

Η παράμετρος αυτή υπολογίστηκε σε 219 περιστατικά με ιστολογικά επιβεβαιωμένες (μέσω βιοψίας) χαμηλού και υψηλού βαθμού νεοπλασίας (low-high grade neoplasia) του τραχήλου της μήτρας. Βρέθηκε ότι μέσω της παραμέτρου αυτής είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των νεοπλασμάτων αυτών, ποσοτικά και αντικειμενικά και με ικανοποιητικό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας. Η δυνατότητα της νέας αυτής μεθόδου να εκτιμά επίσης τον κίνδυνο μετάστασης πρέπει να επιβεβαιωθεί με μια σειρά νέων κλινικών δοκιμών.

## Δομή της εργασίας

### Κεφάλαιο 1:

Στο πρώτο κεφάλαιο, αναφερόμαστε στα κίνητρα και το αντικείμενο της εργασίας. Αρχικά αναφέρουμε μερικές πληροφορίες όσο αφορά την ανατομία του αναπαραγωγικού συστήματος της γυναίκας καθώς και πληροφορίες σχετικά με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Επίσης αναφέρονται πληροφορίες για τις μεθόδους διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας που υπάρχουν σήμερα, τόσο in vitro, όσο και in vivo, αλλά και μεθόδους θεραπείας του. Αναφέρονται τέλος και οι βασικές αρχές που διέπουν την ποσοτική παθολογία.

### Κεφάλαιο 2:

Στο δεύτερο κεφάλαιο κάνουμε μια πλήρη περιγραφή του ιατρικού μηχανήματος DYSIS από το οποίο και λάβαμε της ιατρικές εικόνες που επεξεργαζόμαστε στη συνέχεια της εργασίας. Στη συνέχεια, αναφέρουμε τις φυσικές αρχές στις οποίες στηρίζεται η πειραματική μας μελέτη καθώς και τους τρόπους αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με τον ιστό. Επίσης παρουσιάζουμε τις γενικές έννοιες της υπερφασματικής απεικόνισης και της ταξινόμησης των υπερφασματικών δεδομένων.

### Κεφάλαιο 3:

Στο τρίτο κεφάλαιο αναφέρεται το θεωρητικό υπόβαθρο, στο οποίο στηριχθήκαμε για τη μελέτη και την ανάλυση της εργασίας. Αναφέρονται περιληπτικά οι έννοιες των εικόνων και της αντίληψής τους από την ανθρώπινη όραση. Στο κεφάλαιο αυτό, παρουσιάζονται και οι πρώτες δοκιμές που έγιναν κατά την επεξεργασία των ιατρικών εικόνων με μεθόδους ανίχνευσης ακμών, τμηματοποίησης εικόνων μέσω του ιστογράμματος τους, color segmentation, classification και υψής. Δείχνουμε και τα αποτελέσματα που προέκυψαν για χαρακτηριστικές εικόνες μετά την εφαρμογή των παραπάνω δοκιμαστικών μεθόδων.

### Κεφάλαιο 4:

Στο τέταρτο κεφάλαιο πραγματοποιείται επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων. Το κεφάλαιο αυτό περιλαμβάνει τον αλγόριθμο επεξεργασίας ανά εικόνα ασθενή. Αναφέρεται ο αλγόριθμος επεξεργασίας της εικόνας, με όλες τις παραδοχές που έχουν γίνει και ερμηνεύεται η επιλογή των χαρακτηριστικών που εξάγονται από κάθε εικόνα. Κατά την περιγραφή του αλγορίθμου παρατίθενται και χαρακτηριστικά παραδείγματα εικόνων όπου φαίνεται βήμα – βήμα η επεξεργασία σε αυτά προς εξαγωγή τελικών παραμέτρων.

## Κεφάλαιο 5:

Στο πέμπτο κεφάλαιο περιγράφεται η επιλογή των τελικών παραμέτρων κάθε εικόνας, αναφερόμενοι σε εκείνες τις περιοχές της κάθε εικόνας που έχουν AW και όπου υπολογίζονται οι τελικές παράμετροι του demarcation. Αναφέρεται ο υπολογισμός των τελικών παραμέτρων του demarcation για κάθε εικόνα, ερμηνεύονται και αναλύονται τα αποτελέσματα για μερικές χαρακτηριστικές περιπτώσεις ασθενών. Υπολογίζονται οι παράμετροι για όλους τους ασθενείς (true positive και true negative) και των τριών νοσοκομείων (Αλεξάνδρα, Hammersmith, StMarys), γίνεται στατιστική ανάλυση, πραγματοποιείται t-Test για τις low και high grade περιπτώσεις σύμφωνα με τις τιμές δύο παραμέτρων.

## Κεφάλαιο 6:

Στο έκτο κεφάλαιο αναφέρονται τα τελικά συμπεράσματα στα οποία καταλήξαμε μετά την ολοκλήρωση της εργασίας, καθώς και προτείνονται τεχνικές βελτίωσης και τρόποι μελλοντικής έρευνας.

## Κεφάλαιο 7:

Στο έβδομο κεφάλαιο παρατίθενται ορισμένες πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το θέμα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Πληροφορίες σχετικές με τις οικονομικές διαστάσεις αλλά, και τα οικονομικά οφέλη στη δημόσια υγεία που θα έχει η οργάνωση κέντρων πρόληψης και προσυμπτωματικού ελέγχου του γυναικολογικού καρκίνου.

## Παράρτημα A:

Στο παράρτημα A δίνεται ο τελικός συνολικός πίνακας με τις αριθμητικές παραμέτρους που αποδίδονται σε όλους τους ασθενείς του νοσοκομείου Αλεξάνδρα, καθώς και οι τελικές εικόνες, των πιο χαρακτηριστικών από αυτούς, μετά από της εφαρμογή του παραπάνω αλγόριθμου.

## Παράρτημα B:

Στο παράρτημα B παραθέτουμε τον τελικό αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας και εξαγωγής χαρακτηριστικών που εφαρμόσαμε στη διπλωματική αυτή εργασία, αλλά και πληροφορίες σχετικά με τα αρχεία BMP, (τύπος αρχείων εικόνων που εξάγονται από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS), και επεξηγήσεις σχετικά με τον κώδικα MATLAB που εφαρμόσαμε.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη

Λίστα εικόνων – πινάκων

Συνομεύσεις

Επεξηγήσεις

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Κίνητρα και Αντικείμενο της εργασίας

Ανατομία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος  
Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας  
Θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας  
Τεστ Παπανικολάου  
Τεχνικές διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (in vitro)  
Ποσοτική παθολογία  
Τεχνικές διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (in vivo)

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Θεωρητικό υπόβαθρο

Ιατρικό μηχάνημα DYSIS  
Αλληλεπίδραση φωτός και ιστού  
Υπερφασματική απεικόνιση και αλγόριθμοι ταξινόμησης

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Ψηφιακή επεξεργασία εικόνας

Εικόνες και ανθρώπινη αντίληψή τους  
Ορισμός ψηφιακής εικόνας  
Ανίχνευση ακμών (edge detectors)  
Τμηματοποίηση εικόνων-ιστόγραμμα  
Color segmentation  
Υφή ψηφιακής εικόνας  
Ταξινόμηση εικόνας (Classification)

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Επεξεργασία και Ανάλυση Δεδομένων – Αλγόριθμοι υλοποίησης

Ερμηνεία χαρακτηριστικών και εξαγωγή παραμέτρων  
Αλγόριθμος εξαγωγής χαρακτηριστικών για κάθε εικόνα

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Αποτελέσματα

Στατιστικές παράμετροι  
Επιλογή των τελικών παραμέτρων κάθε εικόνας  
Αποτελέσματα και ερμηνεία των αποτελεσμάτων  
Αποτελέσματα – Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Συμπεράσματα

Τεχνικές βελτίωσης και Μελλοντική Έρευνα

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πρόσθετες πληροφορίες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α: Στοιχεία για τις ιατρικές εικόνες  
Αποτελέσματα εικόνων ανά ασθενή

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β: Αλγόριθμος εξαγωγής χαρακτηριστικών  
Επεξηγήσεις για τις εικόνες BMP  
Επεξηγήσεις MATLAB

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ – ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

## Λίστα εικόνων

Εικόνα 1: Διάγραμμα του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος---Πλευρική όψη του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος για να φανεί η συσχέτιση μεταξύ του ορθού και της ουροδόχου κύστης

Εικόνα 2: Περιληψη του εμμηνορρυσιακού κύκλου

Εικόνα 3: Τράχηλος άτοκης γυναίκας---Τράχηλος πολύτοκης γυναίκας---Τράχηλος γυναίκας στην εμμηνόπαυση

Εικόνα 4: Μορφή των κυττάρων στα τοιχώματα και την εξωτερική επιφάνεια του τραχήλου

Εικόνα 5: Η αδενοπλακώδης συμβολή του εξωτραχήλου στην περίοδο της προεφηβείας, της ενηλικίωσης και κατά την εμμηνόπαυση

Εικόνα 6: Ιστολογικό τμήμα που δείχνει την αδενοπλακώδη συμβολή, η περιοχή αυτή είναι επιρρεπής στις ορμονικές αλλαγές και της αλλαγές της θέσης κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής

Εικόνα 7: Ιστολογικό τμήμα του ενδοτραχηλικού σωλήνα, και τραχηλική βλέννη

Εικόνα 8: Κιονοειδές επιθήλιο σε μεγαλύτερη μεγέθυνση

Εικόνα 9: Το ώριμο πλακώδες επιθήλιο αποτελείται από 10-20 στοιβάδες επιθηλιακών κυττάρων που μπορούν εύκολα να χωριστούν σε τρεις ζώνες:

1. το επιφανειακό στρώμα που αποτελείται από τα πιο ώριμα κύτταρα
2. το ενδιάμεσο στρώμα

η βασική στοιβάδα αποτελείται από το πλακώδες επιθήλιο

Εικόνα 10: Πλακώδες επιθήλιο (απόκριση οιστρογόνων), πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου κάτω από την επίδραση προγεστερόνης, πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου μετά από την εμμηνόπαυση

Εικόνα 11: Ιστολογικό τμήμα που δείχνει στην πρώτη εικόνα: υπερπλασία αποθεματικών κυττάρων στο επιθήλιο του τραχήλου, στη δεύτερη εικόνα ανώριμη παλκώδης μεταπλασία του επιθηλίου του τραχήλου, στην τρίτη εικόνα ώριμη πλακώδης μεταπλασία του επιθηλίου του τραχήλου και στην τέταρτη εικόνα μεταπλαστικές αλλαγές από το κιονοειδές στο πλακώδες επιθήλιο στον τράχηλο της μήτρας

Εικόνα 12: Αδενοπλακώδης συμβολή πριν την εφηβεία, αναστροφή του ενδοτραχηλικού επιθηλίου στην εφηβεία και κατά την πρώτη εγκυμοσύνη, μεταπλασία στη ζώνη μετάπλασης, μετατόπιση της αδενοπλακώδους συμβολής στο ενδοτραχηλικό κανάλι μετά την εμμηνόπαυση

Εικόνα 13α-13β: Σωληνοειδής μεταπλασία του τραχήλου (ιστολογική και κυτταρολογική εικόνα)

Εικόνα 14: Στάδια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Εικόνα 15: Ανατομικά στάδια της εξέλιξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Εικόνα 16: Δομή επιθηλιακού ιστού σε παθογόνα και μη κύτταρα

Εικόνα 17: Χαμηλού και υψηλού επιπέδου αλλοιώσεις του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Εικόνα 18: Οι τιμές είναι τυποποιημένες σύμφωνα με την κατανομή του παγκόσμιου πληθυσμού το 1960. Σημειώνουμε ότι στην Αφρική, στη την κεντρική και νότια Αμερική και στην Καραϊβική υπάρχει η υψηλότερη συχνότητα. Τα χαμηλότερα ποσοστά υπάρχουν στη Φιλανδία, τις Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά, την Αυστραλία, το Ηνωμένο Βασίλειο και τις Κάτω Χώρες

Εικόνα 19: Ακαθάριστο ποσοστό θνησιμότητας. Επεμβατικός καρκίνος της μήτρας στις χώρες της Ευρώπης για γυναίκες > 30 ετών. Σημειώνουμε ότι οι χώρες με καθιερωμένα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου, όπως η Φινλανδία και η Σουηδία καταδεικνύουν μείωση της θνησιμότητας, όπου, όπως στη Ρουμανία και τη Βουλγαρία ο αριθμός των θανάτων αυξάνονται

Εικόνα 20: Στατιστική αναπαράσταση των περιστατικών γυναικών με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας σε παγκόσμια κλίμακα

Εικόνα 21: Βήματα της γυναικολογικής εξέτασης κατά Παπανικολάου

Εικόνα 22: Pap Test

Εικόνα 23: Κολποσκόπιο

Εικόνα 24: Κολποσκοπική Εξέταση

Εικόνα 25: Βιοψία διατρήσεων

Εικόνα 26: Κώνος βιοψία

Εικόνα 27: Χημική δομή του οξικού οξέος

Εικόνα 28: Η εικόνα δείχνει α) ψηφιοποιημένο τραχηλογράφημα με ορατή τη ζώνη μετασχηματισμού (TZ) και το πλακώδες επιθήλιο (SE) του φυσιολογικού τραχήλου, β) το τραχηλικό κανάλι ή άνοιγμα (cervical canal-os, CC) φαίνεται κεντρικά και περιβάλλεται από τη ζώνη μετασχηματισμού (TZ), γ) το κιονοειδές επιθήλιο (CE) έχει εξέχουσα χνοώδη δομή

Εικόνα 29: Τα βασικά μέρη ενός ψηφιακού ηλεκτρο-οπτικού συστήματος για απεικόνιση in vivo του τραχηλικού καρκίνου, απεικονίζοντας τη διαδικασία συλλογής των δεδομένων, προ-επεξεργασία, απόκτησης δεδομένων, μετά-επεξεργασία, συγκέντρωση χαρακτηριστικών και ποσοτική εκτίμηση, ταξινόμηση και υποστήριξη βασισμένη σε υπολογιστή για τη διάγνωση και τα προ-καρκινικά στάδια

Εικόνα 30: Ένα μοντέλο φωτισμού για το σχηματισμό της εικόνας του τραχήλου στο ψηφιακό κολποσκόπιο. Η προσπίπτουσα πηγή είναι ευρυζωνικό φως

Εικόνα 31: Χρονική ακολουθία εικόνων από τράχηλο με διαπιστωμένο μέσω βιοψίας CIN2/3 στην αριστερή, πλευρική περιοχή από το τραχηλικό άνοιγμα, σημειωμένο με ένα βέλος στη δεύτερη εικόνα. Οι εικόνες λήφθηκαν (a) αμέσως μετά την εφαρμογή οξικού οξέος, (b) 20sec αργότερα, (c) 60sec αργότερα, (d) 80sec αργότερα, (e) 6min αργότερα και (f) 9.5min αργότερα

Εικόνα 32: Η ένταση ανάκλασης ως συνάρτηση του χρόνου μετά την εφαρμογή οξικού οξέος σχεδιάζεται από μια περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) σε έναν ασθενή. Οι περιοχές ενδιαφέροντος (ROIs) είναι διαπιστωμένες μέσω βιοψίας τραχηλικές ενδοεπιθηλιακές νεοπλασίες CIN2/3 και φυσιολογική περιοχή ώριμου πλακώδους επιθηλίου. Οι τιμές των δεδομένων είναι κανονικοποιημένες ως προς τη μέση ένταση όλων των χρονικών ακολουθιών. Στην εικόνα (b) το ποσοστό της μπλε προς κόκκινης έντασης παρουσιάζεται για τα ίδια δεδομένα, στην εικόνα (c) παρουσιάζεται το ποσοστό της πράσινης προς την κόκκινη ένταση και στην εικόνα (d) παρουσιάζεται το ποσοστό της μπλε προς πράσινης έντασης

Εικόνα 33: Κυματομορφές του κανονικοποιημένου ποσοστού πράσινης προς κόκκινης έντασης ως συνάρτηση του χρόνου μετά την εφαρμογή οξικού οξέος, για (a) έξι περιπτώσεις CIN2/3 και (b) για έξι περιπτώσεις ώριμου πλακώδους επιθηλίου

Εικόνα 34: Το ποσοστό της πράσινης προς την κόκκινη ανάκλαση φωτός φαίνεται χρησιμοποιώντας όλα τα δεδομένα από τους ασθενείς στην προηγούμενη εικόνα υπολογισμένα από κοινού κατά μέσο όρο. Όπου τα σημεία είναι υπολογισμένα κατά μέσο όρο για χρονικό διάστημα 100sec ώστε να παρέχεται η γενική τάση με μια ομαλοποίηση (smoothing) των δεδομένων. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν το πρότυπο σφάλμα ανάμεσα στους ασθενείς για αυτά τα υπολογισμένα κατά μέσο όρο των σημείων δεδομένων

Εικόνα 35: Δύο μέθοδοι για διαχωρισμό των δεδομένων παρουσιάζονται: (a) απεικόνιση των υπολογισμένων κλίσεων του σήματος ως προς το χρόνο χρησιμοποιώντας το ποσοστό των πράσινων προς των κόκκινων εντάσεων διαχωρισμένων στις πρώιμες χρονικές στιγμές (x άξονας) και τις ύστερες χρονικές στιγμές (άξονας y). Το δεύτερο γράφημα (b) χρησιμοποιεί τις μέσες τιμές έντασης για τις πρώιμες χρονικές στιγμές (x άξονας) και τις ύστερες χρονικές στιγμές (άξονας y). Κάθε σημείο σε αυτά τα γραφήματα αντιπροσωπεύει μια περιοχή ενδιαφέροντος ενός ασθενή επεξεργασμένο σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης

Εικόνα 36: Προ-εφαρμογής οξικού οξέος άσπρου φωτός εικόνες από δύο ασθενείς (αριστερή στήλη) με ιστοπαθολογικό χάρτη (δεξιά στήλη). Οι τελείες στην αριστερή υποδηλώνουν τις περιοχές που τυχαία επιλέγονται για χρήση στην κατηγοριοποίηση της χωροθέτησης περιοχών. Ο τύπος ιστού σε αυτά τα σημεία αποφασίζεται σύμφωνα με τον ιστοπαθολογικό χάρτη. Ο ιστοπαθολογικός χάρτης περιλαμβάνει μια εικόνα από μια H&E χρωματισμένη ιστοπαθολογική περιοχή μετά από LEEP δειγματοληψία. Το επιθήλιο σε αυτές τις περιοχές είναι κωδικοποιημένο με χρώμα σύμφωνα με την ιστοπαθολογική διάγνωση, με μπλε δηλώνεται το φυσιολογικό επιθήλιο, με πράσινο η βλάβη CIN1 και CIN2 και με κόκκινο η βλάβη CIN3. Περιοχές με ελλίπες επιθήλιο χρωματίζονται ως άσπρες

Εικόνα 37: Ιστόγραμμα και box σχεδιάγραμμα (σχεδιάγραμμα τύπου κουτί) που δείχνει το ποσοστό ανάκλασης στο πράσινο κανάλι προς αυτό στο κόκκινο κανάλι πριν και μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Το (a) ιστόγραμμα και (b) το box σχεδιάγραμμα των ιστοπαθολογικά φυσιολογικών δειγμάτων υποδεικνύουν μικρές αλλαγές σε αυτό το χαρακτηριστικό, ενώ το (c) ιστόγραμμα και (d) το box σχεδιάγραμμα αυτού του χαρακτηριστικού αυξάνουν σημαντικά μετά την εφαρμογή οξικού οξέος για ιστολογικά μη φυσιολογικά δείγματα

Εικόνα 38: ROC (Receiver Operating Characteristic) καμπύλες για πολυ-κατηγοριοποιημένο διαχωρισμό των high grade αλλοιώσεων του πλακώδους επιθηλίου ως προς φυσιολογικά ή low grade δείγματα αλλοιώσεων πλακώδους επιθηλίου για τρία διαφορετικά σύνολα δεδομένων-δειγμάτων

Εικόνα 39: Αποτελέσματα ταξινόμησης εικόνων για έναν ασθενή με CIN1,2,3 αλλοιώσεις χρησιμοποιώντας την προτεινόμενη προσέγγιση κατηγοριοποίησης εικόνας

Εικόνα 40: Αποτελέσματα ταξινόμησης εικόνων για έναν ασθενή με φυσιολογικό τράχηλο μήτρας χρησιμοποιώντας την προτεινόμενη προσέγγιση κατηγοριοποίησης εικόνας

Εικόνα 41: ROC καμπύλες κατηγοριοποίησης εικόνων για 29 ασθενείς. Η καλύτερη τιμή κατωφλίου (0.68) αξιολογείται από το σημείο του μέσου όρου της ROC καμπύλης αντιστοιχώντας σε 82% ευαισθησία και 73% ειδικότητα

Εικόνα 42: Αποτελέσματα διάγνωσης για 29 ασθενείς βασισμένα σε αυτοματοποιημένες εικόνες, για φυσιολογικό επιθήλιο, ή LGSIL, ή HGSIL μετά από LEEP διαδικασία. Εφαρμόζεται ένα κατώφλι στον πίνακα πιθανοτήτων της ασθένειας και εκείνες οι περιοχές που έχουν διαγνωσθεί ως φυσιολογικές παρουσιάζονται ως μαύρες, ενώ οι περιοχές που έχουν διαγνωσθεί ως high grade παρουσιάζονται ως γκρι. Η περιοχή που περικλείεται από μια άσπρη γραμμή αντιπροσωπεύει την CIN2/3 περιοχή του παθολογικού χάρτη. Ο αλγόριθμος απέδωσε 7 true negative αποτελέσματα, ένα false positive αποτέλεσμα, 15 true positive αποτελέσματα και 6 false negative αποτελέσματα

Εικόνα 43: Υψηλής ανάλυσης ψηφιακό κολποσκόπιο με ικανότητα πολωμένης απεικόνισης

Εικόνα 44: Διάγραμμα ροής της αυτοματοποιημένης ανάλυσης εικόνας

Εικόνα 45: Παράδειγμα εξαγωγής ανατομικών χαρακτηριστικών ενδιαφέροντος σε τραχηλικές εικόνες: άσπρο περίγραμμα, τραχηλική περιοχή, πράσινη, τραχηλικό άνοιγμα και μπλε κιονοειδές επιθήλιο. (a) αποτελέσματα αλγόριθμου και (b) σχολιασμός από ειδικό κολποσκόπιο

Εικόνα 46: Εξαγωγή acetowhite χρωματικής περιοχής (a) ιστόγραμμα 2-peak έντασης από ομοιογενές τραχηλικό ιστό και (b) ο ομοιογενής ιστός τμηματοποιείται ως acetowhite περιοχή (γκρι) και η ώριμη πλακώδης περιοχή (άσπρη) χρησιμοποιεί χρωματική πληροφορία. Η σκούρα περιοχή εντός της τραχηλικής περιοχής αντιστοιχεί στο τραχηλικό άνοιγμα, το κιονοειδές επιθήλιο και την περιοχή υφής

Εικόνα 47: Acetowhite ανάλυση χρώματος: (a) δυαδικός χάρτης της περιοχής υφής, (b) δυαδικός χάρτης των συνδυασμένων περιοχών υφής και acetowhite χρώματος, (c) αυτοματοποιημένη 3-επιπέδων ταξινόμηση χρησιμοποιώντας τη χρωματική πληροφορία

Εικόνα 48: Ελαστική εικόνα καταγραφής (a) πριν οξικού οξέος εικόνα, (b) μετά οξικού οξέος εικόνα, (c) ευθυγραμμισμένη προ οξικού οξέος εικόνα, και (d) εμφάνιση της κίνησης του μαλακού ιστού μετά την ερμηνεία

Εικόνα 49: Ανάλυση αδιαφάνειας: (a) διαφορά στο G κανάλι του RGB χρωματικού χώρου, και (b) διαφορά στο a κανάλι του CIE-Lab χρωματικού χώρου

Εικόνα 50: (a) acetowhite ανάλυση αδιαφάνειας, μπλε αδιαφάνεια, πράσινη ενδιάμεση αδιαφάνεια, (b) τελική ανίχνευση acetowhite επιθηλίου, μπλε-πρώτο επίπεδο του άσπρου, πράσινο-δεύτερο επίπεδο του άσπρου, (c) κολποσκοπικός σχολιασμός, μπλε-αδιαφάνεια άσπρου, πράσινη-ενδιάμεση αδιαφάνεια άσπρου και, (d) ιστοπαθολογικά αποτελέσματα: άσπρο-φυσιολογικό, μαύρο-όχι επιθήλιο / καμένο επιθήλιο, μπλε-LSIL, κόκκινο-HSIL

Εικόνα 51: Συσχέτιση ανάμεσα στα στοιχεία αδιαφάνειας και το φάσμα ασθένειας από 99 ανθρώπινα δείγματα

Εικόνα 52: ROC καμπύλες για το διαχωρισμό high-grade (CIN2 και παραπάνω) αλλοιώσεων από φυσιολογικές και low-grade αλλοιώσεις χρησιμοποιώντας δείγματα αδιαφάνειας

Εικόνα 53: Σχήμα ανάλυσης δεδομένων

Εικόνα 54: Acetowhite response functions. Στα δεξιά, τα χρονικά στιγμιότυπα παρατηρούμενα στα pixels υποδηλώνονται από τελείες στην αριστερή εικόνα. Όπως μπορεί να εκτιμηθεί, διαφορετικοί τύποι ιστών παράγουν Awrf με διαφορετικό ποσοστό αλλαγής, ταχύτητα αύξησης και μείωσης. Δίπλα σε κάθε γραμμή Awrf φαίνεται και το πολυωνμικό του μοντέλο

Εικόνα 55: Διεπαφή συγκέντρωσης γραφικών. Χρησιμοποιώντας αυτό το εργαλείο, ο χρήστης μπορεί να σημειώσει μια ετικέτα σε κάθε αντιπροσωπευτική περιοχή του ιστού. Η συνάρτηση Awrf κάθε επιλεγμένου pixel της εικόνας εμφανίζεται σε ένα ξεχωριστό παράθυρο. Σε μια semi-supervised εκδοχή, για κάθε επιλεγμένο pixel, προτείνεται στο χρήστη ένα σύνολο από pixels με παρόμοια συνάρτηση Awrf ώστε να απλοποιηθεί η διαδικασία σημείωσης με ετικέτες των κλάσεων

Εικόνα 56: Τμηματοποίηση κολποσκοπικών εικόνων. Η εικόνα στα αριστερά δείχνει την αρχική άγνωστη κολποσκοπική ακολουθία που δίνεται από τον ταξινομητή. Στα δεξιά, η εικόνα δείχνει τις ετικέτες (labels) που προτείνονται από το εργαλείο τμηματοποίησης. Μόνο το κεντρικό μέρος της εικόνας, σημειωμένο με τον κύκλο, αναλύεται ώστε να αποφευχθούν αντικείμενα που εισάγονται από ετερογένειες φωτισμού στην περιφέρεια

Εικόνα 57: DYSIS Diagnostic Odds Ratio (DYSIS DOR)

Εικόνα 58: Το ιατρικό μηχάνημα DYSIS

Εικόνα 59: Εικόνες που προκύπτουν κατά την εξέταση με το ιατρικό μηχάνημα DYSIS

Εικόνα 60: Ένταση του οπισθοσκεδασμένου φωτός για παθογόνα και μη κύτταρα

Εικόνα 61: Χάρτης DYSIS

Εικόνα 62: (a) RGB εικόνα τη χρονική στιγμή  $t=0$ , (b) RGB εικόνα τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  (μέγιστο AW), (c) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) της (a), (d) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) της (b), (e) subtracted ( $\tau-t(0)$ ) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) source:DYSIS

Εικόνα 63: Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

Εικόνα 64: Η καμπύλη δείχνει τη σχέση,  $E \text{ (eV)} = 1.240 / \lambda \text{ (nm)}$

Εικόνα 65: Το λευκό φως διέρχεται μέσα από το πρίσμα

Εικόνα 66: Ραδιοκύματα, μικροκύματα, υπέρυθρο (IR), ορατό, υπεριώδες (UV), ακτίνες X, ακτίνες γ

Εικόνα 67: Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Εικόνα 68: Περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

Εικόνα 69: Φαινόμενα που συμβαίνουν όταν το φως έρθει σε επαφή με κάποια επιφάνεια ενός άλλου μέσου

Εικόνα 70: Ένα φάσμα εκπομπής γεννιέται

Εικόνα 71: Ένα φάσμα απορρόφησης γεννιέται

Εικόνα 72: Γωνία πρόσπτωσης ίση με γωνία ανάκλασης---Περιπτώσεις ανάκλασης

Εικόνα 73: Οπτικές ιδιότητες των ιστών

Εικόνα 74: Απορρόφηση του φωτός από ένα δείγμα.

Εικόνα 75: Διαγράμματα Jablonski

Εικόνα 76: Η IBSL σε σχέση με το μήκος κύματος και το χρόνο που παρατηρήθηκε σε ασθενή που είχε επιθηλιακή δυσπλαστική αλλοίωση

Εικόνα 77: Παραδείγματα ιατρικών συσκευών ψηφιακής κολποσκοπησης: (A) Βιντεο-κολποσκόπιο (Olympus, Tokyo, Japan), (B) Πολυτροπική, υπερφασματική συσκευή απεικόνισης (SpectRX), (D) Truscreen (Polartechinics)

Εικόνα 78: Η διαδικασία φασματικής απεικόνισης. Σε κάθε σημείο της εικόνας, pixel αντιστοιχεί ένα χαρακτηριστικό φάσμα

Εικόνα 79: Φασματικές υπογραφές διαφόρων υλικών

Εικόνα 80: Φασματικός κύβος και φάσματα ανάκλασης για κάθε pixel

Εικόνα 81: Ένας υπερφασματικός (Hyper-spectral) κύβος

Εικόνα 82: Οι κατηγορίες φασματικής απεικόνισης

Εικόνα 83: Περιληπτικά οι διαφορές των διαφορετικών τύπων φασματικής απεικόνισης

Εικόνα 84: Απαιτούμενα βήματα από την απόκτηση του φασματικού κύβου έως την απεικόνιση ουσιάδους πληροφορίας

Εικόνα 85: Βήματα για μεθόδους Supervised και Unsupervised ταξινόμησης

Εικόνα 86: Ο φασματικός κύβος αποτελείται από ένα σύνολο εικόνων που αποκτήθηκαν σε  $N$  διαφορετικά μήκη κύματος, οι φασματικές υπογραφές αποτελούν μια συλλογή από pixel που αντιπροσωπεύουν τις κατηγορίες των υλικών με διαφορετική δομή και χημική σύνθεση. Ένας χάρτης ψευδοχρώματος αποδίδει ένα χρώμα σε ένα pixel οπτικοποιώντας την ομοιότητα με τις φασματικές υπογραφές.

Εικόνα 87: Ταξινόμηση / unmixing διαδικασία υπερφασματικών σύνολων δεδομένων. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται όσες φορές απαιτείται, με διαφορετικές επιλογές ή συνδυασμούς συνόλων εκπαίδευσης, αλγόριθμοι

για την ταξινόμηση, unmixing, επιλογή χαρακτηριστικών, κλπ.

Εικόνα 88: Ένα παράδειγμα confusion matrix για 6 κατηγορίες με 30630 συνολικά δείγματα. Η συνολική απόδοση είναι 89,09, ενώ επιμέρους ακρίβειες για κάθε κατηγορία παρέχονται επίσης.

Εικόνα 89: Η αρχική εικόνα RGB (πάνω αριστερά), που ακολουθείται από τις πρώτες 3 κύριες συνιστώσες. Η πρώτη συνιστώσα, από τη μεγαλύτερη ιδιοτιμή, περιέχει την περισσότερη πληροφορία και τη μέγιστη αντίθεση

Εικόνα 90: Κατ' ανώτατο όριο, το περιθώριο hyperplane και τα περιθώρια για μια SVM που έχει εκπαιδευτεί με δείγματα από δύο κλάσεις. Τα pixels στο περιθώριο καλούνται διανύσματα υποστήριξης (support vectors).

Εικόνα 91: Χάρτες ταξινόμησης από δύο εικόνες του παχέος εντέρου που παρουσιάζουν τις περιοχές κυττάρων ταξινομημένες ως φυσιολογικές (γκρι τιμές) και κακοήθεις (λευκές τιμές)

Εικόνα 92: (A): RGB εικόνα φθορισμού, όπου το κβαντικό σήμα είναι αόριστα ορατό ως κοκκινωπός χρωματισμός. Μη ορατός στην εικόνα είναι ο πολύ κόκκινος φθορισμός που απορρέει από χλωροφύλλη-περιέχει τροφή, μια συνήθης παρέμβαση σε απεικονίσεις μικρών ζώων. (B): Μονόχρωμη εικόνα φθορισμού στα 640nm (η μέγιστη εκπομπή). (C), (D), (E): Φασματικό unmixed σήμα, σήμα τροφής και σήμα αυτοφθορισμού του δέρματος. (F): Σύνθετη εικόνα ψευδοχρώματος του (C) κόκκινο, (D) πράσινο και (E) άσπρο.

Εικόνα 93: Γράφημα αναπαράστασης υποκειμενικού brightness συναρτήσει έντασης φωτός

Εικόνα 94: Conditional Contrast

Εικόνα 95: Ebbinghaus illusion

Εικόνα 96: Ιδανικές ακμές (Ideal edges)

Εικόνα 97: Gradient grayscale εικόνων

Εικόνα 98: Γραμμικό gradient

Εικόνα 99: Κυκλικό gradient

Εικόνα 100: Gaussian συνάρτηση και φίλτρο LoG

Εικόνα 101: 2D LoG συνάρτηση κεντραρισμένη στο μηδέν

Εικόνα 102: Προσανατολισμός ακμής

Εικόνα 103: Οι subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές edge detectors

Εικόνα 104: Μετά τον canny edge detector

Εικόνα 105: Μετά τον laplace (log) edge detector

Εικόνα 106: Μετά τον prewitt edge detector

Εικόνα 107: Μετά τον roberts edge detector

Εικόνα 108: Μετά τον sobel edge detector

Εικόνα 109: Οι subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές αλγορίθμου ανίχνευσης κλειστών χρωματικών περιοχών

Εικόνα 110: Color segmented images

Εικόνα 111: Black and white segmented images

Εικόνα 112: Παραδείγματα υφής

Εικόνα 113: Οι subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές αλγορίθμου υφής

Εικόνα 114: Εικόνες μετά την εφαρμογή entropyfilt

Εικόνα 115: Εικόνες μετά την εφαρμογή rangefilt

Εικόνα 116: Εικόνες μετά την εφαρμογή stdfilt

Εικόνα 117: subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές classifiers K-means και C-means

Εικόνα 118: Μετά τον K-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient

Εικόνα 119: Μετά τον K-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient και υφή

Εικόνα 120: Μετά τον C-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient

Εικόνα 121: Μετά τον C-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient και υφή

Εικόνα 122: Spatial profiles

Εικόνα 123: Spatial profile γραμμής και εικόνα προς εξαγωγή spatial profile

Εικόνα: 124 Spatial profiles 3 τυχαίων γραμμών της εικόνας (ασθενής 16\_72 νοσοκομείο Αλεξάνδρα)

Εικόνα 125: Υποθετικά profiles για καρκινικά κύτταρα που εκτείνονται στα πλάγια του επιθηλίου

Εικόνα 126: Υποθετικά profiles για καρκινικά κύτταρα που εκτείνονται στο βάθος του επιθηλίου

Εικόνα 127: Spatial profile φυσιολογικού – μη παθογόνου ιστού

Εικόνα 128: Low demarcated βλάβη – High demarcated βλάβη

Εικόνα 129: Spatial profile low contrast εικόνας και spatial profile high contrast εικόνας

Εικόνα 130: Τρόπος εξαγωγής των subtracted εικόνων

Εικόνα 131: Παραδείγματα subtracted εικόνων

Εικόνα 132: Εικόνες gradient των subtracted εικόνων

Εικόνα 133: Εικόνες που έχουν προκύψει μετά την εφαρμογή των βαρών 70% ένταση – 30% gradient

Εικόνα 134: Ψευδοχρωματισμένες εικόνες για τα pixels της subtracted εικόνας που έχουν gradient μεγαλύτερο από 0.04

Εικόνα 135: Ψευδοχρωματισμένες εικόνες με τις τέσσερις κλάσεις (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη)

Εικόνα 136: Ιστογράμματα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Εικόνα 137: Ασθενής 16\_72 (a) Grayscale εικόνα  $t=0$  (b) Εικόνα  $t=\max$  (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Εικόνα 138: Εικόνα gradient της subtracted εικόνας του ασθενή 16\_72

Εικόνα 139: Εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή ποσοστών 70% ένταση – 30% gradient στη subtracted εικόνα 16\_72

Εικόνα 140: Ψευδοχρωματισμένη εικόνα για τα pixels της subtracted εικόνας 16\_72 που έχουν gradient μεγαλύτερο από 0.04

Εικόνα 141: Ψευδοχρωματισμένη εικόνα της subtracted εικόνας 16\_72 με τις τέσσερις κλάσεις (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη)

Εικόνα 142: Ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels για την ασθενή 16\_72

Εικόνα 143: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 16\_72

Εικόνα 144: Ασθενής 84\_208 (a) Grayscale εικόνα  $t=0$  (b) Εικόνα  $t=\max$  (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Εικόνα 145: Για την ασθενή 84\_208: εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση.

Εικόνα 146: Ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels για την ασθενή 84\_208

Εικόνα 147: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 84\_208

Εικόνα 148: Ασθενής 54\_139(a) Grayscale εικόνα  $t=0$  (b) Εικόνα  $t=\max$  (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Εικόνα 149: Για την ασθενή 54\_139: εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Εικόνα 150: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 54\_139

Εικόνα 151: Για την ασθενή 28\_107: subtracted εικόνα, εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Εικόνα 152: Χάρτης DYSIS για την ασθενή 28\_107

## Λίστα πινάκων

Πίνακας 1: Στάδιο και FIGO περιγραφή της εξέλιξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Πίνακας 2: Στάδια αλλοίωσης και ιστολογική περιγραφή του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Πίνακας 3: Σύγκριση μεθόδων εξέτασης του HPV και της κλασσικής κυτταρολογίας

Πίνακας 4: Η επίδοση των συστημάτων ανάλυσης εικόνας συγκρινόμενη με τον κολποσκοπικό σχολιασμό

Πίνακας 5: Confusion matrix

Πίνακας 6: Βάση δεδομένων (database)

Πίνακας 7: Επιδόσεις της κατηγοριοποίησης

Πίνακας 8: DYSIS DOR

Πίνακας 9: Μάσκα 3x3

Πίνακας 10: Μάσκα υλοποίησης της σχέσης  $G_R(n, m) = (x_1 + x_2 + x_8) - (x_4 + x_5 + x_6)$

Πίνακας 11: Μάσκα υλοποίησης της σχέσης  $G_R(n, m) = (x_1 + 2x_1 + x_8) - (x_4 + 2x_5 + x_6)$

Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά παραδείγματα υπολογισμού των  $G_R(n, m)$  και  $G_C(n, m)$  χωρίς συντελεστή κανονικοποίησης

Πίνακας 13: Αντιστοιχία των χρωμάτων στο χάρτη DYSIS

## ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ

AW = Acetowhitening

DySIS = Dynamic Spectral Imaging System (Σύστημα δυναμικής φασματικής απεικόνισης)

TZ = Transformation zone (Ζώνη μετασχηματισμού)

CIN = Cervical intraepithelial neoplasia (Τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία)

SIL = Squamous intraepithelial lesion (Πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση)

MSA = Multivariate statistical algorithm (Στατιστικός αλγόριθμος πολλών μεταβλητών)

LG = Low grade (Χαμηλός βαθμός)

HG = High grade (Υψηλός βαθμός)

MLP = Multilayer perceptron (Πολυστρωματικό νευρωνικό)

NN = Neural network (Νευρωνικό δίκτυο)

RBF = Radial basis function (Συνάρτηση ακτινωτής βάσης)

ROC = Receiver operator curve

MHI = Multimodal hyperspectral imaging (Πολυτροπική υπερφασματική απεικόνιση)

DOR = Diagnostic odds ratio (Ποσοστό διαγνωστικής πιθανότητας)

RCI = Reids colposcopic index

ROI = Region of interest (Περιοχή ενδιαφέροντος)

SNR = Signal to noise ratio (Λόγος σήματος προς θόρυβο)

DVI = Direct visual inspection (Άμεση οπτική επιθεώρηση)

HPV = Human papillomavirus

HGSIL = High grade squamous intraepithelial lesion (Υψηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση)

LGSIL = Low grade squamous intraepithelial lesion (Χαμηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση)

SVM = Support vector machine

GMM = Gaussian mixture model

ML = Machine learning

K-NN = K-nearest neighbor

Awrf = Acetowhite response function (Συνάρτηση acetowhite απόκρισης)

SE = Squamous epithelial (Πλακώδες επιθήλιο)

CE = Columnar epithelial (Κινοειδές επιθήλιο)

PCR = Polymerase chain reaction (Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης)

NADH = Nicotinamide adenine dinucleotide

FAD = Flavin adenine dinucleotide

ODS = Optical detection system (Σύστημα οπτικής ανίχνευσης)  
Test Pap = Τεστ Παπανικολάου  
DNA = Deoxyribonucleic acid (δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ)  
FSH = Θυλακιοτρόπος ορμόνη  
LH = Ωχρινοτρόπος ορμόνη  
HRT = Ορμονική θεραπεία αντικατάστασης  
ECC = Endocervical curettage (Ενδοτραχηλική απόξεση)  
LLETZ = Μεγάλη εκτομή βρόχου της ζώνης μετασχηματισμού  
CBC = Γενική αίματος  
CT = Αξονική τομογραφία  
MRI = Απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού  
PET = Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων  
IVP = Ενδοφλέβια πυελογραφία  
FIGO = Παγκόσμια ομοσπονδία μαιευτικής και γυναικολογίας  
WHO = Παγκόσμιος οργανισμός υγείας  
CAD = Computer aided design  
LED = Light emitting diode (Δίοδος εκπεμπόμενου φωτός)  
IR = Infrared (Υπέρυθρο)  
UV = Ultraviolet (Υπεριώδες)  
NIR = Near infrared (Κοντά στο υπέρυθρο)  
CCD = Charged coupled device  
RGB = Red Green Blue (Κόκκινο Πράσινο Μπλε)  
PDF = Συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας  
PCA = Principal component analysis  
CV = Cross validation  
LOOCV = Leave one out cross validation  
H&E = Hematoxylin-Eosin  
FCM = Fuzzy C-Means  
OCR = Optical Character Recognition  
IBSL = Intensity of back scattered light (Ένταση οπισθοσκεδασμένου φωτός)

## Επεξηγήσεις

True Positive: είναι τα θετικά τεστ που προέρχονται από πληθυσμό των εχόντων την ασθένεια.

True Negative: είναι τα αρνητικά τεστ που προέρχονται από πληθυσμό των μη εχόντων την ασθένεια.

False Positive: είναι τα θετικά τεστ που προέρχονται από πληθυσμό των μη εχόντων την ασθένεια.

False Negative: είναι τα αρνητικά τεστ που προέρχονται από πληθυσμό των εχόντων την ασθένεια.

in vivo: εξέταση ιστών εντός ζωντανού οργανισμού

in vitro: εξέταση ιστών εκτός ζωντανού οργανισμού

Sensitivity (Ευαισθησία): αριθμός ατόμων με θετικό τεστ και νόσο προς τον αριθμό των ατόμων με νόσο.

Specificity (Ειδικότητα): αριθμός ατόμων με αρνητικό τεστ και χωρίς νόσο προς τον αριθμό ατόμων χωρίς νόσο.

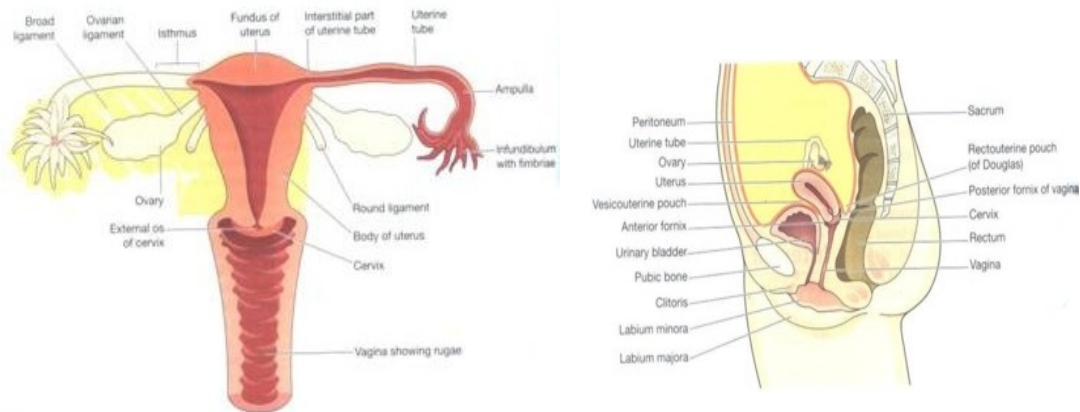
PPA: αριθμός των true positive τεστ προς το άθροισμα των true positive συν false negative τεστ.

NPA: αριθμός των true negative τεστ προς το άθροισμα των true negative συν false positive τεστ.

outlier: Δεδομένα τα οποία είναι αριθμητικά απομακρυσμένα από τα υπόλοιπα δεδομένα.

## Το γυναικείο γεννητικό σύστημα

Τα όργανα του γυναικείου γεννητικού συστήματος βρίσκονται στην πύελο και συμπεριλαμβάνουν τις ωothήκες, τις σάλπιγγες, την μήτρα, τον τράχηλο της μήτρας και τον κολεό. Απεικονίζονται στο διάγραμμα που ακολουθεί. Η πρόσθιο-οπίσθια θέση δείχνει την σχέση των οργάνων του γυναικείου γεννητικού συστήματος με την ουροδόχο κύστη και το ορθό έντερο.



Εικόνα 1: Διάγραμμα του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος ----- Πλευρική όψη του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος για να φανεί η συσχέτιση μεταξύ του ορθού και της ουροδόχου κύστης

## Οι ωothήκες

Οι ωothήκες είναι ζεύγος οργάνων τοποθετημένες εκατέρωθεν της μήτρας και προσκείμενες στα πλευρικά τοιχώματα της πυέλου. Είναι υπεύθυνες για την ωογένεση και την κυκλική απελευθέρωση του ωαρίου στην γυναίκα μετά την εφηβική ηλικία. Οι ωothήκες είναι όργανα με ενδοκρινική λειτουργία που παράγουν ορμόνες, οιστρογόνα και προγεστερόνη τα οποία ελέγχουν την ωρίμανση των ωοθυλακίων και προετοιμάζουν την μήτρα για την υποδοχή του γονιμοποιημένου ωαρίου. Η παραγωγή των οιστρογόνων και της προγεστερόνης ελέγχεται από τις γοναδοτρόπες ορμόνες, την θυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH) και την ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH) που παράγονται από την υπόφυση. Η FSH και η LH ρυθμίζουν την παραγωγή των οιστρογόνων και της προγεστερόνης με έναν μηχανισμό ανάδρομης τροφοδότησης.

## Ωαγωγός (Σάλπιγγα)

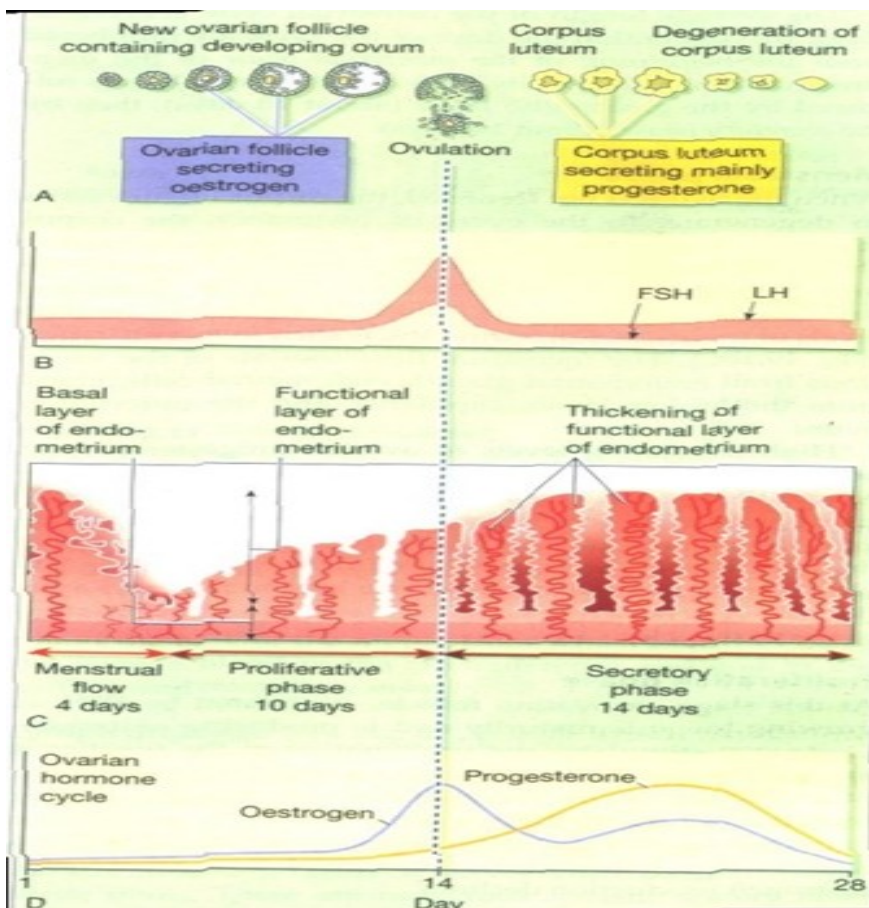
Οι ωαγωγοί (σάλπιγγες) είναι δύο ινομυώδεις σωλήνες με μήκος περίπου 5 ίντσες (10 εκατοστά), που οδηγούν το ωάριο από την επιφάνεια της ωothήκης στην κοιλότητα της μήτρας. Το κοιλιακό τους άκρο, ο κώδωνας ή χοάνη περιβάλλει την επιφάνεια της ωothήκης και με τις προσεκβολές του (κροσσιό) οδηγούν το ωάριο στον σωλήνα, το οποίο μεταφέρεται με ελαφρές περισταλτικές κινήσεις και με το κροσσωτό επιθήλιο που καλύπτει τις σάλπιγγες. Ο βλεννογόνος του ωαγωγού σε διατομή παρουσιάζει πτυχές με διακλαδώσεις οι οποίες παρέχουν περιβάλλον κατάλληλο για γονιμοποίηση.

## Η μήτρα

Η μήτρα έχει σχήμα αχλαδιού. Βρίσκεται ανάμεσα στην ουροδόχο κύστη και το απευθυσμένο. Στην άτοκη γυναίκα έχει μήκος 3 ίντσες (7 εκατοστά) και φυσιολογικά βρίσκεται σε θέση με πρόσθια έγκληση. Το επάνω τμήμα της μήτρας είναι ο πυθμένας, ενώ το μεγαλύτερο κεντρικό της τμήμα ονομάζεται σώμα της μήτρας. Το κατώτερο στενό τμήμα ονομάζεται τράχηλος μήτρας, ο οποίος οδηγεί στον κολεό. Ο πυθμένας και το σώμα της μήτρας έχουν παχύ μυϊκό τοίχωμα (το μυομήτριο) το οποίο γίνεται ακόμη παχύτερο στην εγκυμοσύνη και ο βλεννογόνος (το ενδομήτριο) είναι ικανός να υποστηρίξει το αναπτυσσόμενο έμβρυο.

Ο βλεννογόνος της μήτρας, το ενδομήτριο έχει ψευδοπολύστιβο κυλινδρικό κροσσωτό επιθήλιο. Το στρώμα του ενδομητρίου είναι κυτταροβριθές με πολλούς σωληνοειδείς αδένες. Κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, που εκκρίνονται από τα ωθηκικά ωθυλάκια, το ενδομήτριο υποβάλλεται σε ρυθμικές κυκλικές αλλαγές που προετοιμάζουν την μήτρα για την υποδοχή του γονιμοποιημένου ωαρίου. Επιτυχής εμφύτευση γίνεται μόνο εάν το ενδομήτριο μπορεί να παρέχει στο πρόωρο έμβρυο αφθονία θρεπτικών ουσιών.

Ο κύκλος των αλλαγών του ενδομητρίου μπορεί να διαιρεθεί σε δύο φάσεις: την παραγωγική φάση και την εκκριτική φάση.



Εικόνα 2: Περίληψη του εμμηνορρυσιακού κύκλου

Η παραγωγική φάση : Η παραγωγική φάση ξεκινάει και διατηρείται μέχρι την ωορρηξία με την αυξανόμενη παραγωγή οιστρογόνων από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια. Χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη του στρώματος του ενδομητρίου το οποίο γίνεται παχύτερο και αγγειοβριθές. Οι απλοί σωληνοειδείς αδένες αναπτύσσονται σε αριθμό και μέγεθος και αρχίζουν να παράγουν βλέννη.

Η εκκριτική φάση : Χαρακτηρίζεται από ελικοειδείς αδένες που βρίσκονται κάτω από την επίδραση της προγεστερόνης που εκκρίνεται από το ωχρό σωματίο. Οι αδένες παράγουν άφθονο πλούσιο σε γλυκογόνο έκκριμα, το οποίο είναι σημαντική πηγή θρεπτικών ουσιών για το γονιμοποιημένο ωάριο.

Έμμηνος ροή: Σε απουσία εμφύτευσης γονιμοποιημένου ωαρίου, το ωχρό σωματίο εκφυλίζεται και η παραγωγή οιστρογόνων και προγεστερόνης σταματάει. Η στένωση των ελικοειδών αρτηριών του ενδομητρίου οδηγεί στην ισχαιμία και την πτώση των αδένων του ενδομητρίου και την έναρξη της εμμηνόρροιας. Κατά την τρίτη ή τέταρτη ημέρα της εμμηνόρροιας το μεγαλύτερο τμήμα του ενδομητρίου έχει πέσει και παραγωγή από την βασική στιβάδα αρχίζει ξανά.

### Η μήτρα στην κύηση

Όταν το ωάριο ελευθερώνεται από την ωοθήκη κατά την ωοθυλακιορρηξία, παραλαμβάνεται από το κροσσωτό άκρο του ωαγωγού. Η γονιμοποίηση γίνεται συνήθως σε αυτήν τη θέση και το γονιμοποιημένο ωάριο μεταφέρεται κατά μήκος της σάλπιγγας στην κοιλότητα του ενδομητρίου. Περίπου την έβδομη ημέρα μετά την γονιμοποίηση το ωάριο επιχειρεί να εμφυτευτεί στο τοίχωμα της μήτρας. Εάν η εμφύτευση είναι επιτυχής το ωχρό σωματίο αναπτύσσεται και συνεχίζει να εκκρίνει οιστρογόνα και προγεστερόνη, ώστε να μην πέσει το πλούσιο σε γλυκογόνο ενδομήτριο. Στις δώδεκα περίπου ημέρες η εμφύτευση έχει ολοκληρωθεί. Κάτω από την επίδραση της προγεστερόνης τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου μετατρέπονται σε φθαρτογενή και σταδιακά κυριαρχούν στο ενδομήτριο.

Τα στρωματικά κύτταρα είναι μεγάλα, με προεξέχων, στρογγυλό, ανοιχτόχρωμο πυρήνα και ογκώδες κυτταρόπλασμα. Τελικά ο βασικός φθαρτός (που είναι το τμήμα του φθαρτού που βρίσκεται ακριβώς κάτω από την θέση εμφύτευσης), οι λάχνες του χορίου (που προέρχονται από το έμβρυο), και οι χώροι ανάμεσα στις λάχνες σχηματίζουν τον πλακούντα.

### Η μήτρα μετά την εμμηνόπαυση

Μετά την εμμηνόπαυση η κυκλική παραγωγή των οιστρογόνων και της προγεστερόνης διακόπτεται και ολόκληρος ο γυναικείος γεννητικός σωλήνας υφίσταται ατροφική εκφύλιση. Το ενδομήτριο έχει μικρότερο πάχος και αποτελείται από στρώμα με αραιούς, αδρανείς αδένες.

## Ο κολεός

Ο κολεός είναι ένας ινομυώδης σωλήνας που έχει μήκος περίπου 7 εκατοστά και εκτείνεται από τον πρόδρομο μέχρι τον τράχηλο. Έτσι επικοινωνεί με το σώμα της μήτρας δια του ενδοτραχήλου και προς τα κάτω με το εξωτερικό περιβάλλον. Έχει την ικανότητα αξιοσημείωτης διάτασης και επιμήκυνσης κατά τον τοκετό. Ο κόλπος σχηματίζει αναδίπλωση γύρω από τα κάτω δύο τρίτα του τραχήλου και σχηματίζει την πρόσθια, οπίσθια και τις πλευρικές καμάρες του κολεού. Ο κολεός καλύπτεται από πολύστιβο μη κερατινοποιούμενο πλακώδες επιθήλιο του οποίου το πάχος και η δομή ποικίλει στις διάφορες ηλικίες. Στην προεφηβική ηλικία καθώς και στην μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα το επιθήλιο είναι λεπτό και αποτελείται από την βασική στιβάδα και μερικές στιβάδες παραβασικών κυττάρων. Αυτό το λεπτό ατροφικό επιθήλιο είναι ευάλωτο σε μολύνσεις και συχνά παρουσιάζει τις εκφυλιστικές και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις της μη-ειδικής κολπίτιδας.

Κατά την αναπαραγωγική ηλικία το επιθήλιο του κολεού αντικατοπτρίζει τις αλλαγές του ορμονικού κύκλου και την αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα της βασικής στιβάδας. Κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων στην παραγωγική φάση του κύκλου, το επιθήλιο γίνεται παχύτερο και είναι πολύστιβο. Τα ώριμα επιθηλιακά κύτταρα στην επιφάνεια είναι μεγάλα, επίπεδα, γωνιώδη, και έχουν μικρό πυκνωτικό πυρήνα (< 4 u).

Κατά την εκκριτική φάση του κύκλου, οι διάμεσες στιβάδες του επιθηλίου γίνονται παχύτερες και τα κύτταρα γεμίζουν με γλυκογόνο.

Διάλυση του γλυκογόνου από τον λακτοβάκιλλο, που είναι παράσιτο του κόλπου έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή όξινου pH στον κόλπο, το οποίο εμποδίζει την μόλυνση από βακτήρια και μύκητες όπως η candida albicans.

Ορμονική κυτταρολογία: Το πλακώδες επιθήλιο του κόλπου είναι πολύ πιο ευαίσθητος αποδέκτης των ορμονικών αλλαγών απ' ό τι είναι το πλακώδες επιθήλιο του τραχήλου της μήτρας. Ως αποτέλεσμα, τα κυτταρολογικά επιχρίσματα από το τοίχωμα του κόλπου μπορεί να γίνουν χρήσιμος οδηγός της ορμονικής κατάστασης της ασθενούς. Οι αλλαγές στο επιχρίσμα κατά την διάρκεια του κύκλου εμμήνου ροής μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τραχύς οδηγός για την ωορρηξία. Επίσης η κυτταρολογική εικόνα του επιχρίσματος μετά τον τοκετό και μετά την εμμηνόπαυση είναι τυπική. Εντούτοις, υπάρχουν περιορισμοί που μετριάζουν την χρησιμότητα της ορμονικής κυτταρολογίας στην κλινική πράξη.

## Η τοποθέτηση της ορμονικής κυτταρολογίας στην κλινική πράξη

1. Προτείνεται ήπιο ξύσιμο από το ανώτερο τριτημόριο του κολπικού τοιχώματος, καθώς αυτό το τμήμα του κολεού προέρχεται εμβρυολογικά από τον πόρο του Muller και για αυτό είναι το πιο ευαίσθητο ορμονικά τμήμα του κολεού. Ακόμη και σε αυτήν την περίπτωση, η χαρακτηριστική εικόνα του επιχρίσματος αναπτύσσεται αρκετές μέρες μετά την έκθεση στα οιστρογόνα ή την προγεστερόνη.
2. Αν και το επιθήλιο του κολεού είναι περισσότερο ευαίσθητο στα οιστρογόνα και την προγεστερόνη, το επιθήλιο επίσης ανταποκρίνεται και στην δράση άλλων ορμονών, όπως στα ανδρογόνα, τα κορτικοστεροειδή και την θυροξίνη. Επίσης αντιδρά στην δακτυλίτιδα, την αντικαρκινική θεραπεία, τα αντισυλληπτικά χάπια και στην ορμονική θεραπεία αντικατάστασης (HRT). Έτσι το πλήρες ιατρικό ιστορικό

καθώς το ιστορικό της εμμήνου ροής και της έκθεσης σε εξωγενή οιστρογόνα π.χ. από κρέμες προσώπου, πρέπει να είναι γνωστά πριν την έκδοση κυτταρολογικής αναφοράς.

3. Χρόνια φλεγμονή και μόλυνση μπορεί να οδηγήσουν σε υπερπλασία του επιθηλίου. Για παράδειγμα, η μόλυνση από τριχομονάδα του κόλπου τυπικά συνδυάζεται με ώριμο, υπερπλαστικό επιθήλιο. Υπερκεράτωση μπορεί να παρατηρηθεί σε πρόπτωση του τραχήλου της μήτρας μέσα στον κολεό. Έτσι τα επιχρίσματα τα οποία εμφανίζουν ενδείξεις φλεγμονής, αλλοιώσεις από ακτινοθεραπεία, υπερκεράτωση ή ειδική φλεγμονή είναι ακατάλληλα για ορμονική αξιολόγηση.
4. Τα τραχηλικά επιχρίσματα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για ορμονικούς υπολογισμούς, καθώς η μεταπλασία και οι αλλοιώσεις από φλεγμονή μπορεί να αποπροσανατολίσουν τον εξεταστή.
5. Στο παρελθόν, έγιναν ισχυρισμοί κατά τους οποίους η ορμονική κυτταρολογία μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να προβλέψει αυτόματη αποβολή ή την διάρκεια της εγκυμοσύνης, αλλά αυτοί οι ισχυρισμοί δεν τεκμηριώθηκαν και η αξιόπιστη διάγνωση αυτών των καταστάσεων στηρίζεται σε βιοχημικές μεθόδους ή απεικόνιση. Αλληλοδιάδοχα επιχρίσματα πρέπει να ληφθούν εάν η ορμονική κυτταρολογία πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για να προσδιορίσει ωορρηξία.

Το ώριμο πλακώδες επιθήλιο του κόλπου αποτελείται από 18-20 στίχους επιθηλιακών κυττάρων. Για λόγους διευκόλυνσης διαιρείται σε τρεις στιβάδες:

- την επιπολής στιβάδα
- την διάμεση στιβάδα (των διάμεσων και των παραβασικών κυττάρων)
- την βασική στιβάδα ( των βλαστικών και των βασικών κυττάρων)

Κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων, το πλακώδες επιθήλιο του κόλπου αναπτύσσεται πλήρως και οι ανώτερες στιβάδες αποτελούνται από μεγάλα (30-40  $\mu\text{m}$  διάμετρο), γωνιώδη πλακώδη κύτταρα με πυκνωτικό πυρήνα (2-3  $\mu\text{m}$  διάμετρο). Αυτά είναι τα κύτταρα που κυριαρχούν σε επιχρίσματα των οποίων η λήψη έχει γίνει στην μέση του κύκλου της εμμήνου ροής.

Κάτω από την επίδραση της προγεστερόνης το επιθήλιο γίνεται παχύτερο, αλλά η ανάπτυξη περιορίζεται στα κύτταρα της διάμεσης στιβάδας. Τα επιχρίσματα αποτελούνται από μεγάλα, γεμάτα γλυκογόνο κύτταρα, που έχουν σκαφοειδές σχήμα (20-30  $\mu\text{m}$  διάμετρο), με άφθονο βασεόφιλο κυτταρόπλασμα. Ο πυρήνας τους είναι φουσαλιδώδης και έχουν λεπτό δίκτυο χρωματίνης. Αυτά τα κύτταρα ονομάζονται σκαφοειδή κύτταρα (navicular cells) και επικρατούν στο δεύτερο ήμισυ του κύκλου. Όταν παρατείνεται η έκκριση της προγεστερόνης (όπως στην εγκυμοσύνη) τα σκαφοειδή κύτταρα αποκτούν πυκνωτικό περίγραμμα, και σχηματίζουν ομάδες στο επίχρισμα. Οι λακτοβάκιλλοι καταβολίζουν τα κύτταρα για το γλυκογόνο τους. Ως αποτέλεσμα γυμνοί πυρήνες και θραύσματα κυτταροπλάσματος σχηματίζουν το υπόστρωμα του επιχρίσματος.

Σε απουσία ορμονικής έκκρισης π.χ. στην εφηβεία, στην λοχεία ή μετά την εμμηνόπαυση, το κολπικό επιθήλιο λεπταίνει και αποτελείται μόνο από λίγες στιβάδες. Μετά την εμμηνόπαυση τα επιχρίσματα αντανακλούν την ατροφία του κόλπου και αποτελούνται από μικρά (10  $\mu\text{m}$ ), στρογγυλά κι εύθραυστα παραβασικά κύτταρα. Τα κύτταρα βρίσκονται μεμονωμένα ή σε μεγάλες ομάδες. Συχνά έχουν μεγάλο ανοιχτόχρωμο πυρήνα που καταλαμβάνει περίπου το 1/3 του κυττάρου και λεπτό βασεόφιλο κυτταρόπλασμα. Ο πυρήνας μπορεί να είναι πυκνωτικός ή να εμφανίζει καρυορρηξία. Στοιχεία φλεγμονής συχνά υπάρχουν. Στα επιχρίσματα της γαλουχίας ή της λοχείας τα παραβασικά κύτταρα είναι τυπικά γεμάτα γλυκογόνο. Παρόμοια εικόνα μπορεί να υπάρχει στα επιχρίσματα όταν συνυπάρχουν αρρενοβλαστώματα της ωοθήκης ή γίνεται εξωγενής πρόσληψη τεστοστερόνης ως τμήμα θεραπευτικής αγωγής για σκληρυντικό λειχήνα.

Είναι ενδιαφέρον ότι κολπικό επίχρισμα από νεογέννητο μπορεί να εμφανίσει επιθηλιακή ωρίμανση που αντανακλά την διαπλακουντική μεταφορά ορμονών της μητέρας στην μήτρα, αλλά οι αλλαγές αυτές είναι παροδικές και η ατροφική εικόνα επέρχεται.

#### Μέθοδος αξιολόγησης της ορμονικής κατάστασης από τα κολπικά επιχρίσματα.

Ο δείκτης ωρίμανσης ( $\Delta\Omega$ ) είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης για αξιολόγηση της ορμονικής κατάστασης. Γίνεται επιλογή πέντε τυχαίων πεδίων ( $\times 10$  μεγέθυνση) και μέτρηση 100 επιθηλιακών κυττάρων σε κάθε πεδίο, προσδιορίζοντας το ποσοστό των επιπολής, διάμεσων και παραβασικών κυττάρων σε κάθε περιοχή. Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως  $\Delta\Omega = \% \text{ παραβασικά κύτταρα} : \% \text{ διάμεσα (σκαφοειδή κύτταρα)} : \% \text{ επιπολής κύτταρα}$ . Ένας  $\Delta\Omega$  με αποτέλεσμα 0:100:0 υποδεικνύει την επικράτηση των διάμεσων κυττάρων, όπως για παράδειγμα στην εγκυμοσύνη. Ένας  $\Delta\Omega$  με αποτέλεσμα 0:60:40 συχνά βρίσκεται σε γυναίκες που παίρνουν αντισυλληπτικά χάπια. Τα επιπολής κύτταρα επικρατούν στην μέση του κύκλου, ενώ ένας  $\Delta\Omega$  με αποτέλεσμα 90:10:0 αναμένεται σε μια μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα. Ένας  $\Delta\Omega$  με αποτέλεσμα 0:0:100 σε μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα πρέπει να εξεταστεί επειγόντως καθώς μπορεί να αντανακλά την παρουσία ενός κοκκιοκυτταρικού όγκου που εκκρίνει οιστρογόνα. Περαιτέρω έρευνα δικαιολογείται όταν εξωγενής πηγή οιστρογόνων, όπως από καλλυντικά προϊόντα έχει αποκλειστεί.

## Τράχηλος της μήτρας

Σε πιο περιορισμένο πλαίσιο, όσο αφορά της δική μας εργασία, θα αναφερθούμε στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, μια υπόθεση που αφορά όλες τις γυναίκες.

Ο τράχηλος της μήτρας είναι το κατώτερο σημείο της μήτρας που συνδέεται με τον κόλπο. Ανάμεσα στο εσωτερικό και εξωτερικό τμήμα του τραχήλου της μήτρας, υπάρχει μια πολύ ευαίσθητη περιοχή που υφίσταται αλλαγές σε διάφορες περιόδους της ζωής μιας γυναίκας όπως στην εφηβεία, στην εγκυμοσύνη, στην εμμηνόπαυση και είναι το σημείο από όπου ξεκινάει ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας.

Ο επιθηλιακός ιστός ή αλλιώς επιθήλιο αποτελείται από κύτταρα στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους με ελάχιστη μεσοκυττάρια ουσία, σχηματίζοντας εκτεταμένες επιφάνειες που καλύπτουν εξωτερικά τις διάφορες κοιλότητες και επιφάνειες του σώματος, έχοντας κυρίως προστατευτικό ρόλο για τα όργανα του οργανισμού.

Ο επιθηλιακός ιστός του τραχήλου της μήτρας αποτελείται από στρώματα κυττάρων με διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά. Η εικόνα που ακολουθεί απεικονίζει τα στρώματα αυτά τα οποία σε μη παθολόγο ιστό είναι: το βασικό (basal layer) στρώμα που αποτελείται από κύτταρα κυβικού σχήματος, το μεσαίο στρώμα (midzone) και το επιφανειακό στρώμα (superficial zone). Η ωρίμανση των κυττάρων είναι η διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα αλλάζουν μορφολογικά και λειτουργικά κατά τη διάρκεια της ζωής. Κατά την ωρίμανση τους τα κύτταρα μετακινούνται σταδιακά από το βασικό στρώμα προς το επιφανειακό και εξελίσσονται σε κύτταρα με πιο επίπεδο σχήμα και με μεγαλύτερο όγκο.

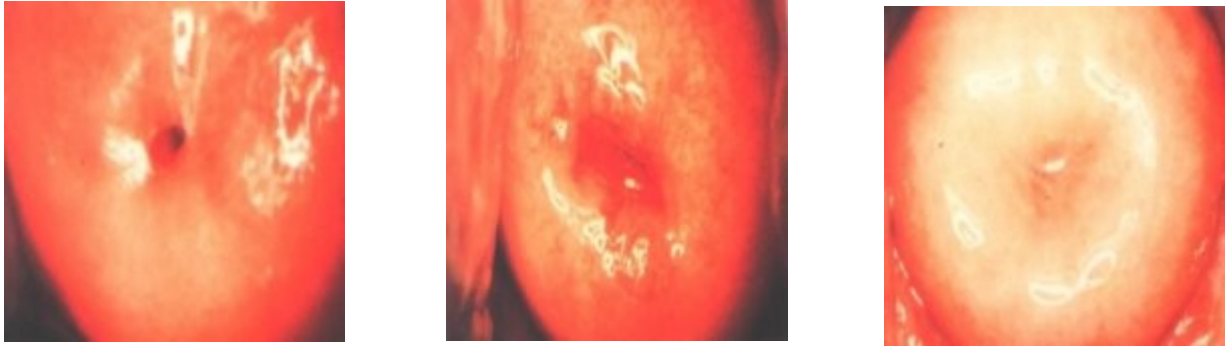
## Περιγραφή της ανατομίας του τραχήλου της μήτρας

Το επιθήλιο του ενδοτραχήλου είναι μονόστοιβο κυλινδρικό, ενώ του εξωτραχήλου πολύστοιβο πλακώδες. Η μετάπτωση του ενός επιθηλίου στο άλλο παρατηρείται συνήθως στην περιοχή του έξω τραχηλικού στομίου, συχνά όμως το κυλινδρικό επιθήλιο επεκτείνεται στον εξωτράχηλο, παρουσιάζομενο ως ερυθρά μικροθηλωματώδης ευαίσθητη περιοχή.

Η περιοχή αυτή αναφέρεται ως εκτοπία (παλαιότερα εκτρόπιο) και η παρουσία της αποτελεί φυσιολογικό φαινόμενο. Ο λόγος για τον οποίο παρατηρείται εκτοπία σε ορισμένες γυναίκες, και μάλιστα σε έκταση η οποία μερικές φορές καταλαμβάνει σχεδόν ολόκληρη την επιφάνεια του εξωτραχήλου, ενώ σε άλλες της ίδιας ηλικίας δεν παρατηρείται, δεν είναι γνωστός. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων το κυλινδρικό επιθήλιο της εκτοπίας υφίσταται με την πάροδο του χρόνου την λεγόμενη πλακώδη μεταπλασία, δηλαδή η στοιβάδα των κυλινδρικών κυττάρων αντικαθίσταται από πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο, αρχικά άωρο, αργότερα δε ώριμο. Η περιοχή η οποία περιλαμβάνει το επιθήλιο που υφίσταται την διαδικασία της μεταπλασίας αναφέρεται ως ζώνη μετασχηματισμού (transformation zone) ή ζώνη μετάπτωσης ή ζώνη μεταπλασίας. Η περιοχή αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία διότι από αυτήν κατά κανόνα εξορμώνται οι αλλοιώσεις της κακοήθους εξαλλαγής του τραχηλικού επιθηλίου.

Κατά την κύηση ή κατά την λήψη αντισυλληπτικών δισκίων το κυλινδρικό επιθήλιο επεκτείνεται περισσότερο προς την περιφέρεια του τραχήλου, ενώ κατά την διάρκεια του κλιμακτηρίου και της μετεμμηνόπαυσιακής ζωής ή ζώνη μετάπτωσης μετακινείται βαθμιαία προς τον ενδοτραχηλικό αυλό. Οι περιγραφείσες καταστάσεις (εκτοπία, πλακώδης μεταπλασία) πρέπει να θεωρούνται ως φυσιολογικά φαινόμενα και ως εκ τούτου δεν απαιτείται θεραπεία. Μόνο σε περιπτώσεις έντονης υπερέκκρισης υγρών ή επανειλημμένων μικροαιμορραγιών μετά από σεξουαλική επαφή είναι δυνατόν να γίνει καταστροφή του επιθηλίου (αφού προηγουμένως πιστοποιηθεί πλήρως η καλοήθεια) με

κρυοθεραπεία, ακτίνες LASER ή ηλεκτροδιαθερμεία. Αιμορραγία, φλεγμονή και στένωση του έξω τραχηλικού στομίου μπορεί να εμφανισθούν ως επιπλοκές μιας τέτοιας αντιμετώπισης



Εικόνα 3: Τράχηλος άτοκης γυναίκας

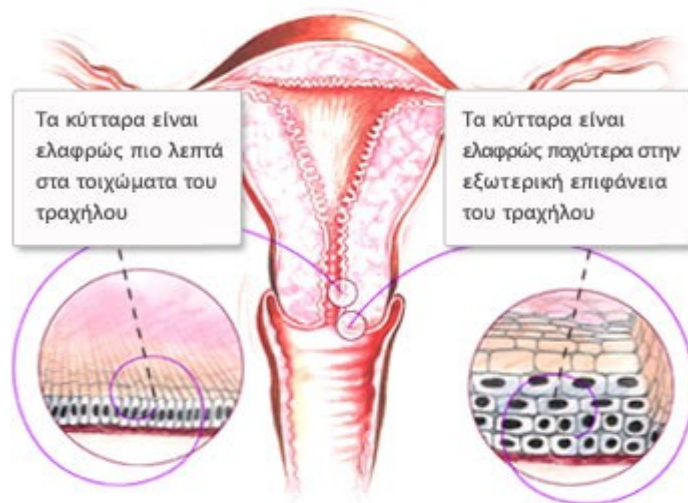
Τράχηλος πολύτοκης γυναίκας

Τράχηλος γυναίκας στην εμμηνόπαυση

Ο τράχηλος είναι το λεπτότερο και κατώτερο τμήμα της μήτρας που το προβάλλει μέσα στο θόλο του κόλπου. Είναι ένα ινομυώδες όργανο που καλύπτεται από μία μεμβράνη βλέννης, έχει 3 εκατοστά μήκος και 2.5 εκατοστά διάμετρο. Στην ενήλικη γυναίκα έχει θέση με πρόσθια έγκληση. Έχει κυλινδρικό σχήμα, που όμως αλλάζει στην εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση. Περίπου μισό από το μήκος του τραχήλου εισέχει μέσα στο άνω τμήμα του κόλπου.

Ο τράχηλος διασχίζεται από τον ενδοτραχηλικό σωλήνα, ο οποίος προς τα επάνω βρίσκεται σε συνέχεια με το σώμα της μήτρας, στον ισθμό. Προς τα κάτω βρίσκεται σε συνέχεια με τον κόλπο, στο τραχηλικό στόμιο.

Το σχήμα του τραχηλικού στομίου ποικίλλει. Στην άτοκο γυναίκα είναι μικρό και κυκλικό. Μετά την εγκυμοσύνη μοιάζει με σχισμή. Μετά την εμμηνόπαυση μπορεί να είναι τόσο στενό όσο η αιχμή καρφίτσας.



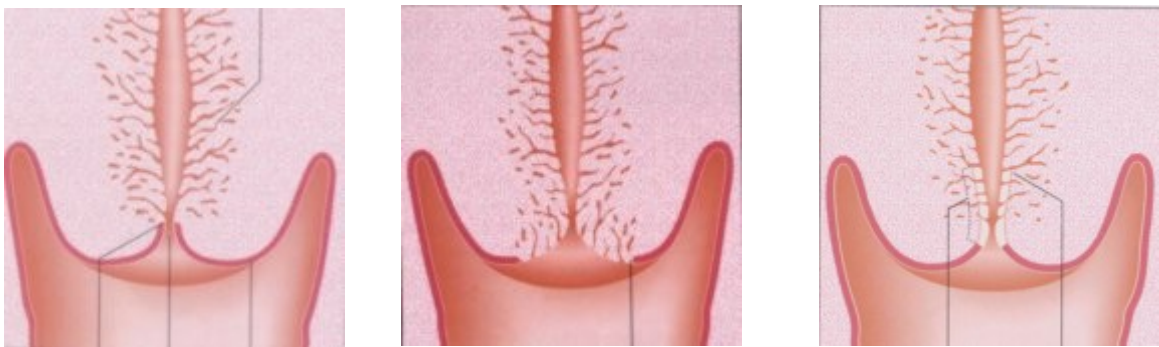
Εικόνα 4: Μορφή των κυττάρων στα τοιχώματα και την εξωτερική επιφάνεια του τραχήλου

## Κύριες ανατομικές περιοχές του τραχήλου

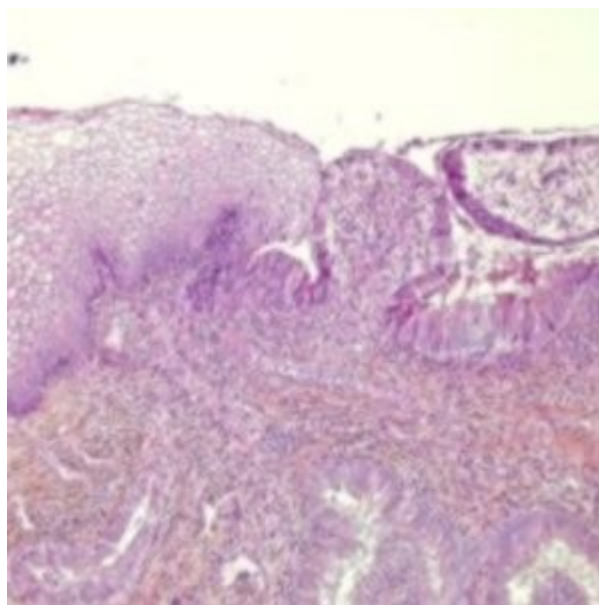
Ο ενδοτράχηλος εκτείνεται από τον ισθμό (έσω στόμιο) έως τον εξωτράχηλο και περιλαμβάνει τον ενδοτραχηλικό σωλήνα. Καλύπτεται από βλεννοεκκριτικό κυλινδρικό επιθήλιο του οποίου οι πτυχές και εσοχές μέσα στο υπόστρωμα σχηματίζουν σύνθετους αδένες και κρύπτες.

Ο εξωτράχηλος εκτείνεται από τη αδenoπλακώδη συμβολή (squamocolumnar junction) έως τις καμάρες του κόλπου, και καλύπτεται από μη κερατινοποιούμενο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο είναι ορμονοευαίσθητο. Η αδenoπλακώδης συμβολή (ΑΠΣ) βρίσκεται στο σημείο όπου το κυλινδρικό επιθήλιο συναντά το πλακώδες επιθήλιο. Η θέση αυτή, κατά την διάρκεια της ζωής ποικίλει ως αποτέλεσμα των μεταπλαστικών αλλαγών στο κυλινδρικό επιθήλιο του τραχήλου. Πριν την εφηβεία η ΑΠΣ συνήθως βρίσκεται στο έξω στόμιο του τραχήλου. Μετά την εγκυμοσύνη συνήθως βρίσκεται στον εξωτράχηλο. Μετά την εμμηνόπαυση συνήθως βρίσκεται μέσα στον ενδοτραχηλικό σωλήνα.

Η ζώνη μετάπλασης (ΖΜ). Αυτή η ζώνη περιλαμβάνει την περιοχή των μεταπλαστικών αλλαγών στον τράχηλο. Είναι σημαντική από την άποψη ότι τα κύτταρα της ζώνης μετάπλασης είναι εξαιρετικά ευπαθή στα καρκινογόνα και οι περισσότερες νεοπλασίες ξεκινούν στην περιοχή αυτή.

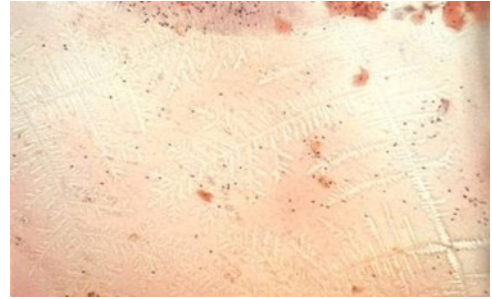
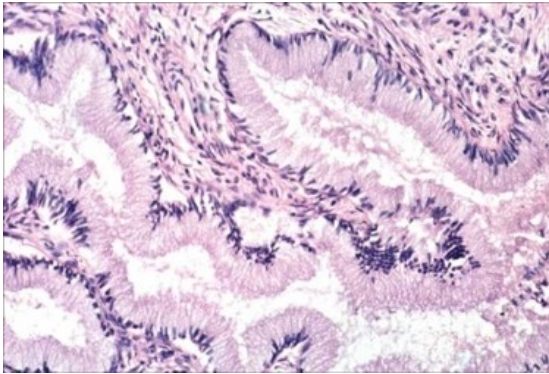


Εικόνα 5: Η αδenoπλακώδης συμβολή του εξωτραχήλου στην περίοδο της προεφηβείας, της ενηλικίωσης και κατά την εμμηνόπαυση



Εικόνα 6: Ιστολογικό τμήμα που δείχνει την αδenoπλακώδη συμβολή, η περιοχή αυτή είναι επιρρεπής στις ορμονικές αλλαγές και της αλλαγές της θέσης κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής

## Το κιονοειδές επιθήλιο του ενδοτραχηλικού σωλήνα

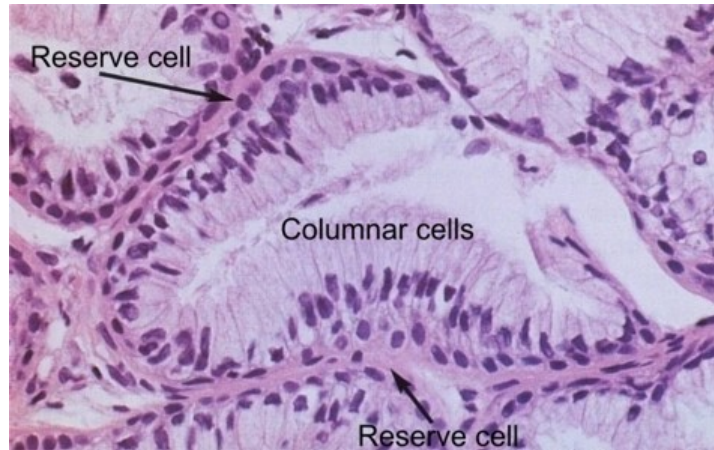


Εικόνα 7: Ιστολογικό τμήμα του ενδοτραχηλικού σωλήνα, και τραχηλική βλέννη

Η επιφάνεια του αυλού του ενδοτραχηλικού σωλήνα και οι κρύπτες καλύπτονται από μία στιβάδα κυλινδρικών κυττάρων. Το επιθήλιο αποτελείται από ψηλά κυλινδρικά κύτταρα τα οποία έχουν πασσαλοειδή διάταξη. Ο πυρήνας των κυλινδρικών κυττάρων βρίσκεται συνήθως στη βάση του κυττάρου, αλλά όταν τα κύτταρα εκκρίνουν βλέννη ο πυρήνας μπορεί να βρίσκεται ψηλότερα της βάσης, ή ακόμη και στην μέση του κυττάρου. Τρεις τύποι κυττάρων αναγνωρίζονται: Τα εκκριτικά κυλινδρικά κύτταρα, τα κροσσωτά κυλινδρικά κύτταρα και τα εφεδρικά κύτταρα.

Τα εκκριτικά κύτταρα παράγουν όξινη και ουδέτερη βλέννη, αν και τα ποσά ποικίλλουν κατά την διάρκεια του κύκλου της εμμηνου ροής. Η βλέννη εκκρίνεται και με μεροκρινή και αποκρινή τρόπο. Η τραχηλική βλέννη είναι ένα υδαρές υγρό του οποίου η σύνθεση ποικίλλει σε κάθε στάδιο του κύκλου της εμμηνου ροής. Περιέχει ηλεκτρολύτες ιδιαίτερα χλωριούχο νάτριο και απλά σάκχαρα σε κολλοειδές διάλυμα. Επίσης περιέχουν αλβουμίνες, ανοσοσφαιρίνες και ένζυμα. Λευκοκύτταρα και αποφολιωμένα επιθηλιακά κύτταρα βρίσκονται συχνά μέσα στην βλέννη. Η τραχηλική βλέννη παίζει σημαντικό ρόλο στην μεταφορά του σπέρματος. Στην μέση του κύκλου, περίπου την χρονική περίοδο της ωορρηξίας, η βλέννη αποτελείται από ένα λεπτό δίκτυο νηματίων που βοηθάει στην εύκολη διέλευση των σπερματοζωαρίων. Σε αυτό το στάδιο η εικόνα «φύλλων φτέρης» επιδεικνύεται εάν η βλέννη απλωθεί επάνω σε γυάλινη επιφάνεια (slide). Στην ωχρινική φάση του κύκλου (όπως και κατά την λήψη αντισυλληπτικών), η βλέννη αποκτά πυκνή σύσταση που παρακωλύει την πορεία των σπερματοζωαρίων. Η πυκνή βλέννη μερικές φορές παγιδεύεται στις κρύπτες του ενδοτραχήλου και σχηματίζει καλοήθεις κύστες – τις ονομαζόμενες “κύστες Naboth”.

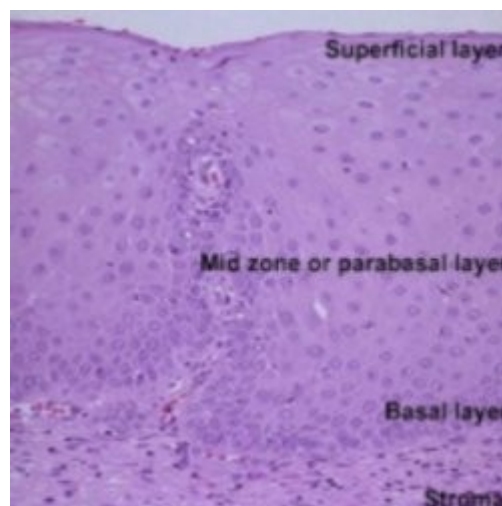
Τα κροσσωτά κύτταρα είναι περισσότερα σε αριθμό στην ενδομητρική/ενδοτραχηλική συμβολή. Κύρια λειτουργία τους είναι να μεταφέρουν την βλέννη κατά μήκος της βλενωδούς μεμβράνης. Τα εφεδρικά κύτταρα είναι μικρά αδιαφοροποίητα πολυδύναμα κύτταρα τα οποία εντοπίζονται βαθιά ανάμεσα στα κυλινδρικά κύτταρα και είναι περισσότερο εμφανή κατά την μεταπλαστική διαδικασία.



Εικόνα 8: Κινοειδές επιθήλιο σε μεγαλύτερη μεγέθυνση

### Το πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου

Το πρότυπο πλακώδες επιθήλιο που καλύπτει τον εξωτράχηλο έχει πάχος 0,5 mm και παρέχει ένα προστατευτικό κάλυμμα στο κολπικό τμήμα του τραχήλου. Βρίσκεται σε συνέχεια με το πλακώδες επιθήλιο του κόλπου, αλλά είναι λιγότερο ευαίσθητο στις επιδράσεις των ορμονών απ' αυτό του κόλπου. Το πάχος του ποικίλλει με την ηλικία και κατά την διάρκεια του κύκλου της εμμηνου ροής– παρουσιάζει πλήρη ωρίμανση κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων, ενώ με την επίδραση της προγεστερόνης ωριμάζει μόνο κατά το ήμισυ. Σε απουσία των ορμονών αυτών π.χ. μετά την εμμηνόπαυση, το πάχος του επιθηλίου μειώνεται σημαντικά.



Εικόνα 9: Το ώριμο πλακώδες επιθήλιο αποτελείται από 10-20 στοιβάδες επιθηλιακών κυττάρων που μπορούν εύκολα να χωριστούν σε τρεις ζώνες:

1. το επιφανειακό στρώμα που αποτελείται από τα πιο ώριμα κύτταρα
2. το ενδιάμεσο στρώμα
3. η βασική στοιβάδα αποτελείται από το πλακώδες επιθήλιο

Το επιθήλιο χωρίζεται από το υπόστρωμα και την ινομυώδη στιβάδα του τραχήλου με ένα λεπτό δίκτυο ινών που αποτελούν την βασική μεμβράνη. Το επιθήλιο στηρίζεται επάνω στον υποκείμενο συνδετικό ιστό του τραχήλου - το στρώμα. Το στρώμα αποτελείται κυρίως από κολλαγόνες ίνες και είναι πυκνότερο στον εξωτράχηλο και χαλαρό γύρω από τους ενδοτραχηλικούς αδένες. Οι λείες μυϊκές και οι ελαστικές ίνες είναι σπάνιες, εκτός από ψηλά στον ενδοτραχηλικό σωλήνα στην περιοχή του ισθμού. Στον πυθμένα του επιθηλίου προβάλλει το στρώμα οδοντωτά σε ορισμένες θέσεις, σχηματίζοντας θηλές που έχουν φορά προς την επιφάνεια του επιθηλίου, φθάνουν έως το ένα τρίτο του πάχους του και φέρουν τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία μέσα στο επιθήλιο.

Η βασική στιβάδα: Είναι ένας στίχος κυλινδρικών κυττάρων διαμέτρου 12μm, των οποίων η κύρια λειτουργία είναι η αναγέννηση του επιθηλίου. Ο πυρήνας τους είναι οβάλ και παρουσιάζει μιτωτική δραστηριότητα (πυρήνιο, χρωμόκεντρα και περιστασιακά μιτώσεις). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η διαδικασία της αναγέννησης του επιθηλίου περιορίζεται στη βασική στιβάδα. Οι υπόλοιπες στιβάδες κυρίως αντανακλούν τα διαφορετικά στάδια της ωρίμανσης των επιθηλιακών κυττάρων. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες π.χ. τραύμα, η βασική στιβάδα μπορεί να παρουσιάσει περισσότερους από έναν στίχους. Αυτό ονομάζεται βασική υπερπλασία. Πάνω από τις βασικές στιβάδες η κυτταρική ωρίμανση είναι φυσιολογική.

Η διάμεση ή παραβασική στιβάδα: Αυτή αποτελείται από ώριμα πλακώδη κύτταρα τα οποία έχουν περισσότερο κυτταρόπλασμα, και για αυτό φαίνονται λίγο μεγαλύτερα, από αυτά της βασικής στιβάδας. Τα κύτταρα των ανωτέρων στίχων αυτής της στιβάδας έχουν περισσότερο κυτταρόπλασμα, αν και το μέγεθος του πυρήνα παραμένει σχεδόν σταθερό. Τα επιθηλιακά κύτταρα της παραβασικής στιβάδας περιέχουν άφθονα τονικά ινίδια και κοκκία γλυκογόνου. Η ακεραιότητα του επιθηλίου διατηρείται με δεσμοσωμάτια ή διακυτταρικές γέφυρες. Η κοκκώδης στιβάδα των πολυεδρικών κυττάρων που περιέχουν κερατουαλίνη βρίσκεται κάποιες φορές στους ανώτερους στίχους αυτής της στιβάδας.

Η επιπολής στιβάδα: Αποτελείται από αρκετούς στίχους χαλαρά συνδεδεμένων κυττάρων που είναι πλατύτερα και λεπτότερα από αυτά της διάμεσης στιβάδας παράγοντας το σχέδιο της πλέξης καλαθιού. Έχουν μικρό πυκνωτικό πυρήνα με διάμετρο 2-3 μm. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκαλύπτει την παρουσία περιστασιακών πρόδρομων της κερατίνης στις επιφανειακές στιβάδες. Πλήρης ανάπτυξη της κερατίνης δεν συμβαίνει στο φυσιολογικό τραχηλικό επιθήλιο. Εντούτοις, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες π.χ. πρόπτωση, τα επιπολής κύτταρα μπορεί να συνθέσουν μεγάλα ποσά κερατίνης. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο των επιπολής στιβάδων αποκαλύπτει ένα δίκτυο από πλακώδη κύτταρα τα οποία σχηματίζουν μωσαϊκό. Η επιφάνεια των κυττάρων καλύπτεται από ένα δίκτυο μικροπτυχώσεων που πιστεύεται ότι βελτιώνει την συνοχή κι έτσι προστατεύει τους υποκείμενους κυτταρικούς στίχους από τραύμα.

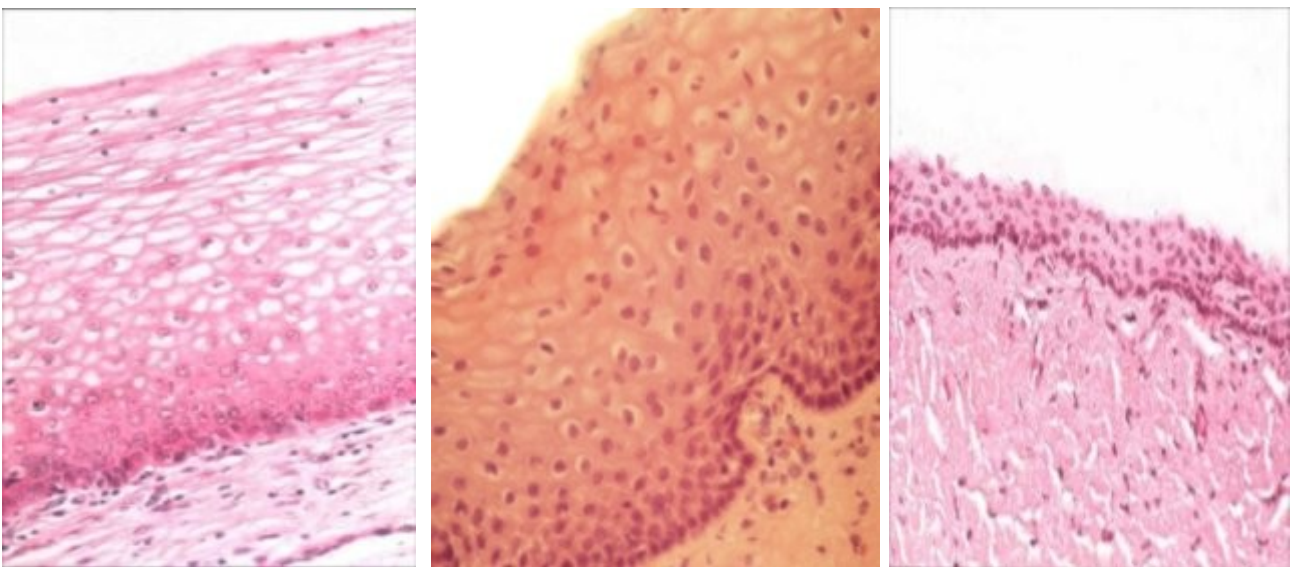
## Ιστολογία του πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου πριν από την εφηβεία, κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας και μετά την εμμηνόπαυση

Επιθήλιο κατά τη γέννηση και πριν από την εμμηναρχή: Στη γέννηση το επιθήλιο του τραχήλου επιδεικνύει κάποια ωρίμανση αντανακλώντας την δράση των μητρικών ορμονών στην μήτρα. Μέσα σε λίγες ημέρες η επίδραση αυτή εξαφανίζεται και το τραχηλικό επιθήλιο γίνεται λεπτό, ανώριμο και αποτελείται από λίγους στίχους κυττάρων παραβασικού τύπου. Παραμένει σε αυτήν την κατάσταση μέχρι την εμμηναρχή.

Κατά την διάρκεια της παραγωγικής φάσης του εμμηνορρυσιακού κύκλου: Το επιθήλιο ανταποκρίνεται στην επίδραση των οιστρογόνων με πλήρη ωρίμανση. Αποτελείται από 18-20 στίχους μεγάλων πλακωδών κυττάρων που περιέχουν προδρόμους της κερατίνης οι οποίοι προστατεύουν τον τράχηλο από το περιβάλλον του κόλπου στο οποίο εκτίθεται. Τα κύτταρα στους επιφανειακούς στίχους έχουν 50 μm διάμετρο, έχουν άφθονο κυτταρόπλασμα και πυκνωτικό πυρήνα με 2μm διάμετρο.

Κατά την διάρκεια της εκκριτικής φάσης του εμμηνορρυσιακού κύκλου και της κύησης: Κάτω από την επίδραση της προγεστερόνης (ή αντισυλληπτικών / θεραπείας ορμονικής αποκατάστασης) το επιθήλιο είναι ώριμο κατά το ήμισυ και έχει πάχος 10-18 στίχους. Τα κύτταρα στην επιφάνεια έχουν μικρό φυσαλιδώδη πυρήνα, με διάμετρο περίπου 5 μm και μπορεί να περιέχουν κοκκία γλυκογόνου. Κατά την κύηση τα επιθηλιακά κύτταρα περιέχουν άφθονο γλυκογόνο.

Μετά την εμμηνόπαυση: Μετά την εμμηνόπαυση ο τράχηλος ελαττώνεται σε όγκο και το πλακώδες επιθήλιο γίνεται ατροφικό. Είναι λεπτότερο και η στιβαδοποίηση καθώς και η γλυκογένεση, που είναι χαρακτηριστικά του φυσιολογικού προ-εμμηνόπαυσιακού επιθηλίου χάνονται.



Εικόνα 10: Πλακώδες επιθήλιο (απόκριση οιστρογόνων), πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου κάτω από την επίδραση προγεστερόνης, πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου μετά από την εμμηνόπαυση

## Αδενοπλακώδης συμβολή, μεταπλασία και ζώνη μετάπλασης

Η αδενοπλακώδης συμβολή βρίσκεται στο σημείο όπου το πλακώδες επιθήλιο συναντά το κυλινδρικό επιθήλιο. Η θέση αυτή, κατά την διάρκεια της ζωής ποικίλει ως αποτέλεσμα των μεταπλαστικών αλλαγών στο κυλινδρικό επιθήλιο του τραχήλου, που συμβαίνουν μετά την εφηβεία και κατά την εγκυμοσύνη.

Η ζώνη μετάπλασης (transformation zone) είναι το όνομα που έχει δοθεί στην περιοχή του τραχήλου που περιλαμβάνει το επιθήλιο που έχει υποστεί μεταπλαστικές αλλαγές.

## Ορισμός της μεταπλασίας

Μεταπλασία είναι το όνομα που έχει δοθεί στην διαδικασία κατά την οποία ένας τύπος επιθηλίου, που είναι πλήρως διαφοροποιημένο, μετατρέπεται σε άλλο τύπο επιθηλίου. Πρόκειται συνήθως για μία προσαρμοστική αλλαγή η οποία συμβαίνει ως αντίδραση σε έναν μακροχρόνιο ερεθισμό οποιασδήποτε μορφής, ή ως αντίδραση σε ορμονικό ερέθισμα. Οι μεταπλαστικές αλλαγές είναι αναστρέψιμες και θεωρητικά ένα μετατρεπόμενο επιθήλιο θα πρέπει να επιστρέψει στην αρχική του μορφή όταν απομακρυνθεί το ερέθισμα, αλλά αυτό δεν γίνεται πάντα.

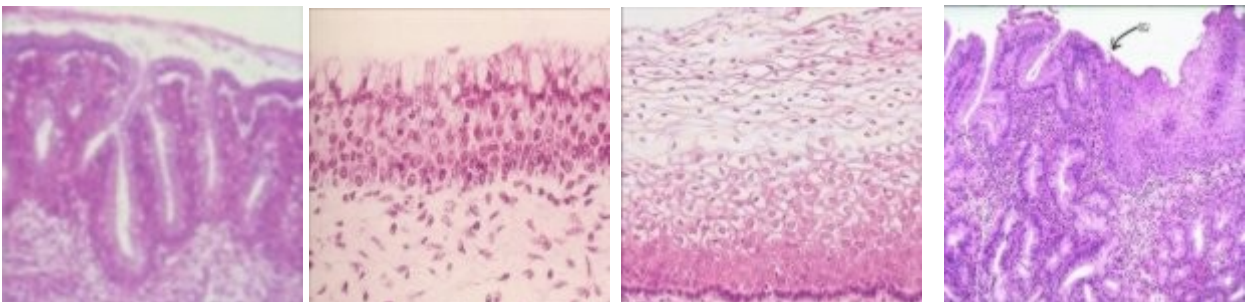
Μεταπλασία μπορεί να συμβεί σε πολλά μέρη του σώματος π.χ. στον γαστρικό βλεννογόνο, την ουροδόχο κύστη, τους βρόγχους κλπ. Η μεταπλαστική διαδικασία έχει εκτενώς μελετηθεί στον τράχηλο της μήτρας. Στον τράχηλο της μήτρας, οι μεταπλαστικές αλλαγές περιλαμβάνουν μετατροπή του αδενικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου σε πλακώδες επιθήλιο.

## Τρία ιστολογικά στάδια έχουν αναγνωρισθεί:

Στάδιο 1: Υπερπλασία των εφεδρικών κυττάρων – τα εφεδρικά κύτταρα του ενδοτραχηλικού επιθηλίου αρχίζουν να διαιρούνται.

Στάδιο 2: Ανώριμη πλακώδης μεταπλασία – τα εφεδρικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται για να σχηματίσουν μία στιβάδα από πολλούς στίχους αδιαφοροποίητων κυττάρων. Μία επιφανειακή στιβάδα από βλεννοεκκριτικά κύτταρα μπορεί συχνά να παρατηρηθεί.

Στάδιο 3: Όριμη πλακώδης μεταπλασία – τα αδιαφοροποίητα κύτταρα έχουν διαφοροποιηθεί σε ώριμο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο σχεδόν δεν ξεχωρίζει πλέον από το γνήσιο πλακώδες επιθήλιο.



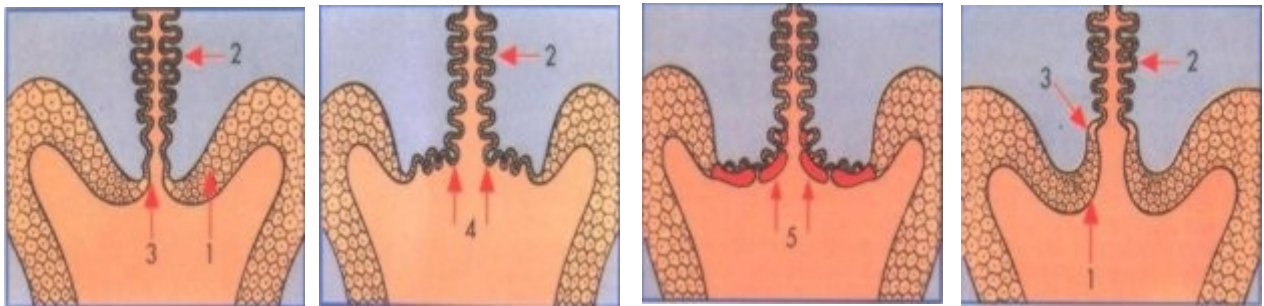
Εικόνα 11: Ιστολογικό τμήμα που δείχνει στην πρώτη εικόνα: υπερπλασία αποθεματικών κυττάρων στο επιθήλιο του τραχήλου, στη δεύτερη εικόνα ανώριμη πλακώδης μεταπλασία του επιθηλίου του τραχήλου, στην τρίτη εικόνα ώριμη πλακώδης μεταπλασία του επιθηλίου του τραχήλου και στην τέταρτη εικόνα μεταπλαστικές αλλαγές από το κιονοειδές στο πλακώδες επιθήλιο στον τράχηλο της μήτρας

## Μεταπλασία στον τράχηλο και παθοφυσιολογία

Από την γέννηση μέχρι την εφηβεία το ενδοτραχηλικό επιθήλιο αποτελείται από κυλινδρικό επιθήλιο και ο εξωτράχηλος από γηγενές πλακώδες επιθήλιο. Το όριο μεταξύ των δύο αποτελεί το αρχικό όριο μετάπτωσης ή αδενοπλακώδη συμβολή.

Κατά την διάρκεια της εφηβείας και της πρώτης κύησης ο τράχηλος αυξάνεται σε όγκο ως αντίδραση στις ορμονικές αλλαγές. Το ενδοτραχηλικό επιθήλιο στρέφεται προς τον εξωτράχηλο και εκτίθεται έτσι στο όξινο pH του κόλπου. Αυτό αποτελεί ερέθισμα για μεταπλασία του κυλινδρικού επιθηλίου.

Η διαδικασία της μεταπλασίας είναι ανομοιογενής: αρχίζει μέσα στις κρύπτες και στις κορυφές των ενδοτραχηλικών θηλών που σταδιακά ενοποιούνται, και βαθμιαία ολόκληρο το αναστραμμένο ενδοτραχηλικό επιθήλιο μπορεί να αντικατασταθεί από πλακώδες επιθήλιο.

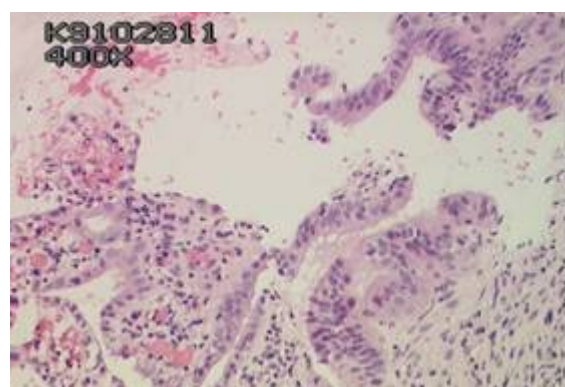
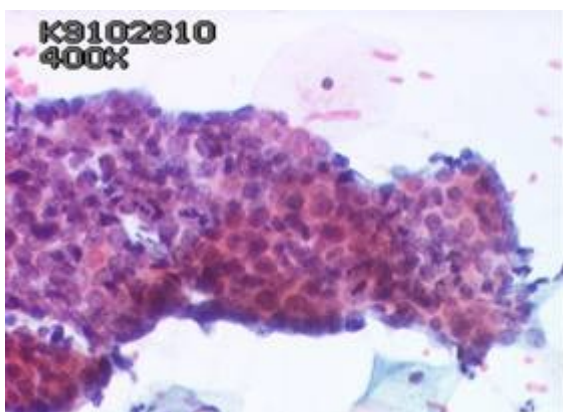


Εικόνα 12: Αδενοπλακώδης συμβολή πριν την εφηβεία, αναστροφή του ενδοτραχηλικού επιθηλίου στην εφηβεία και κατά την πρώτη εγκυμοσύνη, μεταπλασία στη ζώνη μετάπλασης, μετατόπιση της αδενοπλακώδους συμβολής στο ενδοτραχηλικό κανάλι μετά την εμμηνόπαυση

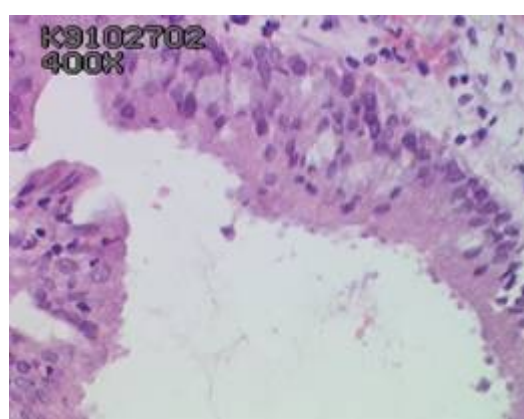
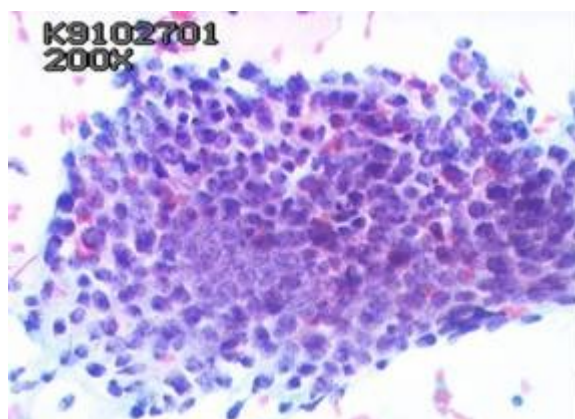
## Κλινική σημασία της πλακώδους μεταπλασίας στον τράχηλο της μήτρας

Στον τράχηλο, η περιοχή του επιθηλίου η οποία έχει υποστεί μεταπλαστικές αλλαγές ονομάζεται ζώνη μετάπλασης (ΖΜ). Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι τα ανώριμα μεταπλαστικά επιθηλιακά κύτταρα είναι ευπαθή στα καρκινογόνα και ότι τα περισσότερα, αν όχι όλα, τα καρκινώματα του τραχήλου αναπτύσσονται εκεί.

Άλλοι τύποι μεταπλασίας στον τραχήλο



Εικόνα 13α: Σωληνοειδής μεταπλασία του τραχήλου (ιστολογική και κυτταρολογική εικόνα)



Εικόνα 13β: Σωληνοειδής μεταπλασία του τραχήλου (ιστολογική και κυτταρολογική εικόνα)

## Κίνητρα και αντικείμενο εργασίας

Ο καρκίνος είναι μια κατηγορία ασθενειών ή διαταραχών που χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτη διαίρεση κυττάρων και την δυνατότητα αυτών των κυττάρων να εισβάλουν σε άλλους ιστούς, είτε από την άμεση αύξηση στον παρακείμενο ιστό μέσω εισβολής είτε από την εμφύτευση σε απόμακρες περιοχές μέσω μετάστασης.

Αυτή η ανεξέλεγκτη αύξηση προκαλείται από ζημιά στο DNA, με συνέπεια τις μεταλλάξεις στα γονίδια που ελέγχουν την κυτταροδιαίρεση. Διάφορες μεταλλάξεις μπορούν να απαιτηθούν για να μετασχηματίσουν ένα κανονικό κύτταρο σε ένα κακόηθες κύτταρο. Αυτές οι μεταλλάξεις προκαλούνται συχνά από χημικές ουσίες ή τους φυσικούς παράγοντες αποκαλούμενες καρκινογόνες ουσίες. Μερικές μεταλλάξεις εμφανίζονται αυθόρμητα, ή μπορούν να κληρονομηθούν ως μεταλλάξεις γραμμών μικροβίων.

Ο Ιπποκράτης ήταν αυτός που έδωσε στην πάθηση του καρκίνου το όνομα της και αυτός που την ανακάλυψε. Έτσι ο Ιπποκράτης παρομοίασε τον όγκο που προκαλεί ο καρκίνος με την εικόνα του κάβουρα (καρκίνου).

Οι κυριότερες αιτίες που μπορούν να προκαλέσουν τον καρκίνο είναι: η καθιστική ζωή, το αλκοόλ, η διατροφή, το κάπνισμα ή πολύωρη έκθεση στον ήλιο και η κληρονομικότητα. Μία από τις πλέον πιθανές θεωρίες για την καρκινογένεση είναι αυτή του χρόνιου ερεθισμού των ιστών από κάποιους βλαπτικούς παράγοντες.

Ο καρκίνος μπορεί να προκαλέσει πολλά διαφορετικά συμπτώματα, ανάλογα με την περιοχή και το χαρακτήρα της κακοήθειας και εάν υπάρχει μετάσταση. Ο καρκίνος μπορεί να είναι ανώδυνος. Μια οριστική διάγνωση απαιτεί συνήθως ιστολογική εξέταση από έναν παθολόγο. Αυτός ο ιστός λαμβάνεται από βιοψία ή χειρουργική επέμβαση. Μόλις εντοπιστεί, ο καρκίνος θεραπεύεται συνήθως με χειρουργική επέμβαση, χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία.

Εάν δεν θεραπευθούν, οι καρκίνοι μπορούν τελικά να προκαλέσουν θάνατο. Ο καρκίνος είναι κυρίως μια ασθένεια των πιο τελευταίων ετών, και είναι μια από τις κύριες αιτίες του θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες. Πολλοί τύποι καρκίνου μπορούν να θεραπευτούν, ειδικά εάν η θεραπεία αρχίσει νωρίς. Κάποιες μορφές καρκίνου συνδέονται με την έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το κάπνισμα, το οινόπνευμα, επικίνδυνες χημικές ουσίες και σε ορισμένους ιούς. Μερικοί από αυτούς μπορούν να αποφευχθούν μέσω εμβολιασμού.

Οι πλέον συνηθισμένες μορφές καρκίνου είναι ο καρκίνος του πνεύμονα και του προστάτη αδένου στους άντρες και ο καρκίνος του μαστού και του τραχήλου της μήτρας για τις γυναίκες.

## Καρκίνος και Δημόσια Υγεία

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, διαπιστώνεται εντυπωσιακή πρόοδος σε όλους τους τομείς της Τεχνολογίας και των επιστημών υγείας. Ωστόσο παρά τις σύγχρονες δυνατότητες θεραπείας και διάγνωσης ο καρκίνος παραμένει ένα μείζον και δυσεπίλυτο υγειονομικό πρόβλημα.

Η πρόληψη και ιδιαίτερα, η πρωτογενής πρόληψη θεωρείται η ιδανική λύση στην προσπάθεια βελτίωσης της Δημόσιας Υγείας. Στην προσπάθεια αυτή η κατανόηση της διαδικασίας καρκινογένεσης, δηλαδή της αναζήτησης των αιτιολογικών παραγόντων κακοήθους εξαλλαγής των κυττάρων, πρέπει να είναι ο κύριος στόχος.

Στο χώρο της Γυναικολογικής Ογκολογίας και ιδιαίτερα όταν αναφερόμαστε στην ανάπτυξη καρκίνου σε νέες γυναίκες η ανάγκη για ενδελεχή γνώση της αιτιολογίας και παθογένειας των κακοήθων νοσημάτων των οργάνων του γεννητικού συστήματος, είναι προφανής, με στόχο πάντα την πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη του καρκίνου.

Προς την κατεύθυνση αυτή έχουν θεσπιστεί μέθοδοι έγκαιρης διάγνωσης και ανίχνευσης του καρκίνου, όπως του καρκίνου του μαστού, του εντέρου, του μελανώματος και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

### Ορισμός του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας προκαλείται από την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων του τραχήλου της μήτρας. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αναπτύσσεται αργά. Οι πρωιμότερες προκαρκινικές αλλαγές κάνουν τα κύτταρα που βρίσκονται εσωτερικά ή εξωτερικά του τραχήλου να φαίνονται διαφορετικά από τα αντίστοιχα φυσιολογικά. Αυτές οι αλλαγές, όταν εμφανίζονται στο κολποτραχηλικό επίχρισμα (τεστ Παπανικολάου), αποκαλούνται «άτυπα κύτταρα». Ωστόσο, τα άτυπα κύτταρα δεν είναι απολύτως ειδικά για μια προκαρκινική κατάσταση καθώς μπορούν να εμφανιστούν προσωρινά και σε λοιμώξεις ή ερεθίσματα του επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας.

Αν είναι προκαρκινικά, τα άτυπα κύτταρα μπορούν να γίνουν ολοένα και πιο ανώμαλα σε εμφάνιση με την πάροδο του χρόνου και είναι πιο πιθανό να εξελιχθούν σε καρκίνο εάν αφεθούν χωρίς θεραπεία. Στα τεστ Pap, αυτές οι ενδιάμεσες κυτταρικές αλλαγές ονομάζονται χαμηλού ή υψηλού βαθμού πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις. Εάν αυτά τα κύτταρα γίνουν καρκινικά, είναι αρχικά περιορισμένα εντός του επιθηλίου και των βλεννογόνων αδένων του τραχήλου (in situ). Χωρίς θεραπεία, τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να διηθήσουν και να εξαπλωθούν στους υποστηρικτικούς ιστούς του τραχήλου και έχουν το δυναμικό και να εξαπλωθούν και σε άλλα μέρη του σώματος.

Περίπου 80-90% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας είναι πλακώδη κυτταρικά καρκινώματα, τα οποία λαμβάνουν χώρα στα επίπεδα πλακώδη κύτταρα τα οποία καλύπτουν το επιθήλιο του εξωτραχήλου. Οι περισσότερες από τις άλλες περιπτώσεις είναι αδενοκαρκινώματα, τα οποία προέρχονται ενδότερα από τα αδενικά κύτταρα που παράγουν την βλέννη στον ενδοτράχηλο. Λίγοι καρκίνοι του τραχήλου είναι μίγματα και των δύο τύπων. Με έγκαιρη ανίχνευση, ειδικά της ενδοεπιθηλιακής νεοπλαστικής αλλοίωσης και των πρώιμων μορφών του καρκίνου, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι συνήθως εύκολα θεραπεύσιμος. Ωστόσο, αν αφεθεί χωρίς έλεγχο, είναι σχεδόν πάντα μοιραίος.

Με την πάροδο του χρόνου, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας μπορεί να εξαπλωθεί (να κάνει μετάσταση) στο υπόλοιπο σώμα της μήτρας, την ουροδόχο κύστη, στο ορθό και στο κοιλιακό τοίχωμα. Τελικά, φτάνει στους λεμφαδένες της πυέλου και δημιουργεί μεταστάσεις. Τα καρκινικά κύτταρα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μπορούν τότε να εισβάλουν σε άλλα όργανα του σώματος.

## Συμπτώματα

Οι προκαρκινικές αλλοιώσεις στον τράχηλο συνήθως δεν προκαλούν κανένα σύμπτωμα. Μέχρι τη στιγμή που κάποια γυναίκα παρατηρήσει μη ειδικά συμπτώματα, όπως αυξημένα κολπικά εκκρίματα και/ή μη φυσιολογική αιμορραγία ανάμεσα σε εμμηνορροϊκές περιόδους ή μετά από ερωτική επαφή, συνήθως ο διηθητικός καρκίνος έχει συνήθως αναπτυχθεί και μπορεί να έχει ήδη εξαπλωθεί σε γειτονικούς ιστούς. Υπάρχουν πολλές καταστάσεις διαφορετικές από τον καρκίνο ωστόσο οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν ανώμαλη κολπική αιμορραγία και εκκρίματα. Τα συμπτώματα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας έχουν άμεση σχέση με το στάδιο της νόσου. Στα αρχικά στάδια η νόσος είναι ασυμπτωματική. Αργότερα όμως μπορεί να εμφανιστούν αιμορραγίες, αυξημένα υγρά στον κόλπο και σε πολύ προχωρημένα στάδια ο καρκίνος επεκτείνεται τοπικά και προκαλεί τοπικό άλγος ή δυσουρικά προβλήματα, συχνουρία, αιματουρία, οιδήματα κάτω άκρων, οσφυαλγία και συμπτώματα από απομακρυσμένα όργανα που νοσούν λόγω μεταστάσεων, όπως ηπατομεγαλία σε ηπατικές μεταστάσεις, οστικά άλγη σε οστικές μεταστάσεις και δύσπνοια σε πνευμονικές μεταστάσεις.

## Τι προκαλεί τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Σε αδρές γραμμές:

- Ο ιός HPV (Human papillomavirus)
- Σεξουαλικοί παράγοντες
- Ανδρικός παράγοντας
- Αναπαραγωγικά δεδομένα
- Εμμηνορροϊκά δεδομένα
- Κάπνισμα
- Αντισυλληπτικές μέθοδοι
- Διαιτητικοί παράγοντες
- Ανοσοβιολογικοί παράγοντες
- Ογκογονίδια

Σε αντίθεση με άλλους καρκίνους, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας δεν είναι κληρονομικός. Προκαλείται συνήθως και θεωρείται ότι οφείλεται αποκλειστικά από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV). Ορισμένοι τύποι αυτού του ιού μπορούν να μετατρέψουν τα υγιή τραχηλικά κύτταρα σε παθολογικά κύτταρα. Σε μικρό ποσοστό του προσβεβλημένου πληθυσμού και μέσα σε μεγάλο χρονικό διάστημα (από μερικά χρόνια μέχρι και αρκετές δεκαετίες), κάποια από αυτά τα παθολογικά κύτταρα θα εξελιχθούν σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Τονίζουμε λοιπόν ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι η πιο γνωστή μορφή καρκίνου σε γυναίκες κάτω των 35 ετών και η δεύτερη πιο γνωστή μορφή καρκίνου σε γυναίκες όλων των ηλικιών παγκοσμίως. Η κύρια αιτία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας προκαλείται από τον ιό HPV, η πιο γνωστή σεξουαλικά μεταδιδόμενη ασθένεια παγκοσμίως. Το 50 με 80% του γυναικείου πληθυσμού θα έρθει σε αντιμέτωπη με ορισμένους τύπους του ιού κάποια στιγμή της ζωής τους. Η εξέλιξη της μόλυνσης του ιού μπορεί να οδηγήσει με πιθανότητα 60% σε νεοπλασία του επιθηλιακού ιστού του τραχήλου (CIN) ακόμα και σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. [4]

Κάθε γυναίκα που έχει προσβληθεί από τους ιούς των ανθρωπίνων θηλωμάτων διατρέχει τον κίνδυνο να νοσήσει από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η πρώτη μόλυνση από τον ιό συμβαίνει με την έναρξη των σεξουαλικών σχέσεων νωρίς στην εφηβεία ή στη νεαρή ενήλικη ζωή, που είναι και η ηλικία που εμφανίζεται η μεγαλύτερη έκθεση στον ιό (16-26 ετών). Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ότι το 40% όλων των γυναικών που νοσούν από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας βρίσκεται μεταξύ 35 και 54 ετών.

Δυστυχώς ο ιός μεταδίδεται πολύ εύκολα από ένα άτομο στο άλλο κυρίως μέσω της σεξουαλικής επαφής αλλά και της δερματικής επαφής με τη γεννητική περιοχή. Η ασθένεια αυτή λοιπόν μπορεί να συμβεί σε κάθε γυναίκα γιατί ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων είναι πολύ κοινός, μεταδίδεται πολύ εύκολα και μπορεί να είναι τελείως ασυμπτωματικός. Οι περισσότεροι από εμάς είναι πιθανό να έρθουμε σε επαφή με τον ιό, κάποια στιγμή της ζωής μας, χωρίς να το γνωρίζουμε. Συγκεκριμένα, έχει υπολογισθεί ότι το 70% των γυναικών και ανδρών θα έρθει σε επαφή με τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων HPV στη διάρκεια της ζωής τους.

Έχουν γίνει πολλές μελέτες για να προσδιορίσουν όλες τις αιτίες του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας τα τελευταία 50 χρόνια. Οι περισσότερες από τις μελέτες έχουν συγκρίνει γυναίκες με CIN ή διηθητικό καρκίνο, με γυναίκες με φυσιολογικούς τραχήλους. Οι γυναίκες κατηγοριοποιούνται κατά ηλικία, τεκνοποίηση και κοινωνική κατάσταση, ώστε να αναγνωριστεί το αίτιο ή οι συνυπεύθυνοι παράγοντες για την ανάπτυξη της νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας. Παρά τις εκτεταμένες μελέτες, δεν αναδεικνύεται ένας παράγοντας ως η μοναδική αιτία της νόσου και είναι πολύ πιθανό ότι ένας αριθμός παραγόντων δρουν σε συνδυασμό. Αυτοί συμπεριλαμβάνουν την σεξουαλική συμπεριφορά, την χρήση αντισυλληπτικών, το κάπνισμα, και την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος. Υπάρχει ισχυρή απόδειξη ότι ένας σεξουαλικά μεταδιδόμενος παράγοντας εμπλέκεται και ότι οι ιοί του ανθρώπινου θηλώματος είναι οι κύριοι ύποπτοι προς το παρόν.

Ιός του ανθρώπινου θηλώματος: DNA ανάλυση των θηλωμάτων του ανώτερου γεννητικού συστήματος, τραχηλικού ιστού με CIN και τραχηλικού ιστού με καρκίνο, έχουν δείξει ότι δύο ομάδες HPV μπορούν να αναγνωριστούν στο γυναικείο γεννητικό σύστημα. Η μία ομάδα HPV (τύποι 6, 11) βρίσκεται σχεδόν πάντα σε χαμηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις του τραχήλου (CIN) και σε εξωφυτικά κονδυλώματα του ανώτερου γεννητικού συστήματος τα οποία έχουν χαμηλή πιθανότητα εξέλιξης σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Μία δεύτερη ομάδα HPV (τύποι 16, 18) βρίσκεται πιο συχνά σε CIN2 και CIN3 αλλοιώσεις οι οποίες έχουν υψηλή πιθανότητα εξέλιξης σε διηθητικό καρκίνο.

Σεξουαλική δραστηριότητα: Η σχέση μεταξύ σεξουαλικής δραστηριότητας και τραχηλικού καρκίνου είναι γνωστή για περισσότερο από έναν αιώνα. Το 1982 ο Rignon Stern εξέτασε τα αρχεία θανάτων στη Βερόνα και κατέγραψε ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας ήταν συχνός στις παντρεμένες γυναίκες αλλά όχι στις ανύπαντρες και στις καλόγριες. Πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η ηλικία της πρώτης συνουσίας και ο αριθμός των σεξουαλικών παρτενέρ (Harris et al 1980) είναι σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη CIN και καρκίνου. Αντίθετα με παλαιότερους ισχυρισμούς, η περιτομή δεν ελαττώνει τον κίνδυνο.

Χρήση αντισυλληπτικών σκευασμάτων: Υπάρχουν πολλές μελέτες που έχουν ερευνήσει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε γυναίκες που παίρνουν αντισυλληπτικά χάπια. Αυτές οι μελέτες είναι περίπλοκες επειδή υπάρχουν πολλά διαφορετικά σκευάσματα αντισυλληπτικών και η χρήση τους είναι περιοδικά διακοπτόμενη. Μία πρόσφατη μελέτη που διεξήχθη από την Διεθνή Υπηρεσία Έρευνας Καρκίνου (2002) βρήκε ότι η παρατεταμένη χρήση αντισυλληπτικών αύξησε τον κίνδυνο του τραχηλικού καρκίνου στις γυναίκες που είχαν ήδη μολυνθεί από έναν από τους HPV ιούς υψηλού κινδύνου (HPV 16 ή 18). Οι γυναίκες που είχαν χρησιμοποιήσει το χάπι για 5-9 χρόνια είχαν τρεις φορές μεγαλύτερη πιθανότητα, από τις γυναίκες που δεν το χρησιμοποιούσαν, να αναπτύξουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Οι γυναίκες που είχαν χρησιμοποιήσει το χάπι περισσότερο από 10 χρόνια είχαν τέσσερις φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν την νόσο. Αυτός ο κίνδυνος δεν επηρεαζόταν από την ηλικία της πρώτης χρήσης ή το χρονικό διάστημα από την πρώτη /τελευταία χρήση. Σε μία μελέτη 889 γυναικών που απεβίωσαν από την νόσο, Vessey et al (2003), βρήκαν ότι αν και τα ορμονικά σκευάσματα που λαμβάνονται από το στόμα αυξάνουν τον κίνδυνο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, ελάττωναν τον κίνδυνο του καρκίνου του ενδομητρίου και των ωοθηκών. Τα άλλα αντισυλληπτικά μέτρα, όπως το προφυλακτικό και οι ενδομητρικές αντισυλληπτικές συσκευές δεν φαίνεται να επηρεάζουν την ανάπτυξη ή την εξέλιξη του καρκίνου.

Κάπνισμα: Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το κάπνισμα είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη CIN και διηθητικού καρκίνου, όπως είναι και για πολλούς άλλους επιθηλιακούς καρκίνους. Έχει γίνει μάλιστα η υπόθεση ότι ακόμα και το παθητικό κάπνισμα μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο (Haverkos et al 2003). Τα παράγωγα της νικοτίνης έχουν ανιχνευθεί μέσα στην τραχηλική βλέννη, όπου μπορούν να δρουν ως επιπρόσθετος καρκινογόνος παράγοντας. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες στον καπνό του τσιγάρου σχηματίζουν επιβλαβείς προσμίξεις στο DNA των τραχηλικών επιθηλιακών κυττάρων τα οποία μπορεί να παρουσιάσουν μετάλλαξη και νεοπλασματική εξαλλαγή (Simons et al 1994, 1995). Υπάρχουν κάποιες αποδείξεις ότι ο καπνός του τσιγάρου μπορεί να αντιδρά με το DNA του ιού του ανθρώπινου θηλώματος και να προκαλεί κακοήγη εξαλλαγή των επιθηλιακών κυττάρων.

Ανοσοποιητικό σύστημα: Η θεωρία ότι η ανοσοποιητική επίβλεψη μπορεί να είναι από τους πιο σημαντικούς φυσικούς τρόπους ελέγχου της ανάπτυξης καρκίνου στηρίζεται στο γεγονός ότι η τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN) κυριαρχεί σε δέκτες μοσχευμάτων, σε καρκινοπαθείς και οροθετικές HIV γυναίκες. Αυτές οι ομάδες γυναικών έχουν μειωμένη ανοσολογική αντίδραση των T-λεμφοκυττάρων η οποία μπορεί να επηρεάσει την ικανότητα τους να παρουσιάσουν μία επαρκή ανοσολογική απάντηση εναντίων των ξένων αντιγόνων των καρκινικών κυττάρων και έτσι δεν είναι ικανές να τα περιορίσουν ή να τα καταστρέψουν.

Μικροβιακοί παράγοντες: Ένα σύνολο από μικροοργανισμούς έχουν ενοχοποιηθεί στο παρελθόν ότι εμπλέκονται στην διαδικασία της καρκινογένεσης. Σε αυτούς συμπεριλαμβάνονται η τριχομονάδα του κόλπου, ο έρπης των γεννητικών οργάνων και τα χλαμύδια. Οι πιο πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν τους ιούς του ανθρώπινου θηλώματος ως παράγοντες κλειδιά στην παθογένεση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και τις πρόδρομες αλλοιώσεις.

## Τι προκαλεί ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ίσως η μοναδική μορφή καρκίνου που σχετίζεται σε ποσοστό 99,7% με έναν ιό, τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Τέτοια συσχέτιση δεν έχει αποδειχθεί ούτε μεταξύ καπνίσματος και του καρκίνου του πνεύμονα. Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων είναι πολύ συχνός, υπολογίζεται ότι το 70% των σεξουαλικά ενεργών ατόμων θα εκτεθούν κάποια στιγμή της ζωής τους στον ιό, συχνά ως έφηβοι ή νεαροί ενήλικες.

Υπάρχουν περίπου 200 διαφορετικοί τύποι του ιού, από τους οποίους οι 40 προσβάλλουν τη γεννητική περιοχή, προκαλώντας 1.000.000 περιστατικά γεννητικών νοσημάτων ετησίως στην Ευρώπη. Μερικοί τύποι χαρακτηρίζονται χαμηλού κινδύνου όπως είναι ο 6 και ο 11 που ευθύνονται για το 90% των οξυτενών κονδυλωμάτων και για ήπιες τραχηλικές αλλοιώσεις. Αντιθέτως άλλοι τύποι αναφέρονται ως υψηλού κινδύνου ή καρκινογόνοι, διότι μπορούν να προκαλέσουν τραχηλικές αλλοιώσεις που θα εξελιχθούν σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, καθώς επίσης και άλλου είδους προ-καρκινικές αλλοιώσεις που μπορούν να εξελιχθούν σε καρκίνο του αιδοίου και του κόλπου. Από τους καρκινογόνους ιούς, οι τύποι 16 και 18 ευθύνονται για το 75% περίπου των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, το 70% των περιπτώσεων προ-καρκινικών αλλοιώσεων που παρατηρούνται στον τράχηλο της μήτρας (CIN2 και CIN3) καθώς και το 95% των περιπτώσεων καρκίνου του αιδοίου και του κόλπου που οφείλονται στον ιό HPV.

Συνολικά μπορούμε να πούμε ότι οι τύποι 6, 11, 16 και 18 του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων ευθύνονται για τα 2/3 όλων των γεννητικών νοσημάτων που σχετίζονται με τον ιό HPV. Οι τύποι 6 και 11 ευθύνονται για τα μισά από τα νοσήματα αυτά. Όσο αφορά τις αλλοιώσεις (CIN) του επιθηλιακού ιστού του τραχήλου αυτές κατηγοριοποιούνται σε στάδια CIN I, CIN II και CIN III ανάλογα με τη σοβαρότητα τους και το στρώμα των κυττάρων τα οποία έχουν μολυνθεί. Δεν υπάρχουν ποσοτικά κριτήρια κατηγοριοποίησης των σταδίων αυτών και για αυτό η διάγνωση είναι κυρίως υποκειμενική.

## Σταδιοποίηση του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

- Έχουν περιγραφεί πέντε κλινικά στάδια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας από την Παγκόσμια Ομοσπονδία Μαιευτικής και Γυναικολογίας (FIGO). Αυτά αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.
- Το στάδιο 0 και το στάδιο 1 αποτελούν τα προκλινικά στάδια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Σε αυτά τα στάδια ο προληπτικός έλεγχος (screening) του κολποτραχηλικού επιχρίσματος και η κολποσκόπηση παίζουν σημαντικό ρόλο στην διάγνωση δεδομένου ότι οι γυναίκες με καρκίνο σταδίου 0 και 1 είναι ασυμπτωματικές και ο καρκίνος δεν μπορεί να εντοπιστεί με γυμνό μάτι.
- Τα στάδια 2, 3, και 4 σχετίζονται συνήθως με συμπτώματα, όπως μετεμηνοπαυσιακή αιμορραγία και αποτελούν την διηθητική φάση της νόσου. Το σύστημα σταδιοποίησης της FIGO χρησιμοποιείται ευρέως από τους κλινικούς για σχεδιασμό θεραπειάς.
- Ένα ιστολογικό σύστημα σταδιοποίησης, το σύστημα TNM, προτιμάται από τους παθολογοανατόμους (βλέπε TNM σταδιοποίηση κακοήθων νεοπλασμάτων UICC έκτη έκδοση 2002).

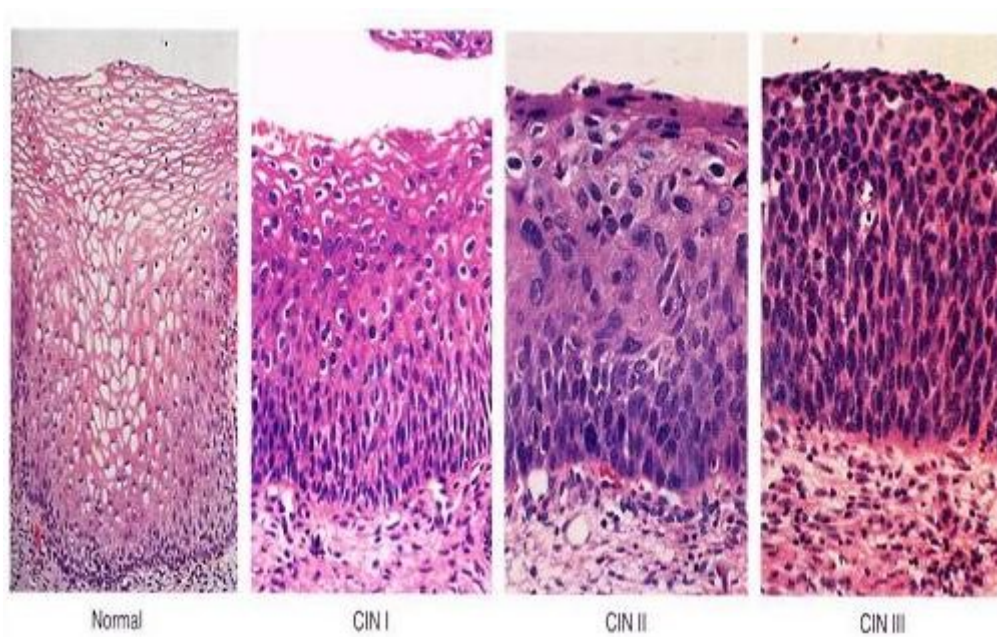
Στάδιο	FIGO Περιγραφή
0	Προεπεμβατικό καρκίνωμα (CIN3 ή καρκίνωμα in situ)
I	Το καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας περιορίζεται στη μήτρα
Ia	Επεμβατικός καρκίνος που διαγιγνώσκεται μόνο με μικροσκόπιο
Ia1	Στρωματική εισβολή <3 χιλιοστά βάθος και <7 χιλιοστά οριζόντια εξάπλωση
Ia2	Στρωματική εισβολή >3 και <5 χιλιοστά βάθος και <7 χιλιοστά οριζόντια εξάπλωση
IB	Κλινικά ορατή αλλοίωση που περιορίζεται στο τράχηλο ή στη μικροσκοπική βλάβη > 1a2
IB1	Κλινικά εμφανείς αλλοιώσεις <4 εκατοστών σε μεγαλύτερη διάσταση
IB2	Κλινικά εμφανείς αλλοιώσεις >4 εκατοστών σε μεγαλύτερη διάσταση
II	Όγκος που εισβάλλει πέραν της μήτρας, αλλά να όχι στο πυελικό τοίχωμα ή στο χαμηλότερο τρίτο του κόλπου
IIA	Χωρίς εισβολή
IIB	Με εισβολή
III	Όγκος που εκτείνεται στον πυελικό τοίχο και / ή περιλαμβάνει το χαμηλότερο τρίτο του κόλπου και / ή των αιτιών που υδρονέφρωση ή μη λειτουργίας των νεφρών
IIIA	Όγκος που περιλαμβάνει το χαμηλότερο τρίτο του κόλπου, αλλά δεν εκτείνεται στον πυελικό τοίχο
IIIB	Όγκου που εκτείνεται στον πυελικό τοίχο και / ή των αιτιών που hydronephosis ή μη λειτουργίας των νεφρών
IVA	Όγκος που εισβάλλει στο βλεννογόνο της κύστης ή του ορθού ή / και εκτείνεται πέραν της πυέλου
IVB	Απομακρυσμένη μετάσταση

Πίνακας 1: Στάδιο και FIGO περιγραφή της εξέλιξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Σε γενικές γραμμές ο άξονας κατηγοριοποίησης των αλλοιώσεων ανάλογα με το πάχος του πλακώδους επιθηλίου που καταλαμβάνουν τα αδιαφοροποίητα κύτταρα παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα: [5]

Στάδιο Αλλοίωσης	Ιστολογική Περιγραφή
CIN I: ήπια δυσπλασία	Δυσπλαστικά κύτταρα στο βασικό στρώμα που καταλαμβάνουν στο 1/3 του επιθηλιακού ιστού.
CIN II: μέτρια δυσπλασία	Δυσπλαστικά κύτταρα στο βασικό στρώμα που καταλαμβάνουν στο 2/3 του επιθηλιακού ιστού.
CIN III: δριμύς δυσπλασία ή καρκίνωμα (in situ)	Δυσπλαστικά κύτταρα σε όλο το πάχος του επιθηλίου.
(Μικρο)επεμβατικό- πλακώδες καρκίνωμα	HSIL αλλοίωση

Πίνακας 2: Στάδια αλλοίωσης και ιστολογική περιγραφή του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας



Εικόνα 14: Στάδια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Τα πρόδρομα στάδια του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι από τις πιο μελετημένες βλάβες που συναντώνται στη γυναίκα. Η δυσπλασία του τραχήλου αποτελεί το όριο μεταξύ ενός φυσιολογικού τραχηλικού επιθηλίου και ενός καρκινικού. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας εμφανίζει βραδεία εξέλιξη ώστε να προχωράει από τα εξής στάδια [15]:

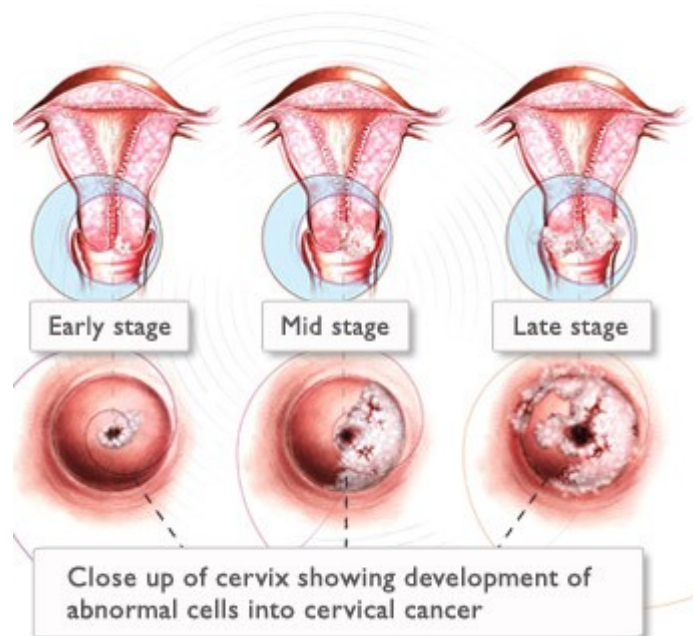
- φυσιολογικός τράχηλος
- δυσπλασία
- ενδοεπιθηλιακός καρκίνος
- μικροδιηθητικός καρκίνος
- διηθητικός καρκίνος

Πιο συγκεκριμένα στα πλαίσια αυτής της εργασίας αναφερόμαστε στα εξής στάδια:

- το στάδιο CIN I θεωρείται στάδιο χαμηλού κινδύνου (low-grade) και θεωρείται πιθανή η αντιμετώπιση του και από τον ίδιο τον οργανισμό
- το στάδιο CIN II και CIN III θεωρείται υψηλού κινδύνου (high-grade) και μπορεί να εξελιχθεί σε καρκίνο.

Χρόνος μετάπτωσης:

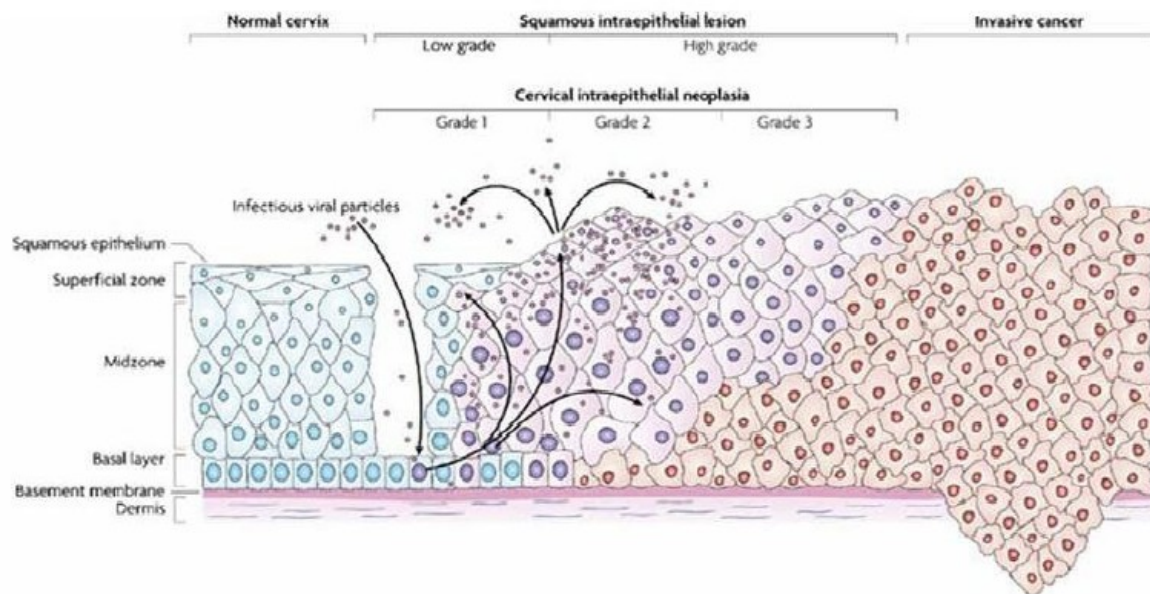
- 5-7 χρόνια για την ήπια δυσπλασία (CIN I)
- 3 χρόνια για τη μέτρια δυσπλασία (CIN II)
- 1 χρόνος για τη δριμύ δυσπλασία (CIN III)



Εικόνα 15: Ανατομικά στάδια της εξέλιξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Η κλινική εικόνα των ατόμων που παρουσιάζουν κάποια από τις παραπάνω μορφές ενδοεπιθηλιακών βλαβών είναι ότι δεν υπάρχουν συμπτώματα παρά μόνο όταν ο καρκίνος είναι προχωρημένος όπου και υπάρχει υδαρής, ελαφρά χρωματισμένη με αίμα έκκριση, διαλείπουσα κολπική αιμόρροια και μητρορραγία.

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται τα στάδια των αλλοιώσεων όπου με μπλε χρώμα είναι ο φυσιολογικός ιστός, με μοβ τα στάδια των αλλοιώσεων (προ-καρκινικά κύτταρα) και με έντονο κόκκινο τα καρκινικά.



Εικόνα 16: Δομή του επιθηλιακού ιστού σε παθογόνα και μη κύτταρα

### Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας: επιδημιολογία, αιτιολογία, παθογένεση και κύριοι ιστολογικοί τύποι.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) αναγνωρίζει δύο κύριους ιστολογικούς τύπους διηθητικού καρκίνου.

- Πλακώδες καρκίνωμα ( το οποίο αποτελεί περίπου το 85% όλων των περιπτώσεων)
- Αδενοκαρκίνωμα (το οποίο αποτελεί περίπου το 10-12% όλων των περιπτώσεων)

Άλλοι τύποι καρκινώματος π.χ. αδενοπλακώδες καρκίνωμα, αδενοκυστικό καρκίνωμα, μεταστατικό καρκίνωμα αποτελούν το υπόλοιπο 3-5% όλων των περιπτώσεων.

Τα πλακώδη καρκινώματα διακρίνονται σε κερατινοποιούμενα και μη κερατινοποιούμενα. Τα κερατινοποιούμενα καρκινώματα μπορεί να είναι υψηλής διαφοροποίησης ή μέτριας διαφοροποίησης και αποτελούνται από μεγάλα καρκινικά κύτταρα. Τα μη κερατινοποιούμενα καρκινώματα (χαμηλής διαφοροποίησης) μπορεί να αποτελούνται από μεγάλα ή μικρού τύπου κύτταρα.

Τα αδενοκαρκινώματα είναι λιγότερο συχνά. Αν και ο κάθε τύπος είναι ξεχωριστή ιστολογική οντότητα, δεν είναι σπάνιο το φαινόμενο δύο ή περισσότεροι ιστολογικοί τύποι αδενοκαρκινώματος να είναι παρόντες σε έναν όγκο. Η συχνή συνύπαρξη αδενικού και πλακώδους καρκινώματος υπονοεί την πιθανή κοινή προέλευση από τα εφεδρικά κύτταρα του τραχήλου, καθώς και κοινή αιτιοπαθογένεια. Ο πιο συχνός τύπος αδενοκαρκινώματος στον τράχηλο της μήτρας είναι το βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα ενδοτραχηλικού τύπου. Αναγνωρίζονται τρεις βαθμοί ενδοτραχηλικού καρκινώματος – υψηλής διαφοροποίησης, μέτριας διαφοροποίησης, και χαμηλής διαφοροποίησης – που εξαρτώνται από τον βαθμό ομοιότητας του καρκινικού κυττάρου με το φυσιολογικό αδενικό κύτταρο του επιθηλίου του ενδοτραχήλου.

## Η έννοια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ως πολυσταδιακή νόσος

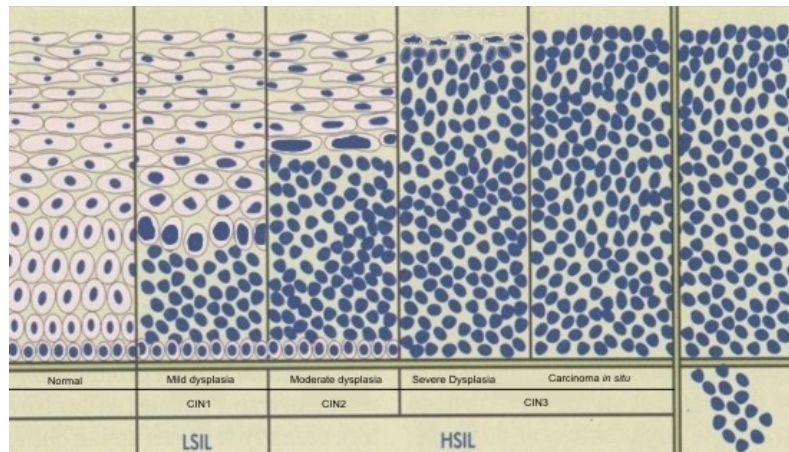
Η σχηματισμός της έννοιας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ως πολυσταδιακή νόσος τοποθετείται χρονικά στις αρχές του 20ου αιώνα.

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι στα περισσότερα από τα διηθητικά πλακώδη καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας έχει προηγηθεί ένα ασυμπτωματικό προδιηθητικό στάδιο της νόσου, στο οποίο τα προκαρκινικά κύτταρα περιορίζονται στο επιθήλιο του τραχήλου. Σε αυτό το στάδιο, τα φυσιολογικά πλακώδη κύτταρα του τραχήλου αντικαθίστανται από μη φυσιολογικό επιθήλιο που αποτελείται από νεοπλασματικά κύτταρα. Αυτό το πρόωρο στάδιο της νόσου ονομάζεται τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN). Εάν δεν διαγνωσθεί και δεν θεραπευτεί, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι η τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN) θα εξελιχθεί σε διηθητικό καρκίνο. Το χρονικό διάστημα για την εξέλιξη της τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας σε διηθητικό πλακώδες καρκίνωμα ποικίλλει από 15 έως 20 χρόνια. Υπάρχουν ισχυρές αποδείξεις ότι ο διηθητικός καρκίνος μπορεί να προληφθεί με την διάγνωση και την θεραπεία του προδιηθητικού καρκίνου.

Ιστολογικές μελέτες του τραχηλικού επιθηλίου στις γυναίκες με πλακώδες καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας έχουν δείξει ότι περιστασιακά ένα ενδιάμεσο στάδιο στην ανάπτυξη του διηθητικού καρκίνου μπορεί να αναγνωριστεί. Αυτό ονομάζεται μικροδιηθητικό στάδιο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Σε αυτό το στάδιο απομονωμένα νεοπλασματικά κύτταρα ή μικρές ομάδες νεοπλασματικών κυττάρων μπορεί να εντοπιστούν βαθιά στην βασική μεμβράνη, η οποία είναι το όριο της ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας. Αυτά τα κύτταρα θεωρούνται η πιο πρόωρη απόδειξη της διήθησης. Καθώς ο όγκος οδεύει προς το διηθητικό στάδιο, «γλώσσες» καρκινικών κυττάρων προεκβάλλουν από το επιθήλιο του τραχήλου, βαθιά στο υπόστρωμα. Ο όγκος μπορεί να διηθεί τοπικά και να επεκτείνεται, αλλά ενίοτε διηθεί αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία οδηγώντας σε μεταστάσεις.

Το προδιηθητικό στάδιο του αδενοκαρκινώματος μπορεί επίσης να αναγνωριστεί ιστολογικά και ονομάζεται αδενοκαρκίνωμα *in situ* ή τραχηλική αδενική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CGIN). Το μικροδιηθητικό στάδιο του αδενοκαρκινώματος, αν και πιθανότατα υπάρχει, δεν είναι ξεκάθαρα καθορισμένη ιστολογική οντότητα.

Παρακάτω παρουσιάζεται μία γραφική αναπαράσταση των σταδίων της ανάπτυξης του πλακώδους καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και δείχνει την εξέλιξη από το φυσιολογικό επιθήλιο, μέσω του CIN1, CIN2 και CIN3, στον μικροδιηθητικό και διηθητικό καρκίνο. Είναι πιθανό ότι οι περισσότεροι καρκίνοι περνούν από αυτά τα στάδια αν και υπάρχουν αναφορές για καρκίνους που αναπτύχθηκαν *de novo*, κατ' ευθείαν από μία εστία CIN1.



Εικόνα 17: Χαμηλού και υψηλού επιπέδου αλλοιώσεις του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

### Προδιηθητικές αλλοιώσεις: WHO και CIN ορολογία

Η έννοια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ως πολυσταδιακή νόσος τοποθετείται χρονικά στις αρχές του 20ου αιώνα, όταν ο Rubin (1910) περιέγραψε τις ιστολογικές αλλαγές στο επιθήλιο του τραχήλου της μήτρας τις οποίες πίστευε ότι ήταν πρόδρομοι του διηθητικού πλακώδους καρκινώματος. Παρατηρούμε ότι τα μη φυσιολογικά κύτταρα του πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου ήταν παρόμοια με τα κύτταρα του διηθητικού καρκίνου. Αυτές οι αλλοιώσεις συνεπώς περιγράφηκαν ως «καρκίνωμα in situ» για να τονιστεί η δυνατότητα εξέλιξης σε καρκίνο αυτών των αλλοιώσεων. Τα επόμενα χρόνια οι παθολόγοι περιέγραψαν ένα μεγάλο εύρος πλακώδους ατυπίας στο επιθήλιο του τραχήλου της μήτρας, αλλά υπήρχε κάποια αβεβαιότητα για την δυνατότητα εξέλιξης προς κακοήθεια αυτών των αλλοιώσεων. Ο όρος «δυσπλασία» εισήχθη από τον Reagan et al (1953) για να περιγράψει τους μικρότερους βαθμούς ατυπίας. Οι δυσπλασίες διακρίθηκαν σε ήπια, μέτρια και σοβαρή. Η διάκριση αυτή εξαρτάται από την αναλογία του πάχους του τραχηλικού επιθηλίου που καταλαμβάνεται από νεοπλασματικά κύτταρα.

Το 1975 η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) πρότεινε να χρησιμοποιείται ο όρος «καρκίνωμα in situ» για να περιγράψει αυτές τις αλλοιώσεις στις οποίες όλο το πάχος του επιθηλίου έχει αντικατασταθεί από αδιαφοροποίητα νεοπλασματικά κύτταρα. Η WHO επίσης πρότεινε να χρησιμοποιείται ο όρος «δυσπλασία» για τις νεοπλασματικές αλλοιώσεις του τραχήλου στις οποίες μόνο μέρος του πάχους του επιθηλίου έχει αντικατασταθεί από αδιαφοροποίητα νεοπλασματικά κύτταρα. Ήταν ευρέως αποδεκτό τότε ότι η δυσπλασία ήταν παθολογική κατάσταση που ήταν κλινικά διακριτή από το καρκίνωμα in situ, και δεν είχε δυνατότητα εξέλιξης προς κακοήθεια: επιπλέον ότι οι δυσπλασίες δεν χρειάζονταν θεραπεία.

Αυτή η υπόθεση αμφισβητήθηκε από τον Richart ο οποίος στην συνέχεια εισήγαγε την έννοια ότι ή ήπια, η μέτρια και η σοβαρή δυσπλασία καθώς και το καρκίνωμα in situ είναι συνεχόμενες, και η μια αλλοίωση εξελίσσεται στην επόμενη. Εισήγαγε τον όρο Τραχηλική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία (CIN) ως διακριτικό όρο που ενσωματώνει όλους τους βαθμούς δυσπλασίας συμπεριλαμβανομένου του καρκινώματος in situ.

Τρεις βαθμοί CIN αναγνωρίζονται πλέον: ο CIN1 ανταποκρίνεται στην ήπια δυσπλασία, ο CIN2 ανταποκρίνεται στην μέτρια δυσπλασία, και ο CIN3 ανταποκρίνεται στην σοβαρή δυσπλασία και το καρκίνωμα in situ. Προοπτικές μελέτες υπέδειξαν ότι ο κίνδυνος της εξέλιξης του CIN σε διηθητικό καρκίνο αυξάνεται με τον βαθμό της CIN αλλοίωσης. Έτσι η πιθανότητα της εξέλιξης είναι μεγαλύτερη σε γυναίκες με CIN3 και μικρότερη σε γυναίκες με CIN1.

Η ορολογία της WHO καθώς και η CIN ορολογία χρησιμοποιούνται σήμερα από τους παθολογοανατόμους για να περιγράψουν το προδιηθητικό πλακώδες καρκίνωμα. Το σύστημα Bethesda (TBS) έχει εισάγει τους όρους HSIL και LSIL για να περιγράψει τις CIN αλλοιώσεις.

### Ιστολογικά χαρακτηριστικά του CIN

- Δομικές αλλαγές στο επιθήλιο:
  1. Αντικατάσταση ολοκλήρου του πάχους του πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας από μη φυσιολογικό επιθήλιο.
  2. Αδιαφοροποίητα άτυπα κύτταρα με υψηλή πυρηνό /πλασματική αναλογία αντικαθιστούν την βασική στιβάδα με απώλεια προσανατολισμού. Το επίπεδο στο οποίο βρίσκονται αυτά τα αδιαφοροποίητα κύτταρα προσδιορίζει τον βαθμό του CIN.
  3. Άτυπη ωρίμανση και άτυπη αρχιτεκτονική διαμόρφωση του επιθηλίου.
  4. Αυξημένη κυτταροβρίθεια του επιθηλίου.
  
- Κυτταρολογικές αλλαγές του επιθηλίου
  1. Παρουσία μιτώσεων – συχνά άτυπων
  2. Πλειομορφία στους πυρήνες, ποικιλία στο σχήμα και το μέγεθος
  3. Υπερχρωμασία

### Τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία

Ο όρος τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (cervical intraepithelial neoplasia-CIN) αναφέρεται στην ύπαρξη δυσπλαστικών αλλοιώσεων στο επιθήλιο του τραχήλου, χωρίς διάσπαση της βασικής μεμβράνης. Ως κύριος αιτιολογικός παράγοντας θεωρείται η λοίμωξη από τον HPV, η οποία λαμβάνει χώρα καταρχήν στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας. Όσοι περισσότερες στοιβάδες κυττάρων, από την βασική προς την επιπολής, ανευρίσκονται με αλλοιωμένα κύτταρα, τόσο μεγαλύτερη θεωρείται η βαρύτητα της ενδοεπιθηλιακής βλάβης (CIN1, CIN2, CIN3). Ως CIN3 θεωρείται η πλήρης κατάληψη όλων των στοιβάδων από δυσπλαστικά κύτταρα (carcinoma in situ). Τελευταία, η διάκριση αυτή σε τρεις βαθμούς αντικαθίσταται από άλλη με δύο βαθμούς, την ελαφρού και την σοβαρού βαθμού πλακώδη ενδοεπιθηλιακή βλάβη (low & high grade intraepithelial lesion-Lo & Hi SIL). Περίπου το 80% των περιπτώσεων ελαφρού βαθμού CIN υποστρέφεται αυτόματα με την πάροδο του χρόνου, ενώ το υπόλοιπο εμφανίζει παραμονή ή και επιδείνωση των αλλοιώσεων. Αντίθετα, οι σοβαρού βαθμού βλάβες εγκυμονούν κινδύνους να εξελιχθούν σε διηθητικές.

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αφορά κάθε γυναίκα. Η βιοϊατρική επιστήμη στοχεύει στην εύρεση διαγνωστικών μεθόδων για έγκαιρο και έγκυρο εντοπισμό και αναγνώριση της μόλυνσης αυτής σε πρώιμα στάδια όπως CIN I. Οι διαγνωστικές μέθοδοι ονομάζονται ιατρικοί έλεγχοι-εξετάσεις που γίνονται με σκοπό τον εντοπισμό και την πρόληψη ασθενειών, μειώνοντας όσο το δυνατό τα περιθώρια λανθασμένης διάγνωσης. Στις ΗΠΑ η επίπτωση του καρκίνου της μήτρας όπως και η θνησιμότητα από αυτόν μειώθηκε μέχρι και 75% από το 1949 οπότε και εισήχθη για πρώτη φορά οι κλινικές εξετάσεις στην κλινική πράξη.

Η Τραχηλική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία μπορεί να εξελιχθεί σε διηθητικό καρκίνο εάν δεν θεραπευτεί.

- Ο κίνδυνος της εξέλιξης αυξάνεται με τον βαθμό του CIN
- Υψηλότερος κίνδυνος εξέλιξης στο CIN3, χαμηλότερος στο CIN1
- Μπορεί να παραμείνει αμετάβλητο
- Για την εξέλιξη μπορεί να χρειαστούν έως 20 χρόνια
- Το CIN1 μπορεί να υποχωρήσει
- Δεν υπάρχουν αυστηρά όρια μεταξύ του CIN1 /2 /3

Αποδείξεις που στηρίζουν την άποψη ότι το CIN που δεν υποβάλλεται σε θεραπεία μπορεί να οδηγήσει σε διηθητικό καρκίνο

- Έμμεσες αποδείξεις ότι το CIN1, 2, και 3 είναι συνεχόμενες αλλοιώσεις (lesional continuum) βασίζονται σε πειραματικές μελέτες. Άμεσες αποδείξεις ότι το CIN είναι πρόδρομος του διηθητικού καρκινώματος βασίζονται σε προοπτικές μελέτες γυναικών που δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία του CIN. Ακολουθεί μία σύντομη ανασκόπηση αυτών των μελετών.
- Πειραματικές μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν ότι το CIN1, 2 και 3 είναι συνεχόμενες αλλοιώσεις (lesional continuum)
  1. Αυτοραδιογραφικές μελέτες της δραστηριότητας πολλαπλασιασμού του φυσιολογικού επιθηλίου του τραχήλου, δυσπλασία και καρκίνωμα *in situ*. Αυτές διεξήχθησαν από τον Richart (1963) ο οποίος χρησιμοποίησε ως σήμανση την τριτιωμένη θυμιδίνη σε κύτταρα που συνέθεταν DNA σε βιοψίες τραχήλου. Διαπίστωσε ότι ο χρόνος της αναγέννησης του επιθηλίου ελαττώνεται με την σοβαρότητα της αλλοίωσης του τραχήλου και ήταν μικρότερος στο καρκίνωμα *in situ*.
  2. DNA κυτταροφωτομετρικές μελέτες από βιοψίες φυσιολογικού και δυσπλαστικού επιθηλίου και καρκινώματος *in situ*. Ο Willbanks et al (1967) μέτρησε το περιεχόμενο του DNA των κυττάρων σε τομές χρησιμοποιώντας χρώση Feulgen, και μικροσπεκτροφωτομετρική μέθοδο και έδειξε ότι η ποσότητα του DNA αυξάνεται όσο αυξάνεται η σοβαρότητα της τραχηλικής αλλοίωσης και ο βαθμός της απόκλισης της ποσότητας του DNA από το φυσιολογικό είναι μεγαλύτερος για το καρκίνωμα *in situ*.
  3. Μελέτες καρκινογένεσης στο επιθήλιο του τραχήλου της μήτρας σε ζώα. Σε αυτές τις μελέτες οι τράχηλοι μυών βαφτόταν με καρκινογόνο ουσία (3,4 – βενζοπυρένιο) δύο φορές την εβδομάδα [Rubio και Lagerhof (1974)]. Βρήκαν ότι αλλαγές του τύπου της ήπιας δυσπλασίας αναπτύχθηκαν στο τραχηλικό

επιθήλιο των μυών μετά από δύο μήνες, μέτρια δυσπλασία μετά από τέσσερις μήνες και σοβαρή δυσπλασία, καρκίνωμα in situ και μικροδιηθητικός καρκίνος μετά από πέντε μήνες.

4. Άλλες ενδιαφέρουσες πειραματικές εργασίες, που έγιναν, συμπεριλαμβάνουν κυτταρογενετικές μελέτες (Springs et al 1971), υπερμικροσκοπικές μελέτες (Murphy et al 1975) και μελέτες κυτταροκαλλιέργειας καρκινικών κυττάρων (Richart 1964).
- Προοπτικές μελέτες σε γυναίκες με CIN
    1. Αποδείξεις που ενισχύουν την άποψη ότι το CIN είναι πρόδρομος του διηθητικού καρκίνου έχουν αποκτηθεί από προοπτικές μελέτες σε γυναίκες με δυσπλασία οι οποίες δεν θεραπεύθηκαν, αλλά ήταν κάτω από κυτταρολογική και κολποσκοπική επίβλεψη ανά ποικίλα περιοδικά χρονικά διαστήματα. Αν και οι μελέτες θεωρούνται σήμερα από ηθικής άποψης ανεπίτρεπτες, μας παρέχουν σαφείς αποδείξεις ότι η δυσπλασία εάν δεν θεραπευτεί μπορεί να εξελιχθεί σε καρκίνωμα in situ και διηθητικό καρκίνο μετά από χρόνια. Έχουν επίσης αποδείξει ότι μερικές δυσπλασίες υποχωρούν. Αρκετές μελέτες συμπεριέλαβαν μικρό αριθμό γυναικών οι οποίες παρακολούθηθηκαν ιατρικώς για μικρό χρονικό διάστημα και τα συμπεράσματα στα οποία κατέληξαν δεν είναι ασφαλή.
    2. Ευλόγως, η πιο πειστική έρευνα είναι αυτή που διεξήχθη από τον Mc Indoe et al από την Νέα Ζηλανδία, όπου γυναίκες με καρκίνωμα in situ παρακολούθηθηκαν κυτταρολογικά, υποθέτοντας ότι ο κίνδυνος της εξέλιξης ήταν πολύ χαμηλός (Green και Donovan 1970, Green 1974). Προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι ο κίνδυνος του διηθητικού καρκίνου, αφού έχει προηγηθεί διάγνωση καρκινώματος in situ, ήταν πολύ υψηλός σε γυναίκες οι οποίες αντιμετώπιστηκαν με αυτόν τον τρόπο. Δέκα οχτώ τοις εκατό (18%) των γυναικών ανέπτυξαν διηθητικό καρκίνο μετά από 10 χρόνια και 36% μετά από 20 χρόνια.
    3. Οι μελέτες που περιγράφηκαν παραπάνω επιδεικνύουν πειστικά ότι εάν δεν θεραπευτούν οι CIN αλλοιώσεις μπορούν να εξελιχθούν σε διηθητικό καρκίνο. Εντούτοις, δείχνουν επίσης ότι κάποιες CIN αλλοιώσεις μπορούν να υποχωρήσουν. Αυτή η παρατήρηση έχει επιπτώσεις στην αντιμετώπιση των γυναικών με CIN. Επειδή στις ερευνητικές εργασίες που προαναφέρθηκαν, ο βαθμός διαφοροποίησης των αλλοιώσεων σε συγκεκριμένο χρονική στιγμή δεν είναι γνωστός, είναι δύσκολο να είμαστε απολύτως βέβαιοι σε ποιο ακριβώς στάδιο των αλλοιώσεων η πιθανότητα της υποχώρησης είναι μεγαλύτερη από τον κίνδυνο της εξέλιξης της αλλοίωσης. Οι κλινικοί γιατροί τείνουν να συμφωνούν ότι η πιθανότητα υποχώρησης της ήπιας δυσπλασίας (CIN1) είναι υψηλή (30%). Για αυτό, όταν διαγιγνώσκεται κυτταρολογικά CIN1, είναι έτοιμοι να υιοθετήσουν την τακτική της αναμονής (τουλάχιστον για 6 μήνες) πριν να αποφασίσουν θεραπεία.

## Παθολογία του τραχήλου της μήτρας

### Πολύποδες

Συνήθως πρόκειται για μισχωτούς πολύποδες εξορμώμενους από τον ενδοτραχηλικό αυλό και καλυπτόμενους από κυλινδρικό επιθήλιο. Μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί ή να προκαλέσουν άτυπη αιμόρροια από τον κόλπο, ενίοτε μετά από σεξουαλική επαφή. Η θεραπεία εκλογής είναι η εξαίρεση ακολουθούμενη συνήθως και από απόξεση του ενδοτραχήλου και του ενδομητρίου, ιδιαίτερα σε ηλικιωμένες γυναίκες, για τον εντοπισμό και άλλων πολυπόδων, που μπορεί να υπάρχουν στον ενδοτραχηλικό αυλό ή στην ενδομήτρια κοιλότητα.

### Ινομύματα

Δεν είναι συνήθη σε σχέση με τα ινομύματα του τοιχώματος της μήτρας. Συνήθως είναι μισχωτά, με μίσχο άλλοτε άλλου πάχους, είναι δε δυνατή η συστροφή τους, κατάσταση η οποία οδηγεί συχνά σε νέκρωση του ινομύματος. Σε περίπτωση κατά την οποία το ινομύμα του τραχήλου προωθείται αυτόματα δια μέσου του τραχηλικού αυλού στον κόλπο παρατηρείται άλγος στο υπογάστριο, ιδιαίτερα κατά την διάρκεια της εμμηνορυσίας. Συχνή είναι και η εμφάνιση άτυπων αιμορραγιών από τον κόλπο. Η αντιμετώπιση αφορά στην εξαίρεση του ινομύματος, επέμβαση η οποία απαιτεί προσοχή, λόγω του κινδύνου έντονης αιμορραγίας από τα αγγεία του μίσχου. Η πιθανότητα σαρκωματώδους εξαλλαγής του ινομύματος του τραχήλου είναι παρόμοια με αυτήν των ινομυμάτων άλλης εντόπισης (περίπου 0,5%).

### Τραχηλίτιδα

Από τις πιο συνηθισμένες γυναικολογικές παθήσεις είναι η φλεγμονή του βλεννογόνου της ενδοτραχηλικής κοιλότητας, η τραχηλίτιδα. Παρόλο που το μητρικό στόμιο προστατεύεται από ένα χαρακτηριστικό σχηματισμό που δημιουργείται από το έκκριμα των αδένων του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, ωστόσο με την έμμηνο ρύση, τον τοκετό και τις ενδοτραχηλικές επεμβάσεις, ο σχηματισμός αυτός αποκολλάται ή εξαφανίζεται και έτσι τα μικρόβια ανεβαίνουν ελεύθερα προς την τραχηλική κοιλότητα. Ξεχωριστή μορφή παίρνει η τραχηλίτιδα, όταν φράζουν οι πόροι των αδένων, καταλήγοντας σε υπερτροφία και ακολουθεί η δημιουργία κυστιδίων που ονομάζονται ωάρια του Naboth.

### Εξέλκωση

Συχνότατα πάνω στον τράχηλο δημιουργούνται οι χαρακτηριστικές απλές εξελκώσεις που προκαλούνται από μηχανικούς ερεθισμούς στα επιθηλιακά σύνορα του κυλινδρικού και πλακώδους επιθηλίου με τη βοήθεια της τοπικής εμβροχής που οφείλεται στο έκκριμα της τραχηλικής κοιλότητας ή σε λευκόρροια οποιασδήποτε αιτιολογίας. Η απλή εξέλκωση παρουσιάζει στη θέα επιφάνεια κατακόκκινη, σκεπασμένη κάποτε με λευκωπό έκκριμα. Η εξέλκωση τότε προχωράει προς το βάθος και συνοδεύεται από αδενωματική υπερπλασία, τότε πάλι παίρνει θηλωματική ή ακαθόριστη μορφή.

## Επιδημιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Η επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι δεύτερη παγκοσμίως μετά τον καρκίνο του μαστού. Τα δεδομένα από αρχεία καρκίνου δείχνουν ότι υπάρχουν σχεδόν 400.000 νέες περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και 200.000 θάνατοι από αυτήν την νόσο κάθε χρόνο (IARC 2001).

Η τιμή της επίπτωσης ποικίλλει από χώρα σε χώρα, ενώ το ογδόντα τοις εκατό (80%) των περιπτώσεων συμβαίνει στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες. Η αιτία για αυτό μπορεί να βρίσκεται στις κοινωνικο-οικονομικές συνθήκες που επικρατούν σε αυτές τις χώρες, όπου η δυνατότητα οικογενειακού προγραμματισμού, η μαιευτική και γυναικολογική δημόσια υγεία είναι μηδαμινή και τα προληπτικά προγράμματα για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ουσιαστικά δεν υπάρχουν.

Καθώς είναι αναμενόμενο, η Αφρική, η Κεντρική Αμερική, η Νότια Αμερική και η Καραϊβική έχουν την μεγαλύτερη επίπτωση. Οι χαμηλότερες τιμές βρίσκονται στην Φινλανδία, τις Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά, την Αυστραλία, το Μεγάλη Βρετανία, και την Ολλανδία. Ο συστηματικός προληπτικός έλεγχος των γυναικών, που βρίσκονται στις ομάδες υψηλού κινδύνου, έχει αποδειχτεί ότι συμβάλλει στην χαμηλή επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε αυτές τις χώρες (Boyes et al 1982, Hakama et al 1985, Nieminen et al 1995).

## Υπολογιζόμενη επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως

371.000 νέες περιπτώσεις/κάθε χρόνο

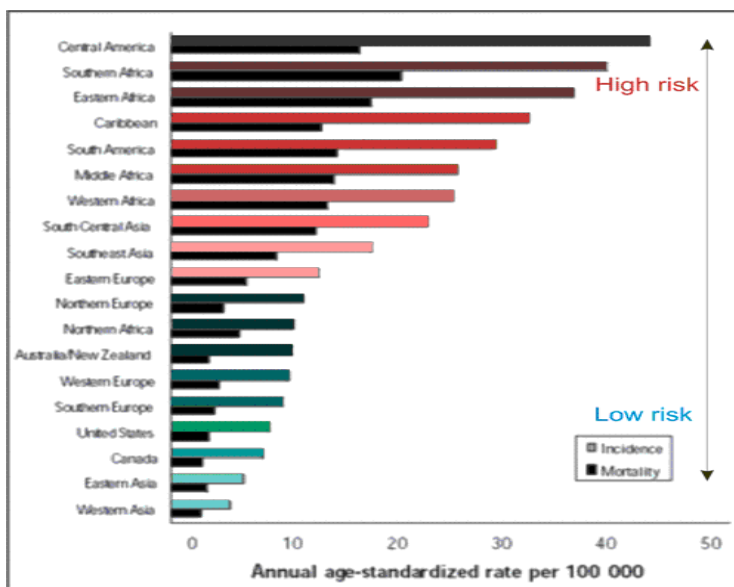
7<sup>ος</sup> πιο κοινός τύπος καρκίνου παγκοσμίως

2<sup>ος</sup> πιο κοινός τύπος καρκίνου στις γυναίκες

Αφορά το 10% όλων των τύπων καρκίνων στις γυναίκες

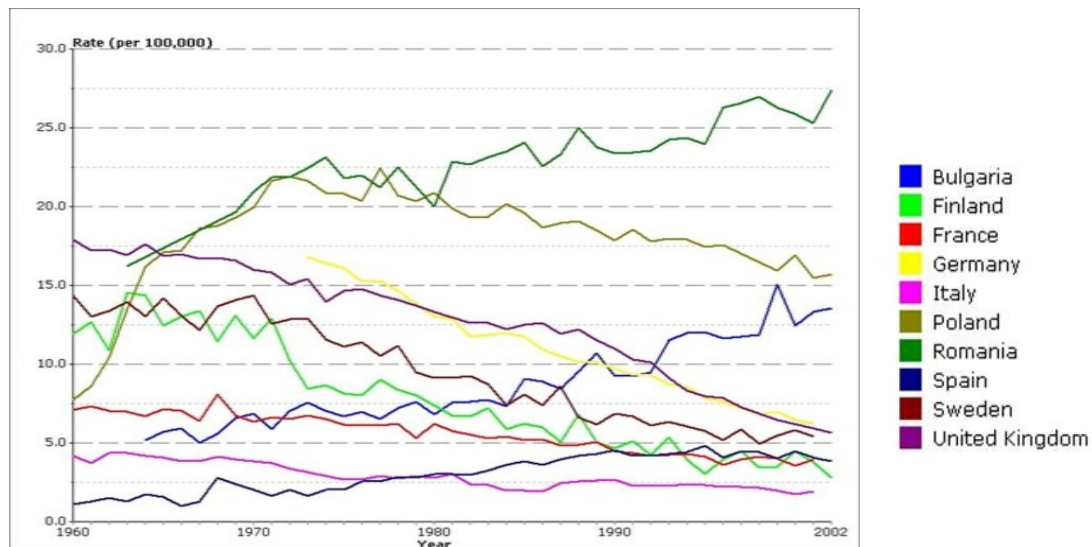
## Η ετήσια τιμή της επίπτωσης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την γεωγραφική περιοχή

### Τιμές επίπτωσης και θνησιμότητας σε παγκόσμια κλίμακα:



Εικόνα 18: Οι τιμές είναι τυποποιημένες σύμφωνα με την κατανομή του παγκόσμιου πληθυσμού το 1960. Σημειώνουμε ότι στην Αφρική, στη την κεντρική και νότια Αμερική και στην Καραϊβική υπάρχει η υψηλότερη συχνότητα. Τα χαμηλότερα ποσοστά υπάρχουν στη Φινλανδία, τις Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά, την Αυστραλία, το Ηνωμένο Βασίλειο και τις Κάτω Χώρες

## Συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του τραχήλου στις ευρωπαϊκές χώρες



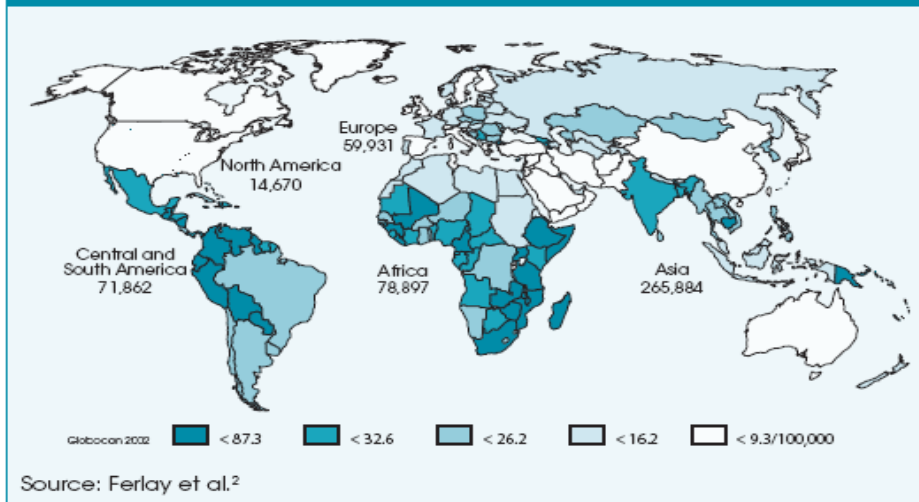
Εικόνα 19: Ακαθάριστο ποσοστό θνησιμότητας. Επεμβατικός καρκίνος της μήτρας στις χώρες της Ευρώπης για γυναίκες > 30 ετών. Σημειώνουμε ότι οι χώρες με καθιερωμένα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου, όπως η Φινλανδία και η Σουηδία καταδεικνύουν μείωση της θνησιμότητας, όπου, όπως στη Ρουμανία και τη Βουλγαρία ο αριθμός των θανάτων αυξάνονται

## Στατιστικά στοιχεία

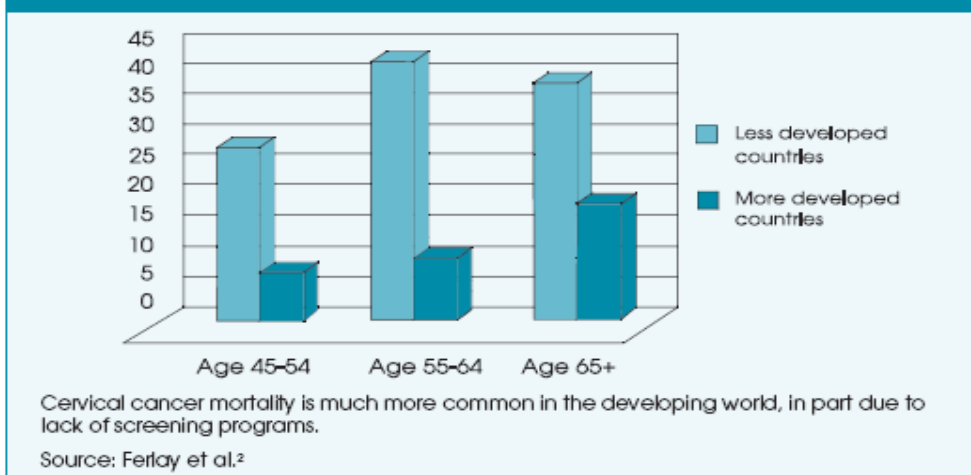
Αρχικά πρέπει να αναφερθεί ότι τα κρούσματα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ακόμη και στις ανεπτυγμένες χώρες δεν είναι καθόλου σπάνια. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου από καρκίνο σε γυναίκες ηλικίας 15 έως 44 ετών. Στην Ευρώπη κάθε χρόνο περίπου 30.000 γυναίκες εμφανίζουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και περίπου 15.000 γυναίκες πεθαίνουν από το νόσημα αυτό. Με άλλα λόγια, 40 γυναίκες πεθαίνουν καθημερινά στην Ευρώπη από μια νόσο που τώρα πλέον είναι δυνατόν να προληφθεί.

Το 2006 υπολογίζεται ότι εμφανίστηκαν 9.710 περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου και 3.700 γυναίκες πέθαναν από τη νόσο αυτή στις ΗΠΑ. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων πρόκειται για νέες γυναίκες 20-45 ετών που βρίσκονται στην πλέον παραγωγική φάση της ζωής τους με μικρά παιδιά και μεγάλες οικογενειακές υποχρεώσεις.

**Figure 1. Estimated number of cases and incidence of cervical cancer**



**Figure 2. Age-specific cervical cancer mortality rates per 100,000 women**



Εικόνα 20: Στατιστική αναπαράσταση των περιστατικών γυναικών με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας σε παγκόσμια κλίμακα

### Συχνότητα και κατανομή των συχνότερων τύπων του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων σε κυτταρολογικά επιχρίσματα κατά Παπαニコλάου σε δείγμα Ελληνικού πληθυσμού.

Κυτταρολογικά επιχρίσματα 1641 γυναικών που προσέρχονται για προσυμπτωματικό έλεγχο τραχήλου της μήτρας, εξετάστηκαν με σκοπό την ανίχνευση των τύπων 6, 11, 16, 18, 31 και 33 του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων στις διάφορες κατηγορίες κυτταρολογικών διαγνώσεων, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Με βάση την κυτταρολογική εξέταση κατά Παπαニコλάου στο συνολικό δείγμα των 1641 γυναικών τα 639/1641 (39,1%) κυτταρολογικά δείγματα ήταν φυσιολογικά, τα 256/1641 (15,6%) αφορούσαν διάγνωση άτυπων τραχηλικών κυττάρων ακαθόριστης σημασίας (ASCUS), τα 516/1641 (31,5%) ήταν χαμηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (LGSIL) τα 60/1641 (3,7%) ήταν υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (HGSIL) και τα 165/1641 (10,1%) αντιστοιχούσαν σε διάγνωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (SCC).

Με βάση την ανίχνευση της λοίμωξης από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων στα κυτταρολογικά επιχρίσματα προκύπτει ότι ποσοστό 56,4% (926/1641) του συνολικού πληθυσμού έχει ήδη εκτεθεί σε κάποιον από τους τύπους του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι σε ποσοστό 26,4% των φυσιολογικών κυτταρολογικών δειγμάτων ανιχνεύθηκε λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Τέλος, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με σκοπό την ταυτοποίηση της συσχέτισης των συχνότερων τύπων του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων ανά κυτταρολογική διάγνωση.

Από την ανάλυση αυτή προκύπτει ότι στις υψηλού βαθμού κυτταρολογικές βλάβες, ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συχνότητα οι τύποι 16 και 18, στοιχείο που συνάδει με τα παγκόσμια επιδημιολογικά δεδομένα. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι χαμηλού κινδύνου τύποι 6 και 11 ανιχνεύονται σε μεγάλο ποσοστό του συνολικού δείγματος και κυριαρχούν -ως αναμένεται από τη διεθνή βιβλιογραφία- στις χαμηλού βαθμού βλάβες.

Αξιοσημείωτο επιδημιολογικής παρατήρησης είναι το μεγάλο ποσοστό συνλοιμώξεων των ογκογόνων με τους χαμηλού κινδύνου τύπους του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων, γεγονός που πρέπει να εξεταστεί για την κλινική του σημασία.

### Προστασία από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Σήμερα, δε διαθέτουμε μόνο μέθοδο έγκαιρης διάγνωσης, όπως την εξέταση Παπανικολάου, αλλά και τρόπο πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με ένα τετραδύναμο εμβόλιο έναντι του ιού των ανθρωπίνων το οποίο περιλαμβάνει τους τύπους 6, 11, 16 και 18. Με το εμβόλιο, μπορεί να τον προληφθεί από την αρχή η ανάπτυξη τόσο των προ-καρκινικών βλαβών, όσο και του ίδιου του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Πέρα όμως από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας το εμβόλιο μπορεί να προλάβει και τις προ-καρκινικές βλάβες του αιδοίου και του κόλπου καθώς και τα οξυτενή κονδυλώματα.

### Πρόληψη και προσυμπτωματικός έλεγχος του γυναικολογικού καρκίνου

Οι έρευνες υπηρεσιών υγείας σε όλες σχεδόν τις χώρες του κόσμου, δείχνουν σταθερά ότι η έκβαση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες, εξαρτάται από το στάδιο από το οποίο θα αρχίσει η θεραπεία. Για το λόγο αυτό, η έγκαιρη διάγνωση των καρκίνων αυτών είναι κρίσιμης σημασίας. Εξ' αιτίας αυτής της διαπίστωσης, τις τελευταίες δεκαετίες στις ανεπτυγμένες χώρες έχουν αναπτυχθεί προσυμπτωματικοί έλεγχοι του καρκίνου αυτού. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνει την κυτταρολογική εξέταση επιχρίσματος του κόλπου (Pap test).

Στην Ελλάδα δεν έχουν αναπτυχθεί ευρέως προγράμματα προσυμπτωματικών ελέγχων. Πολλές όμως γυναίκες και γιατροί έχουν ευαισθητοποιηθεί και πραγματοποιούν τέτοιους ελέγχους, οι οποίοι είναι αποσπασματικοί και αφορούν κυρίως τον αστικό πληθυσμό των μεγάλων κέντρων.

Από το 2008 αναπτύσσεται το εθνικό σχέδιο δράσης για τον καρκίνο 2008-2012. Σκοπός του τρίτου άξονα του σχεδίου αφορά την έγκαιρη διάγνωση, η οποία αποτελεί τη βάση της δευτερογενούς πρόληψης και στοχεύει στην ανίχνευση του καρκίνου πριν γίνουν εμφανή τα πρώτα συμπτώματα του (προσυμπτωματικός έλεγχος). Είναι η

προκαταρκτική εξέταση ασυμπτωματικών ή φαινομενικά υγιών ανθρώπων, που προσκαλούνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα να υποβληθούν σε οικειοθελή έλεγχο με την εφαρμογή κλινικών, παρακλινικών ή εργαστηριακών εξετάσεων, που μπορούν να γίνουν εύκολα, φθηνά και γρήγορα με σκοπό να ανιχνευθεί η πιθανότητα των ανθρώπων αυτών να νοσήσουν.

Σύμφωνα με το εθνικό σχέδιο δράσης για τον καρκίνο 2008-2012, οι αναγνωρισμένες και προτεινόμενες στρατηγικές προσεγγίσεις για έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου αφορούν στα ακόλουθα:

- 1) σωστή ενημέρωση, πληροφόρηση και εκπαίδευση με την οποία τα άτομα θα είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα σημάδια της νόσου και να κινητοποιηθούν, ώστε να επισκεφθούν τον ειδικό γιατρό.
- 2) προληπτική εξέταση για την ανίχνευση πιθανού καρκίνου στα πρώτα στάδια σε φαινομενικά υγιή άτομα.

Σύμφωνα με έρευνες για την αποτελεσματικότητα του προσυμπτωματικού πληθυσμιακού ελέγχου (screening) και τη διεθνή πρακτική, ο καρκίνος για τον οποίο ενδείκνυται τέτοιου είδους έλεγχος είναι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας. Στο πλαίσιο αυτό, κρίνεται ότι είναι σημαντική η εφαρμογή ολοκληρωμένων προγραμμάτων πρόληψης του γυναικολογικού καρκίνου, ιδιαίτερα στην επαρχία, λόγω του ότι η γυναίκες εκεί δεν έχουν εύκολη πρόσβαση σε τέτοιες υπηρεσίες και η ευαισθητοποίησή τους είναι χαμηλότερη.

Σύμφωνα με το εθνικό σχέδιο δράσης για τον καρκίνο 2008-2012, άξονας 3, δράση 3 προτείνεται η δημιουργία κέντρων έγκαιρης διάγνωσης.

Συγκεκριμένα, προτείνεται η δημιουργία αυτόνομων -εκτός νοσοκομειακών υποδομών- κέντρων προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) ορισμένων τύπων καρκίνου (όπως μήτρας), η αποτελεσματικότητα των οποίων είναι καλά τεκμηριωμένη από τη διεθνή βιβλιογραφία και εμπειρία με στόχους:

- 1) ενημέρωση, πληροφόρηση, ευαισθητοποίηση και εκπαίδευση του πληθυσμού για τη σπουδαιότητα του προληπτικού ελέγχου
- 2) έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου μέσω της εφαρμογής προγραμμάτων screening
- 3) η ενθάρρυνση των ατόμων για τακτικό επανέλεγχο ανάλογα με τις προδιαγραφές του προγράμματος
- 4) βελτίωση του ποσοστού διάγνωσης στα αρχικά στάδια της νόσου

Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι στην επαρχία διαμένει αναλογικά ένας σημαντικός πληθυσμός γυναικών άνω των πενήντα, που αποτελούν για κάποιους καρκίνους την ομάδα κινδύνου.

Τα προγράμματα αυτά πρέπει να λειτουργήσουν σε δύο κατευθύνσεις. Πρώτον, στην υιοθέτηση από τον πληθυσμό υγιεινών στάσεων ζωής καθώς και στην ευαισθητοποίηση για την αξία των προσυμπτωματικών ελέγχων, και δεύτερον, στην τακτική χρήση των προσυμπτωματικών ελέγχων που οδηγούν στην έγκαιρη διάγνωση.

## Θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Για την αντιμετώπιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας η Ιατρική διαθέτει μια ποικιλία μεθόδων. Σε αρχικά στάδια γίνεται αφαίρεση ουσιαστικά πολύ μικρού τμήματος του τραχήλου (κωνοειδής εκτομή). Μ' αυτόν τον τρόπο η γυναίκα μπορεί να μείνει ακόμη και έγκυος, αφού δεν επηρεάζεται ούτε η μήτρα, ούτε ο κόλπος, ούτε άλλα όργανα. Σε λίγο πιο προχωρημένα στάδια γίνονται μεγαλύτερες εγχειρήσεις ή χρήση ακτινοθεραπείας -εξωτερική ή με ενδοκοιλοτική τοποθέτηση ραδίου. Στις περισσότερες περιπτώσεις δεν επηρεάζεται ούτε ο κόλπος, ούτε τα εξωτερικά γεννητικά όργανα της γυναίκας.

## Στάδια της θεραπείας του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

- Η κλινική σταδιοποίηση του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι σημαντική καθώς καθορίζει την θεραπευτική αγωγή του ασθενούς. Καρκίνος που έχει εντοπιστεί στο στάδιο 0 (προδιηθητικό στάδιο), απαιτεί μόνο τοπική εξαίρεση του καρκινικού επιθηλίου με διαθερμία ή λέιζερ.
- Οι καρκίνοι σταδίου 1 συνήθως θεραπεύονται με ριζική υστερεκτομή με ή χωρίς διατήρηση των ωοθηκών, απόφαση που εξαρτάται από την ηλικία του ασθενούς. Εντούτοις σε γυναίκες με πρώιμο στάδιο καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, η τραχηλεκτομή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία διατήρησης της γονιμότητας. Η ριζική τραχηλεκτομή είναι μία χειρουργική επέμβαση κατά την οποία ο τράχηλος, το ανώτερο τμήμα του κόλπου, ο παραμητρικός ιστός (ιστός γύρω από το χαμηλότερο τμήμα της μήτρας), και οι πυελικοί λεμφαδένες εξαιρούνται. Το σώμα της μήτρας και οι ωοθήκες δεν εξαιρούνται και έτσι η δυνατότητα απόκτησης παιδιών παραμένει. Αυτό γίνεται σε πρώιμο στάδιο καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Σκοπός είναι η διατήρηση της γονιμότητας. Αυτή η θεραπεία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια από ογκολόγους γυναικολογίας σε ειδικευμένα κέντρα σε όλο τον κόσμο. Γίνεται διακολλητικά και μέσω μικρών χειρουργικών τομών στην κοιλιά, χρησιμοποιώντας λαπαροσκόπιο, (ενδοσκοπική χειρουργική).
- Η καθιερωμένη θεραπεία για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας προχωρημένου σταδίου, είναι η ριζική υστερεκτομή και / ή πυελική ακτινοθεραπεία. Περισσότερο εξαπλωμένος καρκίνος ίσως απαιτεί ακτινοθεραπεία και / ή χημειοθεραπεία. Το κλινικό στάδιο την στιγμή της διάγνωσης επηρεάζει την πρόγνωση (προσδόκιμο επιβίωσης) του ασθενούς.
- Η πρόγνωση είναι πολύ καλή για τις γυναίκες με καρκίνο που έχει διαγνωστεί σε πρώιμο στάδιο (Στάδιο 0 ή Στάδιο 1), αλλά είναι φτωχή για γυναίκες με προχωρημένο καρκίνο. Η πρόγνωση για ασθενείς σε Στάδιο 0, που είναι το προδιηθητικό στάδιο είναι εξαιρετική, με μοναχά πολύ μικρό κίνδυνο (< 1%) υποτροπής.
- Υπάρχουν κάποιες αποδείξεις ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας μπορεί να είναι περισσότερο επιθετικός σε νεαρές γυναίκες από αυτόν που διαγιγνώσκεται σε γυναίκες μεγαλύτερες των 40 ετών.

## Χειρουργική επέμβαση

Ανάλογα με τον τύπο του όγκου, μόλις μια κωνοειδής εκτομή (αφαίρεση πολύ μικρού τμήματος του τραχήλου της μήτρας μόνο) μπορεί να είναι ό,τι χρειάζεται ή η απομάκρυνση μεγαλύτερων ποσοτήτων των ιστών του τραχήλου μπορεί να είναι απαραίτητη.

## Ακτινοθεραπεία

Ακτινοθεραπεία είναι μια συνήθης θεραπεία για γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση. Σε αυτές τις περιπτώσεις, σκοπός της ακτινοβολίας είναι να μειώσει την πιθανότητα ο καρκίνος να επαναληφθεί. Η ακτινοθεραπεία συνεπάγεται τη χρήση X υψηλής ενέργειας ακτίνων ή ακτίνων γάμμα με στόχο έναν όγκο ή την εστία όγκου μετά την χειρουργική επέμβαση. Η ακτινοβολία αυτή είναι πολύ αποτελεσματική στη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων που μπορούν να παρέμειναν μετά από χειρουργική επέμβαση ή να επανεμφανίστηκαν όπου ο όγκος αφαιρέθηκε. Ωστόσο, η ακτινοβολία επηρεάζει και τα φυσιολογικά κύτταρα εξίσου, προκαλώντας κάποια ζημιά στους φυσιολογικούς ιστούς γύρω από όπου ο όγκος ήταν. Οι υγιείς ιστοί μπορούν να αναπαραχθούν, ενώ τα καρκινικά κύτταρα δεν κάνουν κάτι αντίστοιχο με τα κανονικά κύτταρα. Για το λόγο αυτό, οι θεραπείες με ακτινοβολία σταματούν για μεγάλο χρονικό διάστημα, επιτρέποντας τον υγιή ιστό να ανακάμψει. Οι θεραπείες γίνονται συνήθως για μια περίοδο πέντε έως επτά εβδομάδων, εκτελούνται πέντε ημέρες την εβδομάδα. Κάθε θεραπεία διαρκεί περίπου 15 λεπτά. Παρόλο που η ακτινοθεραπεία μπορεί να μειώσει την πιθανότητα επανεμφάνισης του καρκίνου του μαστού, είναι πολύ λιγότερο αποτελεσματική στην παράταση της επιβίωσης των ασθενών.

## Χημειοθεραπεία

Χημειοθεραπεία (φάρμακα για τη θεραπεία του καρκίνου), μπορεί να χρησιμοποιηθεί πριν από τη χειρουργική επέμβαση, μετά από χειρουργική επέμβαση, ή αντί της χειρουργικής επέμβασης για εκείνες τις περιπτώσεις στις οποίες η χειρουργική επέμβαση θεωρείται ακατάλληλη. Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι της χημειοθεραπείας.

- Neoadjuvant chemotherapy: γίνεται πριν από την χειρουργική επέμβαση για να συρρικνωθεί το μέγεθος του όγκου.
- Adjuvant chemotherapy: γίνεται μετά από χειρουργική επέμβαση για να μειωθεί ο κίνδυνος επανεμφάνισης.
- Palliative chemotherapy: χρησιμοποιείται για τον έλεγχο (αλλά δεν θεραπεύει) του καρκίνου στις ρυθμίσεις, στις οποίες ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί πέρα από τον τράχηλο της μήτρας.

Η χημειοθεραπεία είναι μια συστηματική θεραπεία που βασίζεται στην χρήση φαρμάκων για τη θεραπεία του καρκίνου. Αυτό σημαίνει ότι επηρεάζει ολόκληρο το σώμα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Ο σκοπός της χημειοθεραπείας και άλλων συστηματικών θεραπειών είναι να απαλλαγούμε από κάθε καρκινικό κύτταρο που μπορεί να έχει εξαπλωθεί σε άλλο μέρος του σώματος μακριά από όπου άρχισε. Η χημειοθεραπεία είναι αποτελεσματική κατά των καρκινικών κυττάρων, καθώς τα φάρμακα τείνουν να αλληλεπιδρούν ταχέως με τα διαιρούμενα κύτταρα.

Πριν από την χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για τη μείωση του μεγέθους του όγκου του τραχήλου της μήτρας όσο και για την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων όπου και αν βρίσκονται. Μετά από χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία ενεργεί σε όλο το σύστημά μας για να σκοτώσει τα καρκινικά κύτταρα που ενδέχεται να έχουν εξαπλωθεί σε όλο το σώμα μας. Όταν χρησιμοποιείται ως συστηματική θεραπεία μετά τη χειρουργική επέμβαση, η χημειοθεραπεία έχει ένα άλλο πλεονέκτημα, να είναι στο σωστό μέρος τη σωστή στιγμή.

Ο «κύκλος» της χημειοθεραπείας αναφέρεται σε ένα χρόνο ή ένα «γύρο», στο οποίο ο γιατρός δίνει το φάρμακο. Ανάλογα με το φάρμακο (ή ναρκωτικό) που λαμβάνεται μπορεί να προκύψουν τέσσερις με οκτώ κύκλοι χημειοθεραπείας. Κάποιες από τις αρνητικές επιπτώσεις της χημειοθεραπείας είναι: ναυτία, εμετός, διάρροια, απώλεια μαλλιών, κόπωση, αναιμία, απώλεια μνήμης, νευροπάθεια κ.α.

## Διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

### Test Παπανικολάου (Κυτταρολογική εξέταση)

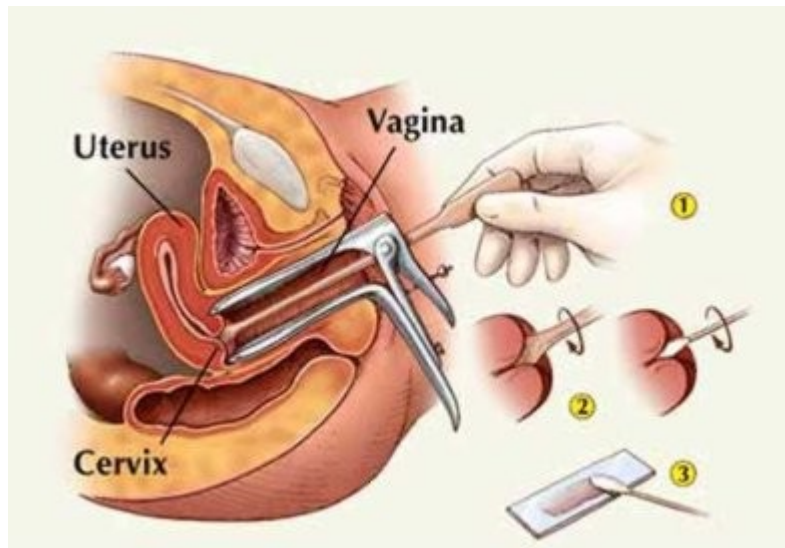
Το τεστ Παπανικολάου (Test Pap) συνέβαλε ουσιαστικά στη μείωση των κρουσμάτων του τραχηλικού καρκίνου, εντούτοις τα αποτελέσματα πρόσφατων ερευνών δείχνουν ότι η ευαισθησία του δεν μπορεί να θεωρηθεί επαρκής σήμερα για την αποτελεσματική πρόληψη του τραχηλικού καρκίνου και πρέπει να συμπληρωθεί με τον έλεγχο του HPV DNA με PCR (αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης) [7]. Ειδικότερα, το HPV DNA οφείλει να είναι πρωταρχικό εργαλείο μαζικού ελέγχου σε συνδυασμό με το τεστ Παπανικολάου, σε γυναίκες άνω των 30 ετών, ώστε να εντοπισθεί η ομάδα αυτή των γυναικών η οποία έχει χρονίως υποστεί τη δράση των HPV ώστε να ελεγχθεί με κολποσκόπηση και βιοψία. Αντίθετα σε γυναίκες κάτω των 30 ετών το πρωταρχικό εργαλείο μαζικού ελέγχου οφείλει να είναι το τεστ Παπανικολάου δεδομένου ότι ο στόχος είναι η σύλληψη και αντιμετώπιση γυναικών με αλλοιώσεις στον τράχηλο της μήτρας και όχι η παρουσία ή μη των συχνών, ευκαιριακών συνήθως πρόσφατων HPV λοιμώξεων.

Ο έλεγχος του HPV DNA είναι ιδιαίτερα χρήσιμος στην αντιμετώπιση και παρακολούθηση σε περιπτώσεις ασυμφωνιών μεταξύ κυτταρολογικής εξέτασης, κολποσκόπησης και βιοψίας, καθώς και στην εκτίμηση της πιθανότητας υποτροπής μετά από θεραπευτική αφαίρεση της βλάβης. Στην αποτελεσματικότερη πρόβλεψη του τραχηλικού καρκίνου συμβάλλουν ουσιαστικά ο εντοπισμός και η αντιμετώπιση των συμπαραγόντων στην ανάπτυξη του και ιδίως της λοίμωξης από ερπητοϊούς και χλαμύδια, η ανίχνευση των οποίων μπορεί να γίνει στο εναιώρημα των κολποτραχηλικών κυττάρων ταυτόχρονα με τον έλεγχο του HPV DNA.

Η εξέταση του τραχήλου της μήτρας αφορά στην επισκόπηση μετά από απώθηση των κολπικών τοιχωμάτων δια κολποδιαστολέων και στην ψηλάφηση μετά το πέρας της επισκόπησης. Με την επισκόπηση ο ιατρός ελέγχει την εικόνα του εξωτραχήλου, την μορφή του έξω τραχηλικού στομίου, την ύπαρξη έκκρισης βλέννης ή άλλου υγρού από τον ενδοτράχηλο, καθώς και την ύπαρξη όγκων, πολυπόδων, θηλωμάτων, τραυμάτων, συμφύσεων κ.λ.π.

Μετά την πλήρη επισκόπηση του τραχήλου και την απομάκρυνση της βλέννης, λαμβάνεται επίχρισμα από όλη την περιοχή του εξωτραχήλου με την ξύλινη σπάτουλα του Ayer ή με παρόμοιες σπάτουλες με κυκλοτερείς κινήσεις μέχρι 360 μοίρες. Η χρήση βαμβακοφόρου στείλεου προσφέρει λιγότερο ικανοποιητικά αποτελέσματα, διότι συγκρατείται μεγάλος αριθμός κυττάρων στις ίνες του βάμβακος. Σήμερα, χρησιμοποιούνται και ειδικοί πλαστικοί στύλαιοι που εφαρμόζουν επίσης στον τράχηλο.

Ακολουθεί η λήψη κυτταρικού υλικού από τον ενδοτράχηλο με ειδικές ψύκτρες. Το υλικό από τον εξωτράχηλο και από τον ενδοτράχηλο επιστρώνεται σε ένα ή δύο διαφορετικά αντικειμενοφόρα πλακίδια, μονιμοποιείται σε αλκοολούχο διάλυμα και αποστέλλεται στο κυτταρολογικό εργαστήριο, όπου αυτό χρωματίζεται με την ειδική χρώση κατά Παπανικολάου και ακολούθως εξετάζεται από τον κυτταρολόγο.

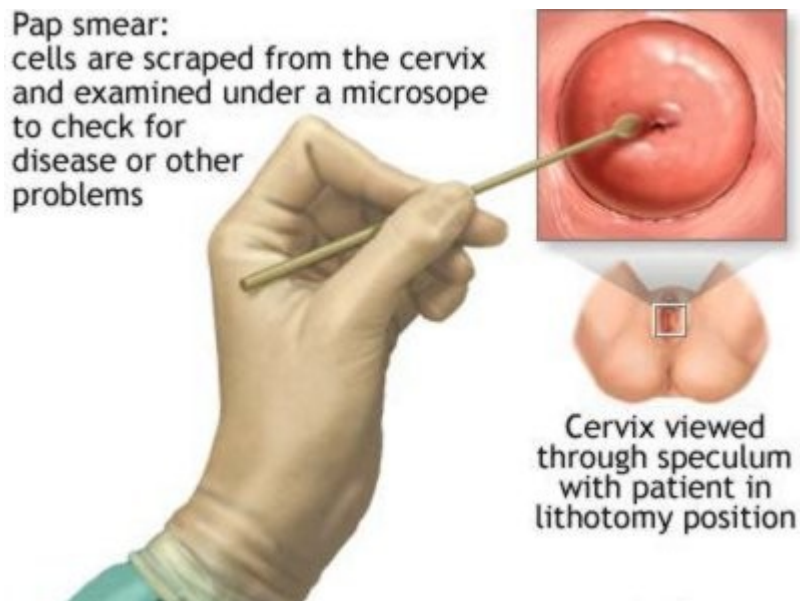


Εικόνα 21: Βήματα της γυναικολογικής εξέτασης κατά Παπανικολάου

Στόχος είναι η ανίχνευση, μεταξύ των φυσιολογικών κυττάρων του πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου, όπως και μεταξύ των κυλινδρικών ή μεταπλαστικών κυττάρων, αυτών που είναι αλλοιωμένα, όχι λόγω φλεγμονωδών, αντιδραστικών ή αναγεννητικών αιτιών αλλά λόγω κακοήθους εξαλλαγής. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να είναι ενδεικτικά μιας ήδη διηθητικής εργασίας. Στην περίπτωση αυτή παρουσιάζουν μία έντονη διόγκωση, υπερχρωμασία και πολυλοβώδη εμφάνιση του πυρήνα τους. Μπορεί επίσης να παρουσιάζουν ελαφράς, μέτριας ή σοβαρής μορφής αλλοιώσεις, κυρίως ως προς τον φαινότυπο των πυρήνων τους, κατάσταση η οποία αναφέρεται ως δυσπλασία.

Παράλληλα, μπορεί να εντοπισθούν αλλοιώσεις ενδεικτικές λοίμωξης από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) ή και άτυπα κύτταρα μη καθορισμένης σημασίας. Τα κυτταρολογικά ευρήματα κατατάσσονται τελικά σε κατηγορίες, οι οποίες κατά καιρούς διαφοροποιούνται ανάλογα με τις νέες γνώσεις και τις διάφορες σχολές. Το τεστ Παπανικολάου συνιστάται να διενεργείται σε όλες τις γυναίκες, από την έναρξη της σεξουαλικής της δραστηριότητας μέχρι την ηλικία των 65-70 ετών. Τα χρονικά διαστήματα επανάληψης του τεστ ποικίλουν ανά χώρα και σχολή, κυμαίνονται δε μεταξύ 1 και 3 ετών.

Η ακρίβεια του τεστ Παπανικολάου όμως περιορίζεται από σφάλματα κατά τη δειγματοληψία και την εξέταση των κυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε χαμηλή ευαισθησία της διαγνωστικής μεθόδου, περίπου 72% [6]. Αντίθετα παρουσιάζει υψηλή ειδικότητα της τάξης του 94%.



Εικόνα 22: Pap Test

Υπολογίζεται ότι το Test Pap αποτυγχάνει στα να διαγνώσει περίπου το 30% όλων των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας, με αποτέλεσμα η επίπτωση αυτού να είναι 2-3 περιπτώσεις ανά 100.000 στις ΗΠΑ, κάτω και από τις καλύτερες συνθήκες μαζικού ελέγχου των γυναικών.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, ένα τεστ Παπανικολάου μπορεί να αναφέρει ότι ανώμαλα κύτταρα είναι παρόντα σε ένα δείγμα, όταν στην πραγματικότητα, τα εν λόγω κύτταρα είναι φυσιολογικά. Αυτό το είδος της ασυνήθους έκθεσης είναι γνωστό ως ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Όταν ένα τεστ Παπανικολάου αδυνατεί να ανιχνεύσει μια υπάρχουσα ανωμαλία, το αποτέλεσμα ονομάζεται ψευδώς αρνητικό. Ακόμη και υπό τις καλύτερες συνθήκες, υπάρχει πάντα ένα μικρό, αλλά αναπαλλοτρίωτο, ψευδώς αρνητικό ποσοστό.

Διάφοροι παράγοντες μπορεί να συμβάλουν σε ένα ψευδώς αρνητικό τεστ Παπανικολάου:

- Όταν παράτυπα κύτταρα βρίσκεται ψηλά στη διώρυγα του τραχήλου της μήτρας είναι δύσκολη η πρόσβαση υπό κανονικές διαδικασίες τεστ Παπανικολάου.
- Εμμηνου ρύσεως αίμα και φλεγμονώδη κύτταρα μπορεί να καλύψουν τα ανώμαλα κύτταρα. Αυτά τα κύτταρα δεν θα είναι ορατά από τον κυτταρολόγο.
- Ένα δείγμα ανεπαρκές όπου δεν υπάρχουν αρκετά συλλεγμένα στοιχεία κατά τη διάρκεια του τεστ Παπανικολάου.
- Ανθρώπινο λάθος κατά την οποία το άτομο στην (επαν)-εξέταση παρερμηνεύει ανώμαλα κύτταρα ως φυσιολογικά.

## Νέα τεχνολογία για τον καρκίνο του τραχήλου και διάγνωση

Υπάρχει ένας ολόκληρος κόσμος ελέγχων που μπορούν να γίνουν προκειμένου να διαγνωστεί ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας. Αν και οι ιατρικές εξετάσεις μπορεί να είναι ψυχολογικά επώδυνες - ειδικά η αναμονή αποτελεσμάτων - έχουν ουσιώδη σημασία στη διατήρηση της υγείας του ατόμου, την πρόληψη ή και θεραπεία αυτής της μορφής του καρκίνου. Οι περισσότεροι έλεγχοι που σχετίζονται με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας εμπίπτουν σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες κατηγορίες:

- Απεικονιστικοί έλεγχοι (screening tests): τέτοιου είδους έλεγχοι (όπως ετήσια ή ακόμα και εξαμηνιαία τεστ Παπανικολάου) γίνονται συνήθως σε άτομα που φαίνονται υγιή και δεν υπάρχει υπόνοια ότι έχουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Σκοπός τους είναι να βρουν τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (κάποιο αρχικό του κυρίως στάδιο π.χ CIN1) νωρίς, πριν από οποιαδήποτε συμπτώματα έτσι ώστε να είναι πιο εύκολη η θεραπεία του.
- Διαγνωστικοί έλεγχοι (diagnostic tests): διαγνωστικές εξετάσεις (όπως βιοψία) γίνονται σε άτομα που είναι ύποπτα ότι έχουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, είτε λόγω των συμπτωμάτων που μπορεί να εμφανίσουν ή είναι αποτέλεσμα κάποιου απεικονιστικού ελέγχου. Οι έλεγχοι αυτοί καθορίζουν αν είναι ή δεν είναι παρών ο καρκίνος καθώς και αν έχει κάνει μετάσταση σε άλλα μέρη του σώματος πέρα από τον τράχηλο της μήτρας. Οι δοκιμές αυτές επίσης χρησιμοποιούνται για τον προσανατολισμό των αποφάσεων σχετικά με τη θεραπεία.
- Έλεγχοι παρακολούθησης (monitoring tests): μόλις ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας διαγνωστεί, πολλοί έλεγχοι γίνονται κατά τη διάρκεια και μετά τη θεραπεία για να παρακολουθεί το πόσο καλά δουλεύουν οι θεραπείες. Τέτοιοι έλεγχοι μπορεί επίσης να γίνουν για τον εντοπισμό τυχόν σημάδιών επανεμφάνισης του καρκίνου.

Επειδή το τεστ Παπανικολάου (κυτταρολογική εξέταση) μπορεί να συσχετιστεί με τη δειγματοληψία και σφάλματα ερμηνείας, η έρευνα και οι στρατηγικές ανάπτυξης επικεντρώνονται σε μεγάλο βαθμό, στην τελειοποίηση της ερμηνεία του Pap test, στην οπτικοποίηση και την ανάκτηση των ιστών.

### Μέθοδοι ανίχνευσης της λοίμωξης του Ιού του Ανθρώπινου Θηλώματος

1. Εξέταση του δέρματος ή άλλου ιστού με γυμνό μάτι.
2. Εικόνες (σε μεγέθυνση) του δέρματος ή της βλεννώδους μεμβράνης του γεννητικού σωλήνα χρησιμοποιώντας κολποσκόπιο.
3. Μορφολογικές μελέτες ιστολογικών τομών ή κολποτραχηλικών επιχρισμάτων
4. Ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις των ιστολογικών ή κυτταρολογικών δειγμάτων.
5. Ηλεκτρονική μικροσκόπηση των κονδυλωματωδών αλλοιώσεων
6. DNA υβριδισμός χρησιμοποιώντας PCR ή Hybrid Capture 2.

Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων έχει εγκρίνει μια σειρά από συσκευές για την ενίσχυση του τεστ Παπανικολάου. Εδώ είναι μια επισκόπηση των νέων τεχνολογιών που αποβλέπουν στη βελτίωση της ακρίβειας του επιχρίσματος Παπανικολάου:

- Νεότερο με βάση τα υγρά κατά Παπανικολάου είναι το ThinPrep και το SurePath. Χρησιμοποιείται ένα διάλυμα που βοηθά στη διατήρηση των αφαιρούμενων κυττάρων από τον τράχηλο της μήτρας (το επίχρισμα Παπανικολάου), καθώς και στην αφαίρεση της βλέννας, των βακτηρίων και των άλλων κυττάρων από τα δείγματα που μπορούν να παρεμποδίσουν την εξέταση των κυττάρων του τραχήλου της μήτρας. Φιαλίδια δοκιμής διατηρούν τα δείγματα για διάστημα έως τριών εβδομάδων από την ημερομηνία της συλλογής, δίνοντας στο γιατρό τη δυνατότητα να ζητήσει ξανά τον έλεγχο του HPV σε έναν ασθενή.
- Τα ιστολογικά δείγματα χαρακτηρίζονται από την παρουσία κοιλοκυττάρωσης, κερατινοποίησης μεμονωμένων κυττάρων, παρακεράτωσης, ακάνθωσης, και πολυπυρήνωσης. Αυτές οι αλλαγές παρατηρούνται στα κυτταρολογικά επιχρίσματα. Εντούτοις ούτε η κολποσκόπηση, η ιστολογία και η κυτταρολογία, ούτε η ανοσολογική χρώση επιτρέπουν την τυποποίηση του HPV ή την ανίχνευση της ενσωμάτωσης του ιού και δεν αποκαλύπτουν λανθάνουσες λοιμώξεις. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιδείξει τα σωματίδια του ιού σε υλικό ψήκτρας από εξωφυτικά κονδυλώματα. Η μέθοδος χρησιμοποιείται πολύ σπάνια, καθώς ακέραια σωματίδια του ιού συνήθως δεν ανευρίσκονται.

Οι δοκιμές έχουν βελτιώσει την ανίχνευση πολλών βλαβών και έχουν μειώσει την ανάγκη για περιττή επανάληψη δοκιμών.

Άλλη τεχνολογία περιλαμβάνει:

- AutoPap 300 QC Παπανικολάου (Screener-Αυτόματο Σύστημα): ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα ελέγχου της ποιότητας του δείγματος για λιγότερα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, όταν δηλαδή οι δοκιμές αδυνατούν να αντιληφθούν τις υπάρχουσες ανωμαλίες.
- Cervicography: δημιουργεί διευρυμένες φωτογραφίες του τραχήλου της μήτρας που πρέπει να χρησιμοποιηθούν μαζί με την εξέταση κατά Παπανικολάου.
- Papnet Testing System: ένα σύστημα υπολογιστή που επιλέγει τα 128 χειρότερα κύτταρα που λαμβάνονται από το τεστ Παπανικολάου για την αξιολόγηση από κυτταρολόγο.
- PapSure: μια συσκευή ανίχνευσης του τραχήλου της μήτρας με ένα μικρό φως που συνδέεται με κάτοπτρο που επιτρέπει σε έναν επαγγελματία υγείας να απεικονίσει άμεσα ανωμαλίες κατά τη στιγμή της γυναικολογικής εξέτασης. Το μπλε φως του PapSure είναι σχεδιασμένο ώστε οι ανωμαλίες του ιστού να εμφανίζονται στο φως λευκές (άσπρες).
- Σύστημα Pathfinder: ένας αυτοματοποιημένος υπολογιστής με βάση το μικροσκόπιο που βοηθά κυτταρολόγους στον εντοπισμό, τη σήμανση και την καταγραφή ύποπτων κυττάρων στην εξέταση κατά Παπανικολάου.
- DNA ανάλυση: έχει γίνει η μέθοδος επιλογής εξαιτίας των περιορισμών των άλλων διαγνωστικών μεθόδων. Οι πιο ικανοποιητικές εξετάσεις για HPV ανιχνεύουν το DNA του ιού. Επειδή όλοι οι τύποι των HPV έχουν στενή συγγένεια, γίνονται αναλύσεις που στοχεύουν σε συγκεκριμένες περιοχές του γεννητικού υλικού για να γίνει διαχωρισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων HPV. Η εξέταση Hybrid Capture παρέχει το προφίλ ενός αριθμού διαφορετικών τύπων HPV, οι οποίοι τότε μπορούν να αναλυθούν περαιτέρω χρησιμοποιώντας την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Η PCR χρησιμοποιείται για να αναγνωρίζει ειδικούς τύπους HPV. Η Hybrid Capture 2 (Digene Diagnostics, Gaithersburg, MD, USA) έχει πρόσφατα εγκριθεί από την Αμερικανική Εταιρία Διατροφής και Φαρμάκων, ως βοήθημα στον κυτταρολογικό προληπτικό έλεγχο γυναικών ηλικίας 30 ετών και πάνω. Είναι γενικά παραδεκτό ότι η PCR και HC2, μαζί, ανιχνεύουν αξιόπιστα τους υψηλού κινδύνου και άλλους τύπους HPV σε κλινικά δείγματα.

Οι δοκιμές αυτές έχουν σχεδιαστεί για να ερμηνεύσουν ακριβέστερα το τεστ Παπανικολάου και να μειώνουν τη συχνότητα των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Επειδή ορισμένοι υποτύποι του HPV μπορεί να είναι ένας προάγγελος για την παρουσία ή τη μελλοντική ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου, πολλοί επαγγελματίες του ιατρικού τομέα, επίσης, δοκιμάζουν για τη νόσο αυτή ως συμπλήρωμα για το τεστ Παπανικολάου τα εξής:

- Υβριδικά Capture II: Αυτή η εξέταση DNA, χρησιμοποιεί τεχνολογία που βασίζεται στην ανίχνευση του HPV. Μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτόχρονα ως ένα τεστ Παπανικολάου και με τον ίδιο τρόπο: με ένα βαμβάκι εμποτισμένο με απόξεση των κυττάρων του τραχήλου της μήτρας.

Συνήθως, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αναπτύσσεται αργά. Προκαρκινικές αλλαγές μπορεί να μη γίνουν καρκίνος για μήνες ή χρόνια. Μόλις εξαπλωθεί βαθύτερα σε ιστούς του τραχήλου της μήτρας ή σε άλλους ιστούς και όργανα, οι κυτταρικές ανωμαλίες κατατάσσονται ως καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Ένα τεστ Παπανικολάου είναι ένα εργαλείο ελέγχου. Όλες οι εργαστηριακές εξετάσεις της Παπανικολάου θα πρέπει να έχουν κάποια μορφή παρακολούθησης. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει προσέγγιση με επανέλεγχο σε μερικούς μήνες. Σε περίπτωση μη φυσιολογικού PAP τεστ η εξέταση ανίχνευσης αλλοιώσεων συνεχίζεται με κολποσκοπική εξέταση όπου στην κλασική μέχρι σήμερα μέθοδο εξέτασης χρησιμοποιείται low power μικροσκόπιο και διαγνωστικοί δείκτες με την ιδιότητα να ενισχύσουν την αντίθεση παθογόνου και μη παθογόνου ιστού. Ανάλογα με το βαθμό της ανωμαλίας, ο γυναικολόγος μπορεί να αποφασίσει ότι άλλες δοκιμές, συμπεριλαμβανομένων των παρακάτω είναι αναγκαίες:

- **Κολποσκόπηση:** Ο γιατρός χρησιμοποιεί ένα κολποσκόπιο για μεγέθυνση και εστίαση με φως του κόλπου και του τραχήλου για να προβληθούν αυτές οι περιοχές με μεγαλύτερη λεπτομέρεια. Η κολποσκόπηση αποτελεί απλή, μη επεμβατική και σύντομη στην διενέργειά της εξέταση, με την οποία επισκοπείται ο τράχηλος υπό μεγέθυνση με την βοήθεια ειδικού μικροσκοπίου. Η επίθεση του τραχηλικού επιθηλίου με διάλυμα οξικού οξέος 3%-5% προκαλεί τήξη των πρωτεϊνών του πυρήνα των κυττάρων και έτσι, στις περιοχές όπου υπάρχει αλλοιωμένο επιθήλιο-και όπου κατά κανόνα αυτό είναι υπερπλαστικό-εμφανίζεται λευκάζουσα απόχρωση. Η ύπαρξη υπερπλαστικών αγγείων του στρώματος δίνει επιφανειακά την εικόνα διάστιξης ή μωσαικού (το φυσιολογικό επιθήλιο διατηρεί την ερυθρά ομαλή εμφάνισή του και μετά την δράση του οξικού οξέος). Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ανεύρεση ατύπων αγγείων στο τραχηλικό επιθήλιο. Η επίθεση με διάλυμα Lugol (δοκιμασία κατά Schiller) προκαλεί στο φυσιολογικό επιθήλιο μία έντονη φαιά χρώση. Λόγω πρόσληψης του KI του διαλύματος από το γλυκογόνο του κυτταροπλάσματος των κυττάρων. Αντίθετα, το αλλοιωμένο επιθήλιο δε χρωματίζονται λόγω του ότι τα κύτταρα του στερούνται γλυκογόνου. Η κολποσκόπηση θεωρείται ικανοποιητική, όταν το σύνολο της ζώνης μετάπτωσης είναι ορατό. Αντίθετα, εάν μέρος αυτής της ζώνης ευρίσκεται στο βάθος του ενδοτραχηλικού αυλού και δεν είναι δυνατή η δια του κολποσκοπίου επισκόπησή του, απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή ως προς την συνολική εκτίμηση του κινδύνου.



Εικόνα 23: Κολποσκόπιο



Εικόνα 24: Κολποσκοπική Εξέταση

Η ύπαρξη ψευδώς αρνητικών και ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων τόσο της κυτταρολογικής όσο και της κολποσκοπικής εξέτασης καθιστούν επιβεβλημένη την διενέργεια, αν είναι δυνατόν, και των δύο μεθόδων, ως συμπληρωματικών η μία της άλλης.

Ο περιορισμός μόνο στην κυτταρολογική εξέταση έδειξε στο παρελθόν ότι έχει μερικές φορές ως αποτέλεσμα (λόγω ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων) την εξέλιξη ενός αδιάγνωστου τραχηλικού καρκίνου. Από την άλλη πλευρά, η διενέργεια κολποσκόπησης είναι δυνατόν να εφαρμοσθεί ως μέθοδος μαζικού ελέγχου σε πληθυσμιακό επίπεδο. Τελευταία συζητείται και η εξαρχής ανίχνευση του HPV-DNA των ογκογόνων τύπων του ιού ως μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου των γυναικών με στόχο την αναγνώριση των γυναικών υψηλού κινδύνου.

Παρόλα τα ανωτέρω, η ιστολογική εξέταση βιοψιών υπό κολποσκοπικό έλεγχο ήταν και παραμένει η “χρυσή αρχή” (gold standard) της διάγνωσης όλων των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας.

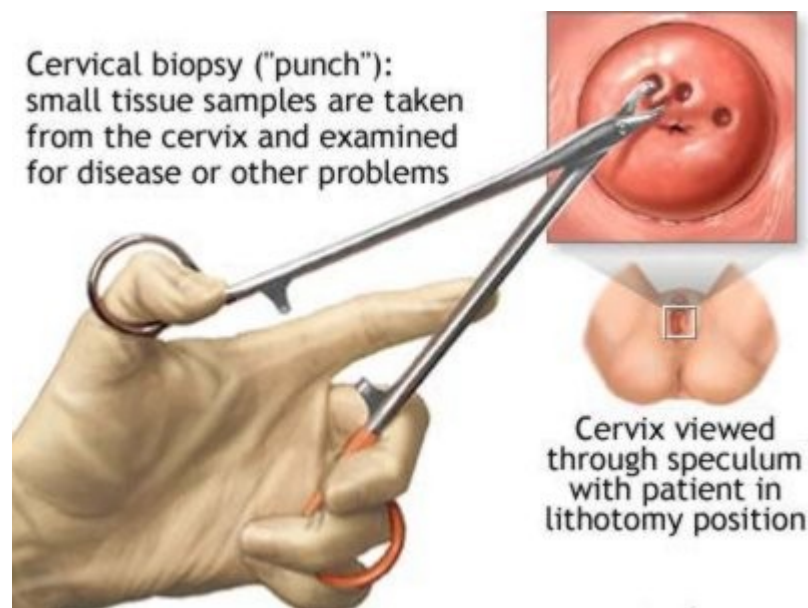
Η διαγνωστική μέθοδος της κολποσκόπησης βασίζεται σε οπτική παρατήρηση του τραχήλου από το θεράποντα ιατρό και η τυχόν αλλοίωση κατηγοριοποιείται σύμφωνα με την εμπειρία του εξεταστή σε CIN I, CIN II και CIN III. Η κολποσκόπηση σα διαγνωστική μέθοδος είναι αποδοτική στην ανίχνευση της σοβαρότητας της. Για το λόγο αυτό αυτό κρίνεται απαραίτητα η συνέχιση της εξέτασης ανίχνευσης αλλοιώσεων με ιστολογική εξέταση (βιοψία) από τις ύποπτες περιοχές που έχουν εντοπιστεί. Η ακρίβεια της βιοψίας περιορίζεται από σφάλματα κατά τη δειγματοληψία. Είναι μια εξέταση ποιοτική που δεν καθίσταται δυνατός ο εντοπισμός της παθογόνου περιοχής και μπορεί να κρύβει κινδύνους [4]. Είναι μια ιδιαίτερα δαπανηρή διαδικασία και πολύ ψυχοφθόρα για τον ασθενή.

Ανάλογα με τα ευρήματα αυτά, μπορεί να χρησιμοποιηθούν μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες δοκιμές:

- **Βιοψία:** Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, δείγμα ιστού λαμβάνεται από την επιφάνεια του τραχήλου της μήτρας. Κατά τη διάρκεια λοιπόν της κολποσκόπησης, ο γιατρός μπορεί να εκτελέσει μια βιοψία του τραχήλου της μήτρας, ανάλογα με αυτό που διαπιστώθηκε κατά την εξέταση. Η βιοψία του τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνει την αφαίρεση μικρών σε ποσότητα ιστών του τραχήλου της μήτρας που πρέπει να εξεταστούν με μικροσκόπιο. Χρειάζονται μόνο δευτερόλεπτα για να αποκτηθεί ένα δείγμα ιστού και είναι μια λίγο άβολη διαδικασία εξέτασης. Ανάλογα με τα ευρήματα κατά τη διάρκεια της κολποσκόπησης, θα φανεί σε ποιες περιοχές του τραχήλου της μήτρας θα γίνει βιοψία. Γίνεται με τοπική αναισθησία.

Η βιοψία απομακρύνεται από γυναικολόγο που χρησιμοποιεί ένα κολποσκόπιο για να φωτίζει και να μεγεθύνει την επιφάνεια του τραχήλου. Το κολποσκόπιο επιτρέπει στον ιατρό να απεικονίσει καλύτερα τις ανώμαλες περιοχές και να αφαιρέσει ένα μικρό τμήμα της επιφάνειας του τραχήλου. Μερικές φορές, ο γυναικολόγος χρησιμοποιεί τη δοκιμή Schiller, όπου η επιφάνεια του τραχήλου της μήτρας είναι επικαλυμμένη με ιώδιο. Η ουσία αυτή καθιστά τον φυσιολογικό ιστό καφέ, ενώ τον καρκινικό ιστό κίτρινο ή λευκό. Εάν η διάγνωση δεν είναι σαφής, ο γιατρός μπορεί να συστήσει έναν πυρήνα βιοψία. Αυτό το είδος της βιοψίας αφαιρεί ένα μεγαλύτερο, κωνικό δείγμα ιστού. Αυτό το είδος της βιοψίας μπορεί να αφαιρεθεί μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται εκτομή βρόχο. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιεί ένα λεπτό σύρμα-βρόχο και ολοκληρώνεται επιτυχώς από χαμηλής έντασης ηλεκτρικό ρεύμα.

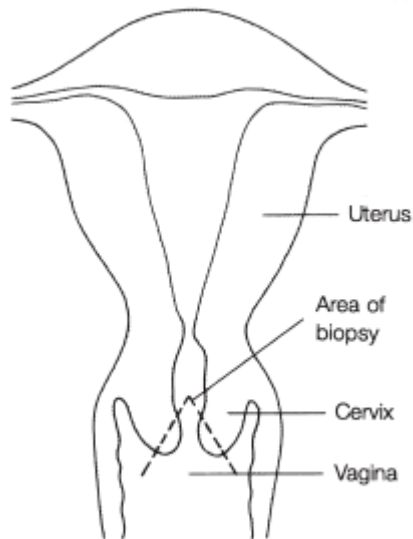
- Βιοψία διατρήσεων: Ο γιατρός χρησιμοποιεί ένα αιχμηρό εργαλείο για να αφαιρέσει μικρά δείγματα των ιστών του τραχήλου της μήτρας.



Εικόνα 25: Βιοψία διατρήσεων

Αν υπάρχει υποψία για επεμβατικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ή αν διαφέρουν η κολποσκόπηση και τα αποτελέσματα του τεστ Παπανικολάου, κώνου βιοψία ή endocervical απόξεση μπορεί να πραγματοποιηθούν.

- Endocervical απόξεση (ECC): κύτταρα έχουν ξυθεί μέσα από το κανάλι του τραχήλου της μήτρας με ένα ειδικά διαμορφωμένο όργανο που ονομάζεται curette για να βοηθήσει να γίνει μια πιο ακριβής διάγνωση. Η διαδικασία αυτή αξιολογεί ένα τμήμα του τραχήλου της μήτρας. Μαζί με μια βιοψία του τραχήλου της μήτρας, μια ECC μπορεί επίσης να γίνει. Κατά τη διάρκεια μιας ECC, ο γιατρός χρησιμοποιεί ένα μικρό πινέλο για να αφαιρέσει ιστό από το ενδομήτριο κανάλι, το στενό χώρο μεταξύ της μήτρας και του τραχήλου. Μια ECC μπορεί να είναι μέτρια επώδυνες, αλλά ο πόνος εξαφανίζεται όταν ολοκληρωθεί.
- Κώνος βιοψία: Όταν βιοψία ή endocervical απόξεση αποκαλύπτει ένα πρόβλημα που απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση, ενός κώνου βιοψίας μπορεί να πραγματοποιηθεί. Ένα κώνος του ιστού αφαιρείται γύρω από το άνοιγμα του τραχήλου της μήτρας, υπό γενική αναισθησία. Διάφορες μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να γίνει αυτό. Αν υπάρχει μόνο μια πολύ μικρή αύξηση των κυττάρων καρκίνου (microinvasive καρκίνος), ο κώνος βιοψία μπορεί να τα αφαιρέσει όλα έτσι ώστε να μην είναι αναγκαία περαιτέρω επεξεργασία. Ακόμη και αν η βιοψία κώνου δεν έχει αφαιρέσει όλα τα καρκινικά κύτταρα, είναι χρήσιμη για τη διάγνωση.



Εικόνα 26: Κώνος βιοψία

- Loop ηλεκτροκαυτηρίαση εκτομή Διαδικασία (ΕΠΕΔ): Η ύποπτη περιοχή αφαιρείται με μια συσκευή βρόχο και ο υπόλοιπος ιστός ηλεκτροκαυτηριάζεται (εξατμίζεται με ραδιοκύματα). Γίνεται με τοπική αναισθησία με αφαίρεση ιστού από τον τραχήλο της μήτρας. Μια ΕΠΕΔ αξιοποιεί ηλεκτρικά φορτισμένο βρόχο σύρμα για να αφαιρέσει το δείγμα ιστού. Η ΕΠΕΔ είναι τόσο μια διαγνωστική μέθοδος όσο και μια θεραπεία. Ένας κυτταρολόγος εξετάζει τον ιστό που αφαιρείται κατά την ΕΠΕΔ. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται συχνότερα για τη θεραπεία υψηλού βαθμού δυσπλασίας του τραχήλου της μήτρας και όχι για τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Πάνω από το 90% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας μπορεί να σταματήσει με αυτή την τεχνική.
- Πυελική εξέταση: Η διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου μπορεί να γίνει και με πυελική εξέταση. Σε μια πυελική εξέταση ο κόλπος και παρακείμενα όργανα εξετάζονται οπτικά και bimanually (χρησιμοποιώντας και τα δύο χέρια). Μακροσκοπική εξέταση διενεργείται χρησιμοποιώντας μητροσκόπιο (μέσο που θερμαίνεται και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των ιστών) που εισάγεται στον κόλπο. Στη συνέχεια, ψηλαφούνται τα όργανα της πυέλου (αισθητές με τα δάχτυλα).
- Digene HPV test: Σε γυναίκες που είναι πάνω από την ηλικία των 30, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, περιλαμβάνει μια δοκιμή για την ανίχνευση υψηλού κινδύνου HPV λοίμωξη, που ονομάζεται digene HPV test.

- Μεγάλη εκτομή βρόχου της ζώνης του μετασχηματισμού (LLETZ): Ανώμαλα κύτταρα είναι πιο πιθανό να αναπτυχθούν σε μια περιοχή του τραχήλου της μήτρας γνωστή ως ζώνη μετασχηματισμού. LLETZ είναι μια κοινή διαδικασία η οποία καταργεί τα ανώμαλα κύτταρα στη ζώνη μετασχηματισμού. Πριν από τη διαδικασία ένα τοπικό αναισθητικό χορηγείται συνήθως. Ένα λεπτό σύρμα χρησιμοποιείται στη συνέχεια για να αφαιρέσει την πληγείσα περιοχή.

Εάν ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει διαγνωστεί, περισσότερες δοκιμές διεξάγονται για να φανεί αν τα καρκινικά κύτταρα έχουν εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του σώματος. Οι δοκιμές αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν:

- Εξετάσεις αίματος: γενική αίματος (CBC) και έλεγχος της χημείας του ορού για να ελεγχθεί η νεφρική και η ηπατική λειτουργία.
- Cystoscopy: Η δοκιμή αυτή πραγματοποιείται για να δούμε αν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί στην ουροδόχο κύστη. Ο γιατρός εξετάζει το εσωτερικό της κύστης με ένα αναμμένο σωλήνα. Είναι μια δοκιμασία έρευνας, που επιτρέπει στο γιατρό να εξετάσει την εσωτερική επένδυση της κύστης και της ουρήθρας για σημεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Χρησιμοποιείται κυρίως σε γυναίκες με μεγάλους όγκους. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιεί ένα λεπτό, φωτιζόμενο όργανο που από μια διαφανή οπτική συσκευή που χρησιμοποιείται για να συγκλίνει ή αποκλίνει το διαβιβαζόμενο φως ώστε να σχηματισθούν εικόνες σε ειδική οθόνη. Σε ορισμένες περιπτώσεις, κατά τη διάρκεια μιας cystoscopy, ο γιατρός μπορεί να αφαιρέσει ένα δείγμα ιστού για μικροσκοπική εξέταση. Η cystoscopy γίνεται με τοπική ή γενική αναισθησία.
- Proctoscopy: Παρόμοια με μια cystoscopy, αυτή η δοκιμή εκτελείται για να δούμε αν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί στο ορθό. Σκοπός αυτής της έρευνας είναι να εξεταστεί η πρωκτική κοιλότητα του ορθού σε ασθενείς με εν τω βάθει τύπο του καρκίνου του τραχήλου. Χρησιμοποιεί ένα όργανο που ονομάζεται proctoscope, (10 ίντσες ή 25 εκατοστά), ίσιο, άκαμπτο, κοίλο μεταλλικό σωλήνα, το οποίο δίνει μια μικρή οπτική συσκευή που συγκλίνει ή αποκλίνει φωτισμό σε μια εικόνα. Η proctoscopy μπορεί να διαπιστώσει κατά πόσον ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί πέρα από τον τράχηλο της μήτρας, καθώς και την ακριβή τοποθεσία και το μέγεθος των νέων όγκων.
- Σιγοειδοσκόπηση: χρησιμοποιείται για να δει εάν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί έως το ορθό ή το κάτω τμήμα του παχέος εντέρου.
- Ακτινογραφία θώρακος: για να διαπιστωθεί αν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί στους πνεύμονες. Χρησιμοποιείται υψηλής ενέργειας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ώστε να διεισδύσει, στο σώμα και να δημιουργηθεί η εικόνα του σε μια ταινία. Η ακτινογραφία θώρακος πραγματοποιείται μόνο σε γυναίκες με προχωρημένο στάδιο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Άλλες δοκιμές απεικόνισης μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να δούμε εάν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του σώματος. Οι δοκιμές αυτές έχουν επιτρέψει στους γιατρούς να δουν τους μαλακούς ιστούς του σώματος χωρίς χειρουργική επέμβαση. Αυτές οι δοκιμές απεικόνισης περιλαμβάνουν:

- CT (αξονική τομογραφία) σαρώσεις: ένας υπολογιστής χρησιμοποιείται για την επεξεργασία πολλαπλών X-ray εικόνων σε μια πιο πλήρη διατομή του σώματος. Αυτή η εξέταση απεικόνισης είναι παρόμοια με ακτινογραφία θώρακος, και δημιουργεί μια λεπτομερή συγχρονική εικόνας του σώματος. Αυτή η εξέταση μπορεί να εντοπίσει ανώμαλη μάζα ιστών. Η αξονική τομογραφία γίνεται συνήθως σε δύο στάδια για ένα καλύτερο αποτέλεσμα διάγνωση: Πρώτον, η στοχευμένη περιοχή δεν έχει σαρωθεί από το σκιαγραφικό. Δεύτερον, η στοχευμένη περιοχή σαρώνεται και εξετάζεται μετά το σκιαγραφικό. Αυτή η εξέταση απεικόνισης παρέχει βασικές πληροφορίες για το μέγεθος του όγκου, το σχήμα, και την ακριβή τοποθεσία του, και μπορεί να περιγραφεί εάν ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί σε άλλα όργανα ή λεμφαδένες στο εσωτερικό της κοιλιακής κοιλότητας.
- Απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI): Η μαγνητική τομογραφία είναι μια προηγμένη τεχνική που χρησιμοποιεί ραδιοκύματα και ισχυρούς μαγνήτες για να αποκαλύψει την πλήρη εικόνα που θα είχε μία περιοχή του σώματος. Η ενέργεια από τα ραδιοκύματα απορροφάται από τους ιστούς και στη συνέχεια κυκλοφορεί σε ένα μοτίβο που επιτρέπει να ανιχνευθεί και να διαγνωστεί ο καρκίνος. Αυτή η εξέταση απεικόνισης χρησιμοποιείται κυρίως για την εξέταση των όγκων της πύελου, αλλά είναι επίσης αποτελεσματική στην περιγραφή του όγκου στον εγκέφαλο ή το νωτιαίο μυελό.
- Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET): Αυτή η τεχνική χρησιμοποιεί ραδιενεργή γλυκόζη για τον εντοπισμό των καρκινικών όγκων. Η γλυκόζη που χρησιμοποιείται σε αυτή τη μέθοδο διάγνωσης περιέχει ραδιενεργά άτομα που απορροφώνται σε μεγάλο βαθμό από τα καρκινικά κύτταρα. Η ραδιενέργεια ανιχνεύεται στη συνέχεια από μια ειδική κάμερα. Μια PET scan είναι αποτελεσματική για τη στοιχειοθέτηση του καρκίνου, αν έχει εξαπλωθεί πέρα από τον πνεύμονα, καθώς και την ακριβή τοποθεσία όπου έχει εξαπλωθεί. Αυτή η εξέταση απεικόνισης χρησιμοποιείται σε ασθενείς με προχωρημένα στάδια του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με το μέγεθος του όγκου και της θέση του, καθώς και για υφιστάμενους καρκίνους.
- Ενδοφλέβια urography (ενδοφλέβια pyelogram ή IVP): Αυτή η εξέταση απεικόνισης είναι μια ακτινογραφία του ουροποιητικού συστήματος. Ο ασθενής, πριν από την ακτινογραφία λαμβάνει ένα παράγοντα χρωστικής, ο οποίος απομακρύνεται από την κυκλοφορία του αίματος από τα νεφρά και περνάει στην ουροδόχο κύστη. Ενδοφλέβια urography πραγματοποιείται μόνο σε εκείνους τους ασθενείς που πάσχουν από προχωρημένο στάδιο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, διότι στόχος είναι οι λεμφαδένες της πύελου. Εάν ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει εξαπλωθεί στους λεμφαδένες αυτούς, ο όγκος μπορεί να συμπιέζει ή και να αποκλείει έναν ουρητήρα.

## Ποσοτική παθολογία (quantitative pathology)

Η απότομη αύξηση του ενδιαφέροντος για την εφαρμογή της ποσοτικής παθολογίας για τη διάγνωση του καρκίνου και την πρόγνωση αυτού οφείλεται κυρίως στους ακόλουθους λόγους:

- αυξημένες κοινωνικές απαιτήσεις για ποσοτικοποίηση και αντικειμενικότητα
- βελτίωση και ευρεία διαθεσιμότητα της κατάλληλης τεχνολογίας
- συνειδητοποίηση ότι οι αλλαγές μπορεί να ανιχνευθούν με ποσοτική ανάλυση που διαφορετικά θα ξέφευγε της παρατήρησης
- βελτίωση των θεραπευτικών δυνατοτήτων για ασθενείς με καρκίνο.

Τέλος, οι γνωμοδοτήσεις των παθολόγων δεν είναι πάντοτε συνεπείς ή εύκολο να αναπαραχθούν, ενώ οι ποσοτικά παθολογικές αναλύσεις είναι περισσότερο αναπαραγωγίσιμες και πιο ικανές να εμποδίσουν την υπό ή υπέρ θεραπεία.

## Βιοψία

Οι απεικονιστικές μελέτες (imaging studies), όπως η κολποσκόπηση και η μαγνητική τομογραφία, συχνά μαζί με τη σωματική εξέταση του τραχήλου της μήτρας, μπορεί να οδηγήσουν τους γιατρούς στην υποψία ότι ένα άτομο έχει καρκίνο. Ωστόσο, ο μόνος τρόπος να είναι βέβαιοι για αυτό είναι να πάρουν δείγμα ιστού από την ύποπτη περιοχή και να το εξετάσουν με το μικροσκόπιο.

Η βιοψία είναι μια μικρή εγχείριση που γίνεται για την αφαίρεση ιστού από μια περιοχή ενδιαφέροντος του σώματος. Εάν ο γιατρός δει κάτι ύποπτο κατά την εξέταση, ή βλέπει κάτι ύποπτο σε μια απεικονιστική μελέτη, ο ασθενής θα υποβληθεί σε βιοψία. Ο ιστός δείγμα εξετάζεται από παθολόγο (ένας γιατρός που ειδικεύεται στην διάγνωση της ασθένειας) για να δει αν καρκινικά κύτταρα είναι παρόντα ή όχι. Εάν ο καρκίνος είναι παρών, ο παθολόγος μπορεί στη συνέχεια να εξετάσει τα χαρακτηριστικά του. Η βιοψία θα οδηγήσει σε μια έκθεση που περιέχει όλες τις διαπιστώσεις του παθολόγου για τον καρκίνο. Η βιοψία είναι συνήθως μια απλή διαδικασία.

Διαφορετικές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διενέργεια βιοψίας, και είναι πιθανό ότι ο χειρουργός θα προσπαθήσει να χρησιμοποιήσει τη δυνατόν λιγότερο επεμβατική διαδικασία - αυτή που αφορά τη μικρότερη τομή και το ελάχιστο ποσό των ουλών. Ωστόσο, η επιλογή της διαδικασίας εξαρτάται πραγματικά από την κατάσταση του ασθενούς. Βιοψία μπορεί να γίνει με την τοποθέτηση μιας βελόνα μέσα στο δέρμα για την απομάκρυνση του δείγματος ιστού. Ή μπορεί να περιλαμβάνει μια μικρή χειρουργική διαδικασία, στην οποία ο χειρουργός κάνει τομές στο δέρμα για την αφαίρεση ορισμένων ή όλων των ύποπτων ιστών. Συγκεκριμένα οι συνηθέστερες διαδικασίες βιοψίας είναι:

1. incisional βιοψία: μόνο ένα δείγμα ιστού αφαιρείται
2. excisional βιοψία: ένας ολόκληρος αδένας ή ύποπτη περιοχή αφαιρείται
3. βιοψία με βελόνα (needle biopsy): ένα δείγμα ιστού ή υγρού αφαιρείται με βελόνα. Όταν μια μεγάλη βελόνα χρησιμοποιείται, η διαδικασία αυτή ονομάζεται βιοψία πυρήνα (core biopsy). Όταν μια λεπτή βελόνα χρησιμοποιείται, η διαδικασία ονομάζεται fine-needle aspiration biopsy.

Οι κοινές μέθοδοι για την βιοψία μπορεί να κατηγοριοποιηθούν και ως εξής:

1. Μια βελόνα χρησιμοποιείται για την απόσυρση των ιστών ή των υγρών.
2. Ένα ενδοσκόπιο (ένας λεπτός, φωτιζόμενος σωλήνας) χρησιμοποιείται για να εξετάσει τις τομείς στο εσωτερικό του σώματος και την αφαίρεση κυττάρων ή ιστών.
3. Το χειρουργείο χρησιμοποιείται για την αφαίρεση τμήματος του όγκου ή του συνόλου του όγκου. Αν το σύνολο του όγκου απομακρυνθεί, συνήθως κάποιος φυσιολογικός ιστός γύρω από τον όγκο επίσης αφαιρείται.

Οι ιστοί αφαιρούνται κατά τη διάρκεια μιας βιοψία και αποστέλλονται σε εργαστήριο παθολογίας, όπου κόβονται σε λεπτές φέτες για την παρατήρηση τους με το μικροσκόπιο. Αυτό είναι γνωστό ως ιστολογική εξέταση και είναι συνήθως ο καλύτερος τρόπος για να πούμε εάν ο καρκίνος υφίσταται.

### Προετοιμασία του ιστού μετά την βιοψία

Ο ιστός που αφαιρείται κατά τη διάρκεια μιας βιοψίας ή χειρουργικής επέμβασης πρέπει να κοπεί σε λεπτές τομές, που τοποθετούνται σε διαφάνειες, και βάφονται με χρωστικές πριν εξεταστούν υπό το μικροσκόπιο. Δύο μέθοδοι χρησιμοποιούνται προκειμένου να είναι δυνατόν ο ιστός να κοπεί σε λεπτά τμήματα: κατεψυγμένα τμήματα και παραφίνη-ενσωματωμένα (μόνιμο) τμήματα. Τα μόνιμα τμήματα ετοιμάζονται με την τοποθέτηση του ιστού σε στερεωτικό (συνήθως φορμαλίνη), επεξεργάζονται με επιπλέον διαλύματα και, στη συνέχεια τοποθετούνται σε κερί παραφίνης. Αφού το κερί έχει σκληρύνει, ο ιστός κόβεται σε πολύ λεπτές φέτες, οι οποίες τοποθετούνται σε διαφάνειες και χρωματίζονται. Η διαδικασία συνήθως διαρκεί αρκετές ημέρες. Ένα μόνιμο τμήμα παρέχει καλύτερη ποιότητα για εξέταση από παθολόγο και παράγει πιο ακριβή αποτελέσματα από ένα κατεψυγμένο τμήμα.

### Χρώση

Η χρώση είναι μια βιοχημική τεχνική πρόσθεσης μιας ειδικής κατηγορίας χρωστικής στο υπόστρωμα για την ποσοτικοποίηση και τον προσδιορισμό της παρουσίας ενός ειδικού συστατικού. Είναι παρόμοια με την τοποθέτηση πινακίδων φθορισμού. Οι χρωστικές χρησιμοποιούνται συχνά στη βιολογία και την ιατρική για να επισημανθούν δομές βιολογικών ιστών, συχνά με τη βοήθεια διαφορετικών μικροσκοπίων. Χρωστικές μπορεί να χρησιμοποιηθούν για να καθορίσουν και να εξετάσουν χύμα ιστούς (επισημαίνοντας, για παράδειγμα, μυϊκές ίνες), τον πληθυσμό των κυττάρων (ταξινόμηση των διαφόρων κυττάρων του αίματος, για παράδειγμα), ή οργανίδια μέσα σε μεμονωμένα κύτταρα. Η χρώση μπορεί να είναι:

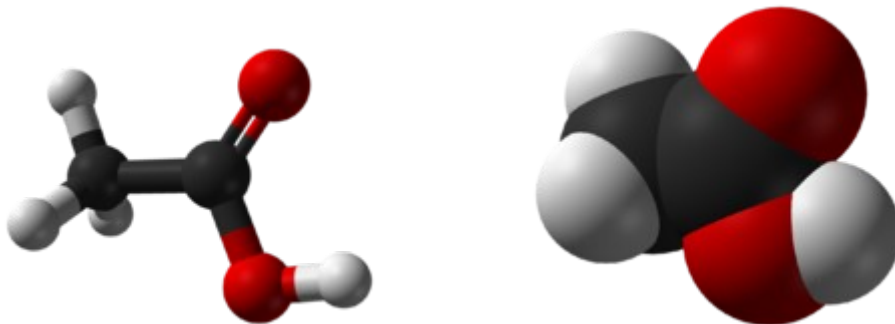
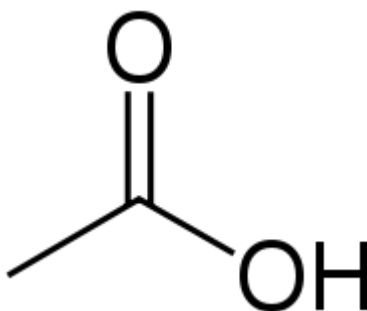
- In vitro: αφορά το χρωματισμό των κυττάρων ή των δομών που δεν είναι πλέον στη ζωή.
- In vivo: αφορά το χρωματισμό ζώντων κυττάρων ή δομών.

Ορισμένες χρωστικές συχνά συνδυάζονται για να αποκαλύψουν περισσότερες λεπτομέρειες και στοιχεία από μια και μόνο χρωστική. Σε συνδυασμό με ειδικά πρωτόκολλα για τη στερέωση και την προετοιμασία του δείγματος, οι επιστήμονες και οι γιατροί μπορούν να χρησιμοποιούν αυτές τις πρότυπες τεχνικές ως συνεπή, επαναλήψιμα διαγνωστικά εργαλεία. Μια χρωστική counterstain είναι που κάνει τα κύτταρα ή τις δομές πιο ορατές, όταν δεν είναι πλήρως ορατές με την κύρια κηλίδα. Προκαλώντας ορισμένα κύτταρα ή δομές να πάρουν αντίθετο χρώμα, η μορφή τους (μορφολογία) ή η θέση τους εντός των κυττάρων ή των ιστών μπορούν εύκολα να παρατηρηθούν και να μελετηθούν. Ο συνήθης στόχος είναι να αποκαλύψει κυτταρολογικές λεπτομέρειες που θα μπορούσαν να μην είναι εμφανείς.

### Η χρωστική

Η χρωστική που χρησιμοποιήθηκε για τη χρώση του τραχήλου της μήτρας είναι το οξικό οξύ (acetic acid). Στη χημεία το συναντάμε με την ονομασία αιθανικό οξύ.

Το αιθανικό οξύ ή αιθανοϊκό οξύ ή οξικό οξύ ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) είναι ένα καρβονικό οξύ που δίνει στο ξίδι τη γνωστή (ξινή) γεύση και οσμή. Είναι ένα μετρίως ασθενές οξύ, δηλαδή διίσταται σε μικρό ποσοστό σε υδατικό περιβάλλον. Το καθαρό (άνυδρο) αιθανικό οξύ (ονομάζεται «παγόμορφο») είναι ένα άχρωμο υδροσκοπικό υγρό, που πηάζει στους  $16,5^\circ\text{C}$  σε ένα άχρωμο κρυσταλλικό στερεό. Καθαρό ή σε πυκνά διαλύματα είναι επικίνδυνα διαβρωτικό. Είναι το δεύτερο μέλος της ομόλογης σειράς των αλκανικών οξέων.



Εικόνα 27: Χημική δομή του οξικού οξέος

Αποτελεί ένα σημαντικό χημικό αντιδραστήριο για τη χημική βιομηχανία, για την παραγωγή σημαντικών οργανικών ενώσεων όπως ο οξικός βινυλεστέρας και ο οξικός ανυδρίτης. Η παγκόσμια ζήτηση αιθανικού οξέος είναι της τάξης των 6,5 εκατομμύρια MT το χρόνο, από την οποία περίπου 1,5 εκατομμύρια MT το χρόνο καλύπτεται με ανακύκλωση. Το υπόλοιπο παράγεται πετροχημικά ή και από βιολογικής προέλευσης πηγές. Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων με τον κωδικό E260.

Το οξικό οξύ στην ιατρική χρησιμοποιείται στον τομέα της γυναικολογίας ως χρωστικός δείκτης. Εφαρμόζεται τοπικά στον τράχηλο της μήτρας ως ένα διάλυμα 3-5% (πολύ συχνά μαζί με τη χρήση διαλύματος ιωδίου Lugol) και καθιστά δυνατή την ανίχνευση, διάγνωση και χαρτογράφηση των τραχηλικών βλαβών.

### Αυτοφθορισμός

Εναλλακτικές τεχνικές που βοηθούν σε in-vivo διάγνωση πρόσφατα έχουν αναφερθεί, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης των τεχνικών για την ανίχνευση αλλαγών στις φασματοσκοπικές ιδιότητες του ιστού. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η χρήση της autofluorescence για την ποσοτικοποίηση των αλλαγών στην παθολογία. Μερικά αποδεικτικά στοιχεία δείχνουν ότι η χρώση του ιστού υφίσταται, και συμβάλει στην ανίχνευση της μετατροπής από δυσπλασία σε καρκίνο. Όλος ο ιστός περιέχει fluorophores που απορροφούν φως και στη συνέχεια εκπέμπουν φως σε μεγαλύτερο μήκος κύματος. Πιστεύεται ότι σήμερα ο αυτοφθορισμός κυρίως ανιχνεύει αλλαγές στη συγκέντρωση ή τη διανομή των εν λόγω συστατικών.

Καθώς ο κανονικός ιστός εμφανίζει δυσπλασία η συγκέντρωση ή η διανομή αυτών των ενδογενών fluorophores αλλάζει, με αποτέλεσμα την μεταβολή του φθορίζοντος φάσματος. Οι αλλαγές αυτές εξαρτώνται από το μήκος κύματος και συσχετίζονται με αλλαγές στην ιστολογία. Ένας τρόπος για να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα του αυτοφθορισμού είναι να κάνει χρήση του 5-aminolevulinic οξέος ή ALA. Μια από τις πιο κοινές μη ενδογενείς ενώσεις που έχει χρησιμοποιηθεί κλινικά ως μέτρο αντίθεσης είναι η toluidine blue.

## Αναδυόμενες τεχνολογίες επεξεργασίας σήματος και στατιστικές μέθοδοι για διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας in vivo [3]

Ο σύγχρονος τρόπος εξέτασης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι το Pap test που αποτελεί μια κυτταρολογική διαδικασία. Αυτή η διαδικασία έχει πολλούς περιορισμούς και πολλά σφάλματα. Ιδανικοί υποψήφιοι για βελτιστοποίηση της διάγνωσης του τραχηλικού καρκίνου είναι τα συστήματα ηλεκτρο-οπτικής που χρησιμοποιούνται για in vivo διάγνωση όπως είναι η ψηφιακή φασματοσκοπία, η ψηφιακή κολποσκόπηση και συστήματα βασισμένα σε βιοηλεκτρικά φαινόμενα. Αυτά τα ηλεκτρο-οπτικά συστήματα (EOSs) εκμεταλλεύονται τα πλεονεκτήματα των μεθόδων επεξεργασίας σήματος και μπορούν να αντικαταστήσουν τις υποκειμενικές εκτιμήσεις με αντικειμενικούς υπολογισμούς.

## Οι περιορισμοί της σύγχρονης διαδικασίας διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

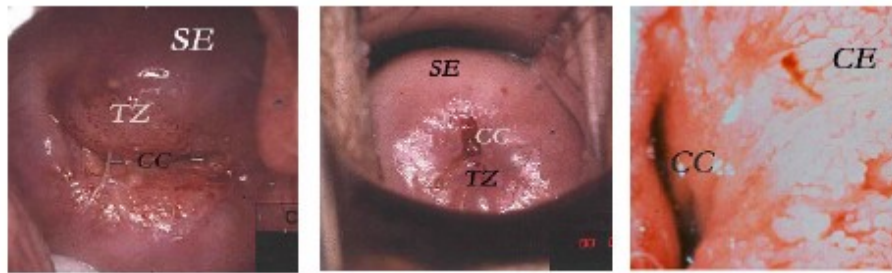
Το κυτταρολογικό test περιλαμβάνει τη λήψη κυττάρων από τη ζώνη μετάβασης ανάμεσα στον ενδοτράχηλο και τον εξωτράχηλο. Ένα από τα σφάλματα του Pap test είναι το false negative, δηλαδή η διάγνωση ως αρνητικών εκείνων των tests που προέρχονται από πληθυσμό των εχόντων την ασθένεια. Το σφάλμα εδώ, σύμφωνα με μελέτες, κυμαίνεται μεταξύ 20% με 40% ή 6% με 55%. Ένα άλλο σφάλμα είναι το σφάλμα δειγματοληψίας όταν το δείγμα λαμβάνεται από μη κατάλληλα σημεία του τραχήλου της μήτρας. Επίσης υπάρχει και η μέθοδος της κολποσκόπησης με χαμηλά όμως επίπεδα ευαισθησίας (sensitivity). Συγκεκριμένα, η ευαισθησία της κολποσκόπησης κυμαίνεται μεταξύ 64% και 99% και η ειδικότητα μεταξύ 30% και 93% όταν συσχετιστεί και με τα αποτελέσματα ιστολογικής βιοψίας.

Τα χαρακτηριστικά που συνήθως αναλύονται χρησιμοποιώντας μεθόδους επεξεργασίας σήματος είναι:

- 1) το μέγεθος (magnitude) του σήματος (ένταση).
- 2) η τοπική χωρική ή χρονική συσχέτιση του σήματος σε μια συγκεκριμένη περιοχή
- 3) η συχνότητα του σήματος ή η αποσύνθεση χρόνου-συχνότητας του σήματος
- 4) τα πρώτης, δεύτερης ή μεγαλύτερης τάξης στατιστικά χαρακτηριστικά του σήματος και τα συσχετιζόμενα μοντέλα κατανομής πιθανότητας όταν τα σήματα είναι μοντελοποιημένα ως τυχαίες διαδικασίες.

Στόχος μας είναι τεχνολογίες που εξετάζουν τον τράχηλο της μήτρας “in vivo” μεταφράζοντας αυτές τις μεθόδους σε χαρακτηριστικά βασισμένα σε σήματα πληροφορίας, ώστε να γίνεται δυνατή η διάκριση μεταξύ της φυσιολογικής κατάστασης και της παθολογίας. Γενικά, ως μη φυσιολογικά κολποσκοπικά χαρακτηριστικά θεωρούμε τα παρακάτω ανατομικά χαρακτηριστικά:

- 1) Acetowhite επιθήλιο, προκαλείται από αυξημένη κυτταρική διαίρεση ή μη φυσιολογική ενδοκυτταρική κερατίνη (χρωματική ένταση).
- 2) Μια μορφή στίξης ή μωσαϊκού μοτίβου. Αυτά τα χαρακτηριστικά αναφέρονται ως μοτίβα υφής και σχέσεις συχνότητας-χώρου.
- 3) Ασυνήθιστα μεγεθυμένες φλέβες συνήθως σχετίζονται με την αύξηση όγκων. Αυτό το χαρακτηριστικό μπορεί να συσχετισθεί ως ένας συνδυασμός ακμών, υφής, χρώματος και συχνото-χωρικής κατανομής.



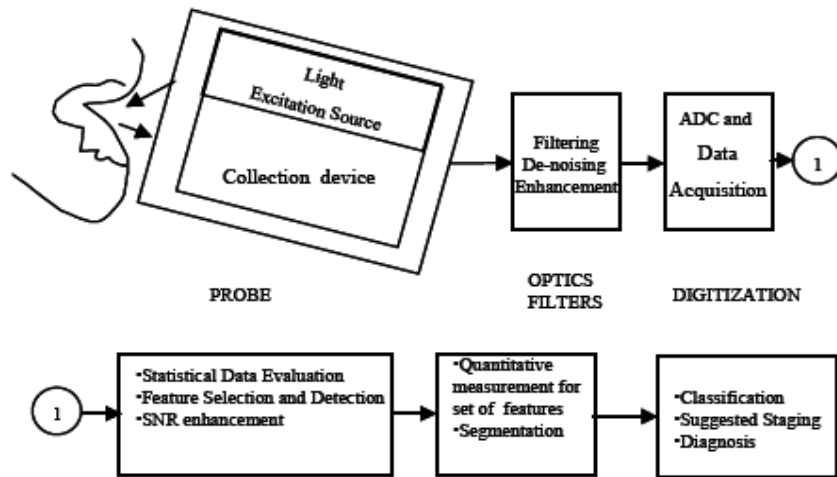
Εικόνα 28: Η εικόνα δείχνει α) ψηφιοποιημένο τραχηλογράφημα με ορατή τη ζώνη μετασχηματισμού (TZ) και το πλακώδες επιθήλιο (SE) του φυσιολογικού τραχήλου, b) το τραχηλικό κανάλι ή άνοιγμα (cervical canal-os, CC) φαίνεται κεντρικά και περιβάλλεται από τη ζώνη μετασχηματισμού (TZ), c) το κιονοειδές επιθήλιο (CE) έχει εξέχουσα χνοώδη δομή

Ένας από τους πιο συνήθεις δείκτες που χρησιμοποιούνται από έμπειρους καλποσκοπούς ως υποκειμενικό χαρακτηριστικό διαχωρισμού είναι γνωστό ως ο δείκτης Reid. Ο δείκτης Reid έχει ένα σύστημα βαρών για χαρακτηριστικά όπως τα όρια των αλλοιώσεων, το χρώμα, η υφή με στόχο να ενισχύσει περισσότερο την αντικειμενικότητα στην κατηγοριοποίηση ή στη διάγνωση των σταδίων των τραχηλικών ανωμαλιών. Ένα από τα πιο σημαντικά ορόσημα του εξωτραχήλου είναι η ζώνη μετασχηματισμού (transformation zone-TZ) όπου και ανιχνεύεται η τραχηλική επιθηλιακή νεοπλασία (CIN) κατά το 90% των περιπτώσεων.

Τα τελευταία είκοσι χρόνια μόνο μερικές ερευνητικές ομάδες εργάστηκαν ώστε να αναπτύξουν ένα αντικειμενικό μοντέλο σχέσης των ανατομικών χαρακτηριστικών με τα εξαγόμενα στοιχεία μιας επεξεργασίας σήματος. Τα παρακάτω χαρακτηριστικά θεωρούνται ως βασικοί παράγοντες για εναλλακτική διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

- 1) Η υφή είναι ένα χρήσιμο χαρακτηριστικό και χρησιμοποιείται για τη διάγνωση CIN2 και CIN3. Η υφή έχει καταγραφεί ως σημαντικό χαρακτηριστικό της επεξεργασίας εικόνας.
- 2) Το μέγεθος (ένταση) των πράσινων και μπλε περιοχών των RGB εικόνων έχουν καταγραφεί ως τα βασικά χρώματα φυσιολογικής κατάστασης.
- 3) Η επεξεργασία σήματος χρησιμοποιώντας τη συναρτησιακή σχέση της έντασης του χρώματος με το χρόνο αντίδρασης στο οξικό οξύ (ως τοπική εφαρμογή στον τράχηλο της μήτρας) είναι σημαντικό χαρακτηριστικό που μπορεί να υπολογισθεί-μετρηθεί μέσω μεθόδων επεξεργασίας σήματος, εικόνας.

Τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ή νίνο ή σε συνεργασία με μεθόδους κυτταρολογίας ή μπορούν να αντικαταστήσουν τις σύγχρονες μεθόδους διάγνωσης.



Εικόνα 29: Τα βασικά μέρη ενός ψηφιακού ηλεκτρο-οπτικού συστήματος για απεικόνιση in vivo του τραχηλικού καρκίνου, απεικονίζοντας τη διαδικασία συλλογής των δεδομένων, προ-επεξεργασία, απόκτησης δεδομένων, μετά-επεξεργασία, συγκέντρωση χαρακτηριστικών και ποσοτική εκτίμηση, ταξινόμηση και υποστήριξη βασισμένη σε υπολογιστή για τη διάγνωση και τα προ-καρκινικά στάδια

### Συγκέντρωση δεδομένων και μέθοδοι επεξεργασίας σήματος για διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας in vivo

Η διαδικασία κατάταξης των αλλοιώσεων βασίζεται σε ηλεκτρο-οπτικά συστήματα (EOS) και μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας ευρυζωνικό (broadband) φως (όπως στην κολποσκόπηση), στενού φάσματος (narrowband) φως (όπως σε συστήματα φασματοσκόπησης) ή με συστήματα που στηρίζονται σε βιοηλεκτρικά φαινόμενα. Η συλλογή των δεδομένων ξεκινά μετά την επίδραση των κυττάρων του τραχήλου με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Αυτό ακολουθείται από προ-επεξεργασία του σήματος και από ψηφιακή ανάκτηση του αναλογικού σήματος μέσω ενός ADC μετατροπέα. Το επόμενο βήμα είναι η ανάλυση σήματος και εικόνας. Η ανάλυση δεδομένων έχει τρία βήματα: το αρχικό περιλαμβάνει αξιολόγηση των δεδομένων εξετάζοντας τη συσχέτιση τους και αποφασίζοντας το βαθμό νεοπλασίας. Το επόμενο βήμα είναι η εκτίμηση των τιμών σε σχέση με τα φυσιολογικά και τα παθογόνα κύτταρα. Αυτά είναι τα χαρακτηριστικά χρώματος και υψής της περιοχής ενδιαφέροντος. Βασικός και τελικός σκοπός είναι ο ακριβής διαχωρισμός της εικόνας του τραχήλου της μήτρας που έχει κλινικό ενδιαφέρον μαζί με μια εκτίμηση της κατάταξης κατά βαθμό SIL (Squamous Intraepithelial Lesion).

Η ψηφιακή φασματοσκόπηση εφαρμόζεται στη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και έχει ως τεχνικές την απορροφητική και τη σκεδαστική φασματοσκόπηση. Η φθορίζουσα φασματοσκόπηση είναι μια τεχνική όπου τα μόρια του ιστού απορροφούν συγκεκριμένα μήκη κύματος φωτός αποδίδοντας φθορίζον φάσμα. Η σκεδαστική φασματοσκόπηση είναι μια τεχνική όπου φωτόνια διαφορετικών μηκών κύματος σκεδάζονται διαφορετικά από τα κύτταρα αποδίδοντας σκεδάζον φάσμα. Είναι γνωστό ότι τα παθογόνα και φυσιολογικά κύτταρα έχουν διαφορετικές ιδιότητες απορρόφησης και σκέδασης, όταν εκτεθούν σε ορατό ή υπέρυθρο φως. Ένα βασικό πλεονέκτημα της ψηφιακής φασματοσκοπίας είναι ότι ένας περιορισμένος αριθμός από συγκεκριμένα ζεύγη διέγερσης-εκπομπής μπορεί να συσχετιστεί με συγκεκριμένα στάδια

της τραχηλικής ασθένειας, συνεπώς η ειδικότητα και η ευαισθησία έχουν ως αποτέλεσμα βελτιστοποιημένη διάκριση.

Ένα από τα πρώτα αξιοσημείωτα αποτελέσματα της εφαρμογής ψηφιακής φασματοσκοπίας είναι το παρακάτω. Σε πειράματα που έγιναν η οπτική φασματοσκοπία ανίχνευσε μόνο τις βιοχημικές αλλαγές των κυττάρων χωρίς να λαμβάνει υπόψιν της τις δύο διαστάσεων χωρικές σχέσεις των δεδομένων. Τα πειράματα χρησιμοποίησαν ένα σύνθετο πολυπαραμετρικό στατιστικό αλγόριθμο (multivariate statistical algorithm-MSA) που αποδεικνύει για πρώτη φορά τη στατιστικά σημαντική διαχωριστικότητα των οπτικών χαρακτηριστικών των SE (squamous epithelial) και CE (columnar epithelial) αλλοιώσεων του πλακώδους επιθηλίου (squamous intraepithelial lesions-SIL). Επίσης αποδεικνύει ότι ένα αυτοματοποιημένος διαχωρισμός των low grade (LG) και high grade (HG) σταδίων νεοπλασίας είναι εφικτός μέσω εξέτασης του τραχήλου της μήτρας με στενού φάσματος φως τριών μηκών κύματος. Τα αποτελέσματα αυτού του διαχωρισμού είχαν παρόμοια αποτελεσματικότητα υπολογισμένα σε ζεύγη ειδικότητας-ευαισθησίας, όταν συγκρίθηκαν με υπολογισμούς οπτικής εντύπωσης από έμπειρους κολποσκόπους. Ο διαχωρισμός ανάμεσα στα μη φυσιολογικά και φυσιολογικά κύτταρα χρησιμοποιώντας MSA είχε 20% βελτίωση στην ειδικότητα αλλά είχε 10% λιγότερη ευαισθησία όταν συγκρίθηκε με την οπτική εντύπωση από έμπειρους κολποσκόπους.

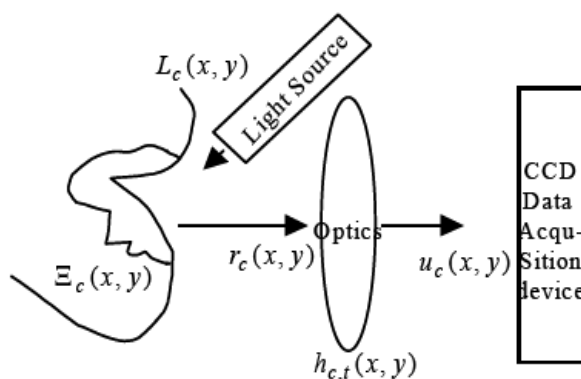
Στη συνέχεια ο K.Tumer et.al παρουσίασε πειράματα με νευρωνικά δίκτυα (neural networks-NN) χρησιμοποιώντας πολυστρωματικούς αισθητήρες (multilayered perceptrons-MLPs) και ένα νευρωνικό δίκτυο με ακτινωτές λειτουργίες βάσης (radial basis functions-RBF) απέδιδε μειωμένη μεταβλητότητα για την κατηγοριοποίηση του και παρουσίαζε βελτιωμένη ευαισθησία όταν συγκρινόταν με τις αυτοματοποιημένες μεθόδους του MSA και MPLs. Σε σύγκριση με το Pap test και την κολποσκόπηση τα RFBs υπερτερούσαν τόσο σε ακρίβεια όσο και σε ευαισθησία. Τα RFB υπερτερούσαν της κολποσκόπησης στην ειδικότητα. Εξίσου οι μέθοδοι – τα MLPs και τα νευρωνικά δίκτυα τύπου RFB – εμφανίζουν κάποια μειονεκτήματα στο σχεδιασμό τους και στις μεθόδους υλοποίησή τους. Ο MLP σχεδιασμός έχει ένα μειονέκτημα που σχετίζεται με του “illposed” πρόβλημα (πρόβλημα σχετικά με τα χαρακτηριστικά του χώρου που διενεργείται η εξέταση και της θέσης-κίνησης του ασθενή) εξαιτίας της ανεξαρτησίας ανάμεσα στα φασματικά τραχηλικά δεδομένα, όταν το πλήρες σύνολο δεδομένων έχει χρησιμοποιηθεί. Ένα επιπρόσθετο μειονέκτημα του RFB αλγορίθμου είναι στο αρχικό βήμα εκπαίδευσης του δικτύου, όταν μια a-priori γνώση θεσπισμένη από ad-hoc τεχνικές, χρησιμοποιείται για να αρχικοποιήσει τα βάρη, χρησιμοποιεί μια μερίδα των βαρών με προκαθορισμένες τιμές από έναν unsupervised αλγόριθμο κατηγοριοποίησης τον K-means.

Η ψηφιακή φασματοσκοπία και η ψηφιακή κολποσκόπηση ξεκινούν να συγχωνεύονται και η ομαλοποίηση μεταξύ των ορίων των δύο μεθόδων παρουσιάστηκε από τον D.Ferris et. al. Αυτή η πειραματική έρευνα χρησιμοποιεί ένα πολυφασματικό χάρτη φθορισμού του τραχήλου της μήτρας και μια συλλογή δεδομένων τόσο ολόκληρου του εξωτράχηλου όσο και παθογενών περιοχών του τραχήλου. Καταγράφονται οι μέσες τιμές και διακυμάνσεις των LG και HG SIL και των φυσιολογικών κυττάρων. Επίσης εφαρμόζεται στατιστική ανάλυση (MSA) για διαχωρισμό των CIN1 και CIN2. Τα φασματοσκοπικά και κυτταρολογικά αποτελέσματα συγκρίνονται με αυτά της βιοψίας και της κολποσκόπησης χρησιμοποιώντας ROC ανάλυση (receiver operating curves) του Pap test. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων που προέρχονται από δεδομένα ολόκληρου του εξωτράχηλου και η ανάλυση από δεδομένα παθογενών περιοχών παρουσιάζονται ανεξάρτητα. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων αυτών υπολογίζονται αντικειμενικά μέσω ROC μεθόδου και έπειτα συγκρίνονται με το Pap test τόσο για CIN1 και CIN2 περιπτώσεις.

Το σύστημα πολυτροπικής υπερφασματικής απεικόνισης (multimodal hyperspectral imaging-MHI) υπερτερούσε τη ROC μέθοδο του Pap test και για τις δύο αναλύσεις. Η επίδοση του MHI για CIN2 παθογενείς περιοχές έφτανε το 100% ευαισθησίας και 95% ειδικότητας.

Στατιστικές μέθοδοι, πολυεπίπεδη επεξεργασία εικόνας και μοντέλα ψηφιακής κολποσκοπησης.

Η πηγή διέγερσης στην ψηφιακή κολποσκοπηση είναι ένα λευκό ευρυζωνικό (broadband) φως μιας λάμπας αλογόνου που ακολουθείται από ένα οπτικό οδηγό (οπτικές ίνες) σε ένα καθετήρα (probe). Η ολική ανάκλιση του τραχηλικού ιστού εντοπίζεται από μια συσκευή ευαίσθητη στο φως όπως ένα CCD και ανακλάται ως εικόνα. Η αντίδραση του ιστού με το φως με διαφορετικούς τύπους ιστών (CE και SE) εκφράζεται ως διαφορετικές ανακλάσεις και εξαρτάται από την κατάσταση των κυττάρων του ιστού. Για παράδειγμα η αντίδραση φωτός-ιστού των CE ως μονοστρωματικών αποδίδει μια φωτεινά κόκκινη εμφάνιση, εξαιτίας της εγγύτητας του υποκείμενου αγγειακού πλέγματος, συγκρινόμενο με τα SE όπου είναι πολυστρωματικά και η εμφάνισή τους είναι ελαφρώς ροδόχρους και πιο ομαλή. Η μορφή της εικόνας του τραχήλου βασίζεται στα χαρακτηριστικά της ανάκλασης του φωτός διέγερσης-εκπομπής του κυττάρου και στον ηλεκτρονικό αισθητήρα ψηφιακής κολποσκοπησης. Το προσπίπτον φως με φασματική πυκνότητα ισχύος  $L_c(x,y)$  φαίνεται ως μια συνάρτηση της χωρικής θέσης με χωρικές συντεταγμένες  $(x,y)$ . Η ανάκλαση του φωτός του εξωτραχήλου  $\Xi_c(x,y)$  σχηματίζεται από το προσπίπτον φως  $c$  και την ανάκλαση των εξωτραχηλικών κυττάρων στην ίδια χωρική θέση. Έπειτα υπολογίζεται η σκηνή ανάκλασης  $r_c(x,y)=\Xi_c(x,y)*L_c(x,y)$  καθώς και η ακτινοβολία  $u_c(x,y)$  της εικόνας που φτάνει στο CCD ή στο φωτοανιχνευτή. Αυτό το τελευταίο μέγεθος περιγράφει το μετασχηματισμό της σκηνής ανάκλασης από τον τράχηλο στην ακτινοβολία εικόνας που φτάνει στη συσκευή συγκέντρωσης δεδομένων. Υπάρχουν αρκετά προβλήματα που δυσκολεύουν την ανάλυση αυτών των ψηφιακών εικόνων. Η εικόνα που βασίζεται σε κοιλότητες είναι ένα από τα προβλήματα αυτά, όπου το κεντρικό μέρος της εικόνας φαίνεται λιγότερο φωτισμένο όταν συγκριθεί με το εντονότερο φωτισμένο των περιοχών SE. Ένα άλλο πρόβλημα είναι η κατοπτρική ανάκλαση λόγω της έντονης ανάκλασης του φωτός από τον τράχηλο.



Εικόνα 30: Ένα μοντέλο φωτισμού για το σχηματισμό της εικόνας του τραχήλου στο ψηφιακό κολποσκόπιο. Η προσπίπτουσα πηγή είναι ευρυζωνικό φως

## Μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για συστήματα βασισμένα σε βιοηλεκτρικά φαινόμενα

Μελέτες για μια τεχνική που στοχεύει στη διαφοροποίηση ανάμεσα στα παθογόνα και τα φυσιολογικά κύτταρα του τραχήλου, εφαρμόζοντας χαμηλής έντασης ηλεκτρικό ρεύμα είχαν παρουσιαστεί από τους Langman και Burr το 1947. Δύο χρόνια αργότερα, αναφέρθηκαν στην πιθανότητα για επιτυχή διαχωρισμό των παθογόνων τραχηλικών κυττάρων από τα φυσιολογικά, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο βιοηλεκτρικών φαινομένων για εξέταση του τραχήλου της μήτρας "in vivo". Η ψηφιακή μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ένα καθετήρα (probe) που βασίζεται στο συνδυασμό του περιγραφέντος φαινομένου. Η μέθοδος polarprobe χρησιμοποιεί εξίσου ηλεκτρικούς (χαμηλής τάσης) εξομοιωτές συνδυασμένους με οπτικό διεγέρτη και οπτικό αποδέκτη. Η ηλεκτρική διέγερση του τραχηλικού ιστού επιτυγχάνεται ταυτόχρονα μέσω ευαίσθητων ηλεκτροδίων φωτός, τοποθετημένα στην επιφάνεια του τραχήλου, περιοχή από την οποία συλλέγεται το δείγμα. Έπειτα εφαρμόζεται χαμηλού επιπέδου τάση (1.25V διάρκειας 260msec). Η απόκριση του ιστού μετριέται και καταγράφεται σε υπολογιστή. Έχει καταγραφεί ότι η απόκριση φυσιολογικού και μη ιστού ήταν διαφορετική λόγω διαφορετικής αντίστασης-αντοχής των φυσιολογικών και μη κυττάρων. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται, καθώς η απόκριση από τον τράχηλο της μήτρας ενός ασθενούς συγκρίνεται με μια σαφώς καθορισμένη προηγούμενη απόκριση κυττάρων υγιούς τραχήλου. Έτσι η εξεταζόμενη περιοχή του τραχήλου μπορεί να κατηγοριοποιηθεί με στατιστική ανάλυση ώστε να αποφασιστεί ο βαθμός αλλοίωσης (αν υπάρχει).

Η οπτική διέγερση χρησιμοποιεί μια περιορισμένου εύρους πηγή φωτός συνταιριασμένο με ένα φωτοδίοδο ανιχνευτή στην άκρη του probe. Ο συνδυασμός των αποκρίσεων των κυττάρων από την ηλεκτρική και οπτική διέγερση λαμβανόμενος από το probe και εφαρμοζόμενος στον ασθενή, οδηγούνται στον υπολογιστή μέσω μιας "έξυπνης" διεπαφής. Τα δεδομένα αναλύονται χρησιμοποιώντας πρώτης και δεύτερης τάξης στατιστική. Η ανάλυση χρησιμοποιεί ένα look-up-table για φυσιολογικές και μη περιπτώσεις που συγκεντρώνονται σε μεγάλες έρευνες για a-priori αναφορά.

## Ανάλυση του φαινομένου acetowhitening σε high grade αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας (2001) [10]

Δυσπλασίες και αλλοιώσεις του τραχηλικού επιθηλίου μπορούν να παρατηρηθούν μετά την εφαρμογή οξικού οξέος κατά τη διάρκεια μιας εξέτασης κολποσκοπησης. Η διαδικασία του ασπρίσματος συντελείται για μερικά λεπτά και διαχωρίζει αντικειμενικά τα δυσπλαστικά και τα φυσιολογικά κύτταρα. Παρακάτω περιγράφεται η διαδικασία του acetowhitening σε τρεις περιπτώσεις: η χρωματική απεικόνιση της κολποσκοπικής εμφάνισης του acetowhitening για high grade νεοπλασίες (CIN2, CIN3), η τεχνική των ανακλαστικών μοτίβων (patterns) τροποποιημένη ώστε να μειώνεται ο θόρυβος του σήματος και μια εξομαλυμένη μέτρηση αυτής της τεχνικής των patterns σε πράσινο και κόκκινο ποσοστό. Ένα σύνολο 6 ασθενών με διαπιστωμένο μέσω βιοψίας CIN2 και CIN3 εξετάστηκαν ώστε να αποδοθεί ένα σύνολο εικόνων χρονικής παρακολούθησης του acetowhitening για 5-10 λεπτά. Περιοχές με φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα εξετάστηκαν επίσης για ένα επιπλέον έλεγχο. Αποφασίστηκε ότι η χρονική αλλαγή για μια περίοδο 10 λεπτών στο ποσοστό των κόκκινων και πράσινων εντάσεων φωτός, λαμβανόμενη από τα αντίστοιχα χρωματικά κανάλια ενός CCD, απέδιδε μια αξιόπιστη μέτρηση για ξεκάθαρο διαχωρισμό CIN2, CIN3 από τα φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα. Αυτή η απεικονιστική μέθοδος μπορεί να εφαρμοσθεί για επιθηλιακό ιστό διαφορετικών βαθμών CIN.

Η κολποσκοπική εξέταση είναι μια σημαντική διαγνωστική μέθοδος, αλλά υποφέρει από τον αντικειμενικό παράγοντα αφού οι τεχνικές για να διαγνωστεί το τραχηλικό επιθήλιο εξαρτώνται από την εμπειρία και ποικίλουν από γιατρό σε γιατρό.

Ο Mitcel et.al (και η ερευνητική του ομάδα) κατέγραψε το sensitivity (ευαισθησία) και το specificity (ειδικότητα) της κολποσκοπικής διάγνωσης για high grade επιθήλια σε 86% και 69% ποσοστά αντίστοιχα βασισμένες σε έρευνα δημοσιευμένων δεδομένων. Η ακρίβεια της κολποσκοπησης είναι μια συνάρτηση της εμπειρίας του γιατρού, δεδομένου ότι η ποικιλομορφία στη διάγνωση από γιατρό σε γιατρό είναι παρούσα. Υπάρχουν αποδείξεις πλέον ότι η κολποσκοπική μέθοδος μπορεί να βελτιωθεί από ημι-αυτόματους αλγόριθμους που θα παρέχουν στους γιατρούς μετρήσεις (σε νούμερα) για το στάδιο των τραχηλικών αλλοιώσεων.

Η δυνατότητα να παρέχουμε περισσότερα αντικειμενικές μετρήσεις για τη διάγνωση του καρκίνου οδήγησε την έρευνα σε εναλλακτικές μεθόδους όπως probes φθορισμού και ανάκλασης, probes κοντά στο υπέρυθρο και αλγόριθμοι επεξεργασίας εικόνας. Παρόλο που υπάρχει κάποια έρευνα για το φαινόμενο του acetowhitening σε high grade αλλοιώσεις είναι περιορισμένη η γνώση για τεχνικές κατηγοριοποίησης. Στην παρακάτω μελέτη, εξετάζεται η διαδικασία του AW υπολογισμένο από ένα πρότυπο ψηφιακό κολποσκόπιο και περιγράφονται οι μέθοδοι ποσοτικοποίησης της κινητικής του AW σε high-grade νεοπλασία του πλακώδους επιθηλίου.

Η χρονική εξέλιξη του φαινομένου του acetowhitening (AW) όπως μετρείται από ανακλών φως μεγιστοποιείται στα πρώτα 1-2 λεπτά και αποσυντίθεται μερικά λεπτά αργότερα. Η ψηφιακή κολποσκοπηση διαθέτει μεμονωμένες ηλεκτρονικές εικόνες του τραχήλου, που έχουν ληφθεί κατά το μέγιστο AW. Ο καθηγητής Μπάλας et.al έχει ολοκληρώσει πιλοτικές έρευνες για την παρακολούθηση του φαινομένου AW που παρουσιάζουν παραδείγματα περιπτώσεων όπου η ανάκλαση του άσπρου φωτός από τα κύτταρα αυξάνεται σύμφωνα με ένα παράγοντα 2 από CIN3 κύτταρα.

Λαμβάνοντας μια σειρά εικόνων κατά την εξέταση έχουμε τη δυνατότητα να αναλύσουμε τις χωρικές και τοπικές αλλαγές μέσω αυτοματοποιημένων αλγορίθμων. Η τεχνολογία για να αποκτηθεί αυτή η σειρά εικόνων είναι απλή, εν τούτοις η επεξεργασία εικόνας για ακριβή ποσοτικοποίηση των αλλαγών μέσα στην εικόνα είναι μια πρόκληση. Επίσης φάνηκε ότι υπάρχει περισσότερη πληροφορία για τα δυσπλαστικά κύτταρα στην περιοχή του μπλε και του πράσινου του ανακλώμενου φάσματος. Αυτό συμβαίνει επειδή η

AW διαδικασία των κυττάρων είναι ένα αποτέλεσμα της ολικής αύξησης της ανάκλασης που πραγματοποιείται σε όλο τα οπτικά μήκη κύματος και μειώνει την μπλε-πράσινη απορρόφηση του αίματος που είναι παρόν μέσα στον ιστό. Σε αυτή τη μελέτη, αυτή η αλλαγή στο ανακλών φάσμα εξετάζεται ως μια συνάρτηση του χρόνου μετά την εφαρμογή του οξικού οξέος, επιτρέποντας μελέτη των φασματο-χρονικών παραμέτρων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ποσοτικοποίηση του σταδίου αλλοίωσης. Είναι πιθανόν ότι κάποιος σταθμισμένος συνδυασμός χωρικών, φασματικών και χρονικών μετρήσεων είναι αναγκαίος για να χαρακτηρίσει πλήρως το στάδιο αλλοίωσης, βασισμένο σε οπτικές μετρήσεις που συνήθως εφαρμόζονται κατά την κολποσκοπική εξέταση. Παρακάτω δίνονται τα δεδομένα για μια σειρά ασθενειών με επιβεβαιωμένα μέσω βιοψίας CIN2/3 και με φυσιολογικό επιθήλιο.

### Εξέταση του ασθενή

Όλοι οι ασθενείς που εξετάστηκαν είναι Pap test που υποδήλωνε τυπικές ή άτυπες αλλοιώσεις αδιευκρίνιστης όμως σημαντικότητας. Οι ασθενείς είχαν διαπιστωμένο με βιοψία CIN2/3, αλλά πέντε από αυτούς τους ασθενείς εξαιρέθηκαν εξαιτίας έλλειψης οπτικοποίησης της παθογενούς περιοχής ή εξαιτίας ελλιπών στοιχείων. Το σύνολο δεδομένων από τους έξι εναπομείναντες ασθενείς με CIN2/3 χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε κολποσκόπηση. Μια χρονική λήψη εικόνων έγινε πριν εφαρμοσθεί οξικό οξύ στον κάθε ασθενή. Ακολουθώντας τα πρότυπα της κολποσκόπησης εφαρμόστηκε 5% διάλυμα οξικού οξέος για 15-30 δευτερόλεπτα. Από κάθε ασθενή λαμβανόταν κάθε 20sec (για μέχρι 10 λεπτά) μια εικόνα της εξέλιξης του AW.

Ο γιατρός σημείωνε ηλεκτρονικά τις θέσεις βιοψίας ακριβώς μετά την εξέταση και τις εμφάνιζε ως εκτυπωμένες χρωματικές εικόνες λίγο αργότερα. Όλες οι βιοψίες έγιναν σύμφωνα με τις πρότυπες κλινικο-παθολογικές διαδικασίες. Περιοχές από κάθε σειρά εικόνων συσχετίζονταν με το "χρυσό" πρότυπο των αποτελεσμάτων ιστολογικής βιοψίας. Αυτό επέτρεπε μια μελλοντική ανάλυση των ιστών της περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) βασισμένη στις θέσεις βιοψίας.

### Σύστημα κολποσκοπικής απεικόνισης

Το κολποσκόπιο ήταν ένα Carl Zeiss σύστημα, που εφοδιάστηκε με ψηφιακές απεικονιστικές ικανότητες, με μια Dage 3CCD color-video κάμερα και ένα πρότυπο οπτικών Zeiss. Ο χρόνος έκθεσης και η ακολουθία των εικόνων καταγράφονταν αυτόματα από κατάλληλο λογισμικό (Solutions TeleComputing, Hanover NH). Το φως προερχόταν από μια πρότυπη λάμπα συνδεδεμένη μέσα στο κολποσκόπιο. Η πηγή φωτός που χρησιμοποιείται στην πρότυπη κολποσκοπική εξέταση είναι μια λάμπα βολφραμίου 150W, αλλά η πηγή φωτός που χρησιμοποιήθηκε για τη λήψη των εικόνων εδώ ήταν μια λάμπα ξένου 300W η οποία παρείχε μεγαλύτερη ένταση ώστε να μειώνει το ανακλώμενο σήμα και ως εκ τούτου να παρέχει υψηλότερο λόγο σήματος προς θόρυβο (signal to noise ratio-SNR). Το απεικονιστικό πρόγραμμα χρειαζόταν περίπου μια εικόνα κάθε 20sec για 10 συνεχόμενα λεπτά και δημιούργησε περίπου 30 εικόνες λευκού φωτός. Οι εικόνες αποθηκεύονταν σε JPEG μορφή από το ίδιο πρόγραμμα. Το τυπικό επίπεδο θορύβου της εικόνας και η χωρική αλλαγή του πεδίου της εικόνας αποφασίζονταν μέσω της χρήσης 10% του κριτηρίου ανάκλασης, το οποίο προσέγγιζε την ανακλαστικότητα του τραχηλικού ιστού.

## Ανάλυση εικόνας

Έπειτα δίνονταν οι εικόνες, που έδειχναν τις θέσεις βιοψίας, σε ένα άλλο εξεταστή που ολοκλήρωνε την ανάλυση δεδομένων. Ένα πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας (MediAnal, Solutions TeleComputing, Hanover, NH) χρησιμοποιήθηκε για να επεξεργαστεί τα δεδομένα κάθε ακολουθίας εικόνων με όμοιο τρόπο. Για κάθε περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) που αντιστοιχούσε με μια περιοχή βιοψίας, 5 μικρότερες περιοχές (5x5 pixels) δειγματοληπτούνταν και λαμβάνονταν ο μέσος όρος τους ώστε να μειωθεί η διακύμανση της χρονικής ακολουθίας των δεδομένων. Ο αλγόριθμος επεξεργασίας MediAnal υπολογίζει τη φωτεινότητα του λευκού φωτός, καθώς και τα κόκκινα, πράσινα και μπλε κανάλια. Επίσης υπολογίζονται οι αποκλίσεις των περιοχών. Η κίνηση του ασθενή, η κίνηση της συσκευής διάγνωσης ή οι διακυμάνσεις της πηγής μπορούν να προκαλέσουν διακυμάνσεις στην ένταση, ώστε να είναι απαραίτητη η ομαλοποίηση των δεδομένων για να συγκριθούν τα διαφορετικά σύνολα εικόνων των ασθενών. Αφού είναι γνωστό ότι η ανάκλαση αλλάζει από τον ιστό είναι κυρίαρχη στην μπλε-πράσινη περιοχή, είναι δυνατόν να ξεχωρίσουν τα χρωματικά κανάλια από τη CCD μέτρηση και να συσχετισθούν ανάλογα αυτά τα κανάλια. Έχει καταγραφεί ότι οι περισσότερες επιθηλιακές δομές που ήταν ενδεικτικές νεοπλασίας ήταν εντονότερες στις μπλε-πράσινες φασματικές περιοχές και ότι η κόκκινη ανάκλαση περιείχε την ελάχιστη δομή. Ανάλυση προηγούμενων δεδομένων έδειξε ότι το μπλε κανάλι μπορούσε να παρέχει ιδανική αντίθεση (contrast) ανάμεσα σε κύτταρα που ασπρίζουν και σε εκείνα που δεν ασπρίζουν, παρόλα αυτά αυτό το θέμα έχει σχέση και με το ποια κανάλια παρέχουν το καλύτερο SNR. Έτσι εξετάστηκε τόσο ο μπλε προς τον κόκκινο λόγο και ο πράσινος προς τον κόκκινο λόγο ως μια μέθοδος αυτοομαλοποίησης των δεδομένων.

## Αποτελέσματα

### Παρασκηνιακός θόρυβος (background noise) και έλεγχος γραμμικότητας

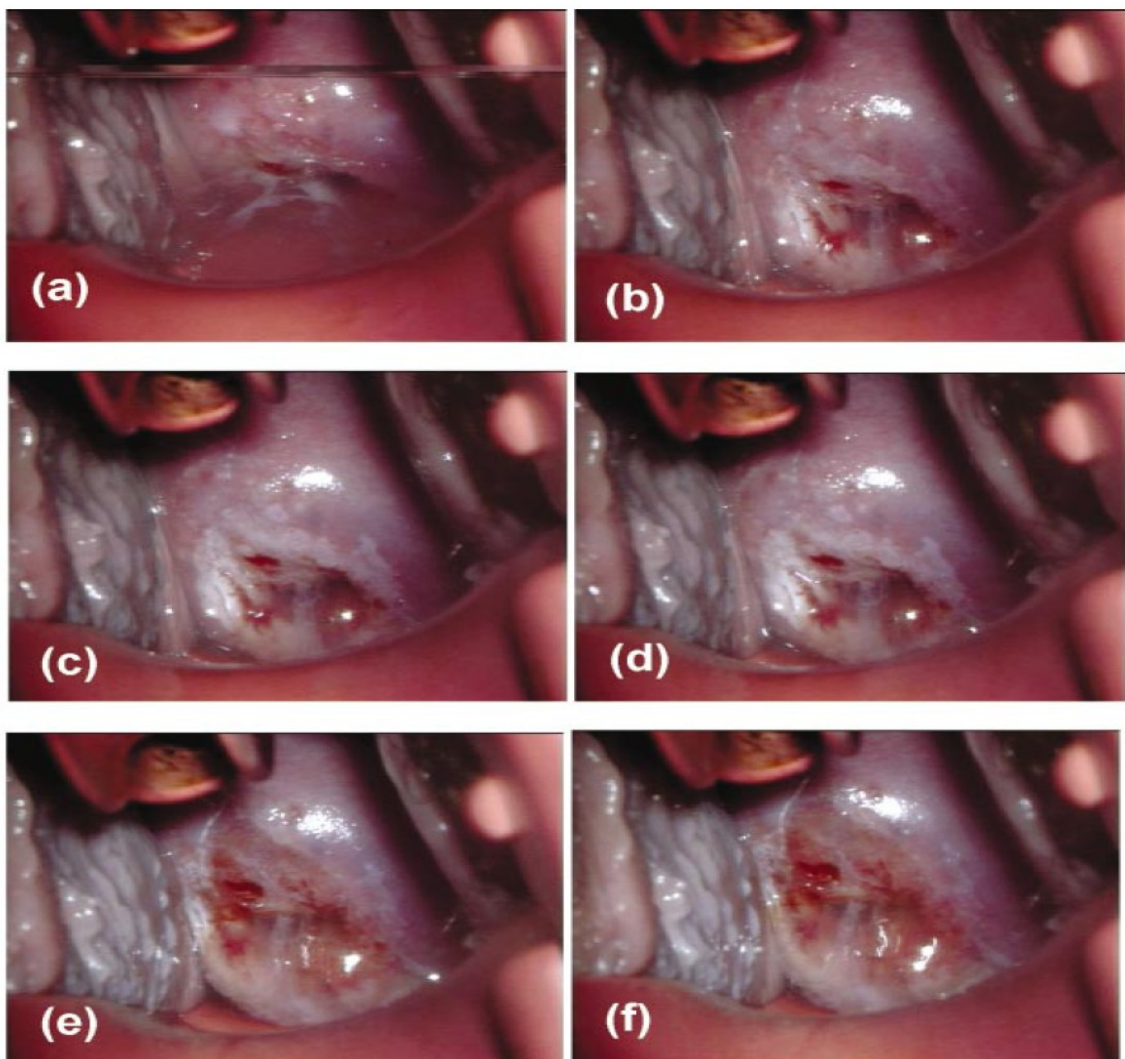
Ο παρασκηνιακός θόρυβος με τα φώτα του δωματίου και την πηγή φωτός απεικόνισης σβησμένα ήταν τυπικά 12-13 βαθμούς και μέγιστη χωρική διακύμανση 4 βαθμούς. Όταν ένας 10% ανακλαστικός στόχος χρησιμοποιείται ως το αντικείμενο δοκιμής, μετρήθηκε ένα σήμα 100 βαθμών. Το σήμα είχε χωρική διακύμανση, όπως όλα τα απεικονιστικά συστήματα αυτού του είδους, με μια μέγιστη μείωση πλάγια της τάξης του 35%, από το κέντρο προς την άκρη, και μια 20% μείωση κάθετα από το κέντρο προς την άκρη.

### Κινήσεις ασθενή-διορθώσεις

Συγκεκριμένα σημεία του ιστού σημειώνονται σε κάθε εικόνα και για τους έξι ασθενείς για να καθοριστεί η επίδραση των κινήσεων των ασθενών. Παρόλο που κατά μέσο όρο η κίνηση ενός ασθενή ήταν λιγότερη από 1mm, οι μέγιστες κατά μέσο όρο αλλαγές στη θέση των παραπάνω σημείων για κάθε ασθενή ήταν 45mm. Σε όλες τις ακολουθίες εικόνων που αναλύθηκαν, οι ROI θέσεις επικυρώθηκαν ώστε να είναι στο ίδιο σημείο χρησιμοποιώντας μια ημι-αυτόματη διαδικασία βασισμένη σε λογισμικό.

### Δεδομένα ασθενών

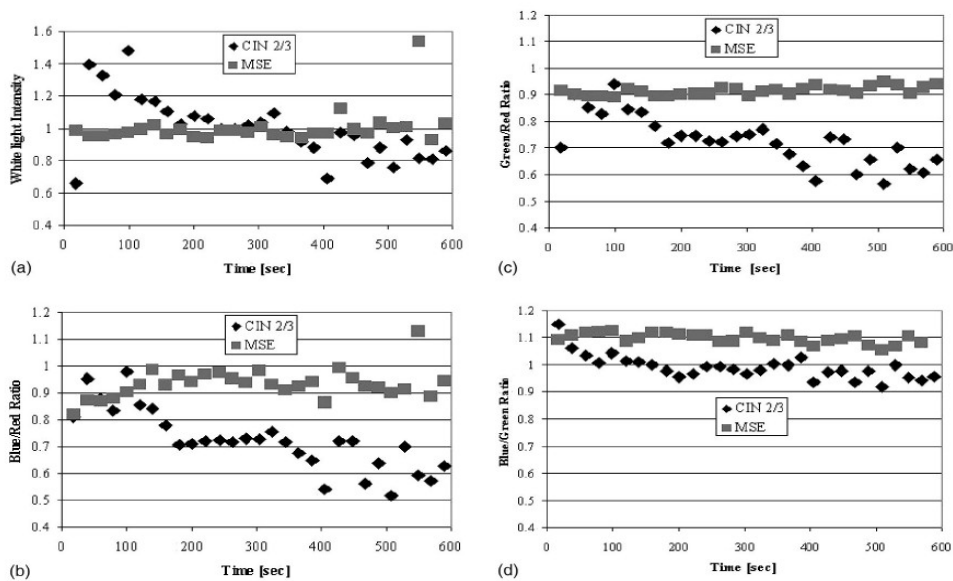
Σε αυτή την έρευνα συμπεριλήφθηκαν τα δεδομένα από ασθενείς με διαπιστωμένο από βιοψία CIN2/3. Σε αυτές τις περιπτώσεις η περισσότερη από τη ζώνη μετασχηματισμού γύρω από τον τράχηλο περιέχει CIN2/3. Αμέσως μετά την εφαρμογή οξικού οξέος το μισό πιο χαμηλό τμήμα της εικόνας του τραχήλου θολώνει. Μετά από 20 δευτερόλεπτα η πλακώδης επιθηλιακή αλλοίωση ασπρίζει σημαντικά και διατηρεί αυτό το άσπρισμα της. Τελικά σημειώνεται αποσύνθεση του AW, που πραγματοποιείται για αρκετά λεπτά περίπου 10. Τα δεδομένα υπολογίστηκαν από έξι γυναίκες, με δύο τύπους επιθηλίου CIN2/3 και φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο. Για κάθε τύπο ιστού τα δεδομένα ομαλοποιήθηκαν ώστε να έχουν κατά μέσο όρο τομή 1.0. Η ένταση της περιοχής CIN2/3 διπλασιάζεται κατά το πρώτο λεπτό μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Αντίθετα, η περιοχή του φυσιολογικού πλακώδους επιθηλίου αυξάνεται το μέγιστο κατά 5% καθ'όλη τη χρονική διάρκεια των 10 λεπτών.



Εικόνα 31: Χρονική ακολουθία εικόνων από τράχηλο με διαπιστωμένο μέσω βιοψίας CIN2/3 στην αριστερή, πλευρική περιοχή από το τραχηλικό άνοιγμα, σημειωμένο με ένα βέλος στη δεύτερη εικόνα. Οι εικόνες λήφθηκαν (a) αμέσως μετά την εφαρμογή οξικού οξέος, (b) 20sec αργότερα, (c) 60sec αργότερα, (d) 80sec αργότερα, (e) 6min αργότερα και (f) 9.5min αργότερα

## Normalization vs Ratio Data

Εξετάστηκε τόσο ο λόγος του μπλε προς το κόκκινο, του πράσινου προς το κόκκινο και του πράσινου προς το μπλε ως μια μέθοδος αυτο-ομαλοποίησης των δεδομένων σε ένα μεμονωμένο χρονικό ρεύμα δεδομένων και αφαιρέθηκαν οι μετατοπίσεις έντασης που μπορεί να είναι περισσότερο εξαρτημένες από το φως παρά από τα εγγενή χαρακτηριστικά του ιστού. Τα δεδομένα από έξι ασθενείς με CIN2/3 και έξι με φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα σχεδιάζονται σύμφωνα με το λόγο πράσινου προς κόκκινο και τα ίχνη ομαλοποιούνται ώστε η μέγιστη τιμή να είναι ενότητα για κάθε χρονικό σύνολο δεδομένων. Τα δεδομένα επεξεργάζονται περαιτέρω για να υπολογιστεί κατά μέσο όρο η ένταση κάθε 100sec, το οποίο παρέχει ένα χρονικά μέσο όρο ομαλοποίησης των δεδομένων και μειώνει οποιαδήποτε υψηλή συχνότητα ταλαντώσεων που μπορεί να οφείλεται σε κίνηση του ασθενή. Χρησιμοποιώντας το παραπάνω σύνολο δεδομένων, οι καμπύλες των CIN2/3 ιστών και φυσιολογικών επιθηλίων διαφέρουν σημαντικά σε μορφή.



Εικόνα 32: Η ένταση ανάκλασης ως συνάρτηση του χρόνου μετά την εφαρμογή οξικού οξέος σχεδιάζεται από μια περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) σε έναν ασθενή. Οι περιοχές ενδιαφέροντος (ROIs) είναι διαπιστωμένες μέσω βιοψίας τραχηλικές ενδοεπιθηλιακές νεοπλασίες CIN2/3 και φυσιολογική περιοχή ώριμου πλακώδους επιθηλίου. Οι τιμές των δεδομένων είναι κανονικοποιημένες ως προς τη μέση ένταση όλων των χρονικών ακολουθιών. Στην εικόνα (b) το ποσοστό της μπλε προς κόκκινης έντασης παρουσιάζεται για τα ίδια δεδομένα, στην εικόνα (c) παρουσιάζεται το ποσοστό της πράσινης προς την κόκκινη ένταση και στην εικόνα (d) παρουσιάζεται το ποσοστό της μπλε προς πράσινης έντασης

## Data reduction

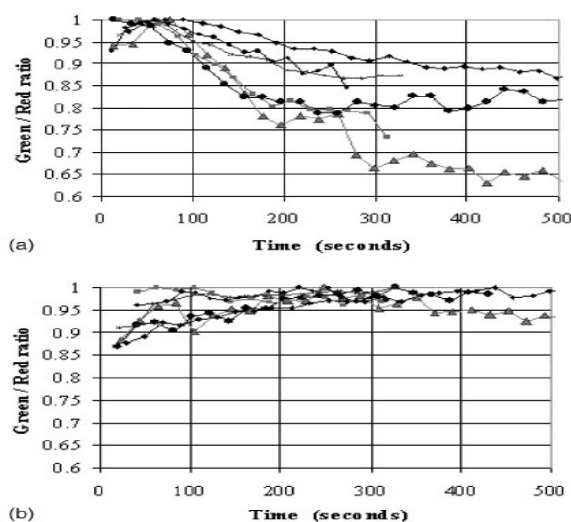
Προκειμένου να αποδοθεί ένα μοναδικό νούμερο για κάθε χρονική ακολουθία εικόνων του κάθε ασθενή, εξετάστηκε η κλίση της ανακλώμενης έντασης συναρτήσει του χρόνου εξέτασης. Οι CIN2, CIN3 περιοχές χαρακτηρίζονται από γρήγορο ρυθμό αύξησης της έντασης τα πρώτα 60sec και απότομης μείωσης μετά. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα αρχικά δεδομένα πριν και αμέσως μετά την εφαρμογή οξικού οξέος δεν μπορούσαν να συλλεχθούν εξαιτίας πρακτικών προβλημάτων όπου ο εξεταστής γιατρός εμπόδιζε την κάμερα να λάβει εικόνα του τραχήλου της μήτρας. Ωστόσο τα δεδομένα ανάκλασης 20 δευτερόλεπτα μετά την εφαρμογή οξικού οξέος λαμβάνονταν εύκολα και ήταν ευδιάκριτη η διαφορετική συμπεριφορά του φυσιολογικού ιστού.

Αντίθετα από τις CIN περιοχές, το φυσιολογικό επιθήλιο έδειξε μέτρια αύξηση σε όλη τη διάρκεια των 300sec. Για να συγκρίνουμε ποσοτικά αυτές τις παρατηρήσεις, υπολογίστηκαν οι κλίσεις της έντασης με το χρόνο για κάθε ακολουθία εικόνων. Η χρονική ακολουθία διχοτομείται πριν και μετά 200 δευτερόλεπτα.

Μια άλλη μέθοδος για να διαχωρίσουμε τις δύο ομάδες κυττάρων είναι να συγκρίνουμε τις χρονικά μέσες εντάσεις. Αυτή η μέθοδος κατηγοριοποιεί τα δεδομένα ακόμα καλύτερα από ότι η μέθοδος κλίσης. Το ποσοστό των χρονικά μεγάλης διάρκειας δεδομένων (200-300 sec) σε σχέση με τα χρονικά μικρής διάρκειας δεδομένα (100sec) υπολογίζεται και προσφέρει μια στατιστικά σημαντική μέθοδο διαχωρισμού των δεδομένων ανεξάρτητη από οποιαδήποτε ομαλοποίηση δεδομένων. Σε αυτό το σύνολο δεδομένων οι φυσιολογικές επιθηλιακές περιοχές έχουν ένα μέσο λόγο 1.04 και οι CIN2/3 περιοχές έχουν μια τιμή 0.85.

## Γενικά

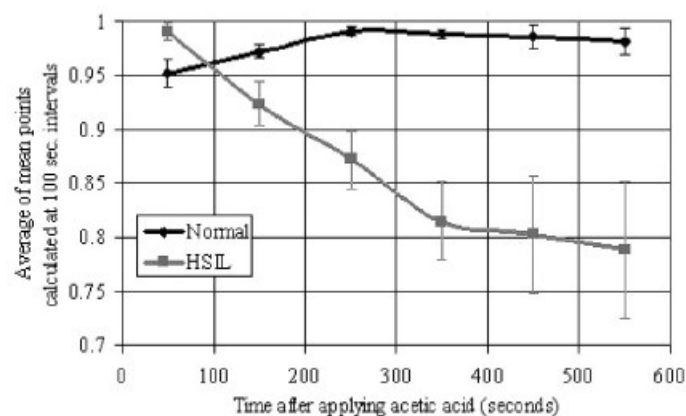
Ο βασικός στόχος της παραπάνω έρευνας ήταν να συγκεντρώσει δεδομένα για την ένταση της ανάκλασης για 10 λεπτά από ασθενείς με διαπιστωμένο μέσω βιοψίας CIN2/3. Υπάρχει μια 10%-50% αλλαγή στις μέσες (median) τιμές της ομαλοποιημένης έντασης μετά την εφαρμογή οξικού οξέος όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



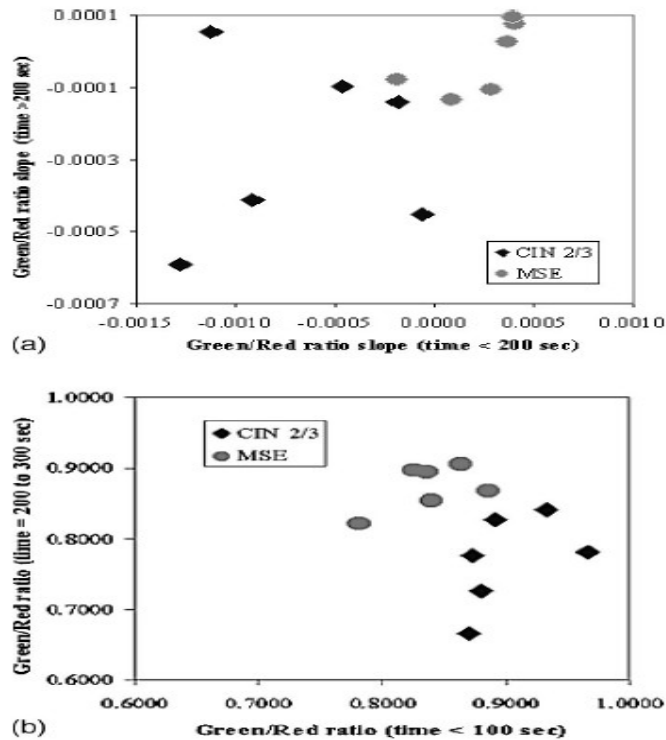
Εικόνα 33: Κυματομορφές του κανονικοποιημένου ποσοστού πράσινης προς κόκκινης έντασης ως συνάρτηση του χρόνου μετά την εφαρμογή οξικού οξέος, για (a) έξι περιπτώσεις CIN2/3 και (b) για έξι περιπτώσεις ώριμου πλακώδους επιθηλίου

Οι οπτικές αλλαγές εξαιτίας AW εξαφανίζονται γρήγορα από CIN2/3 κύτταρα ενώ η μείωση στις τιμές ανάκλασης από φυσιολογικά κύτταρα διαρκεί 10 λεπτά. Οι διακυμάνσεις ανάμεσα σε ασθενείς με CIN2/3 ως προς την ένταση του AW είναι σημαντική ακόμη και όσο αφορά μια μεμονωμένη αλλοίωση. Η αρχική αύξηση ασπρίσματος σε CIN2/3 κύτταρα είναι γρήγορη, και τεχνικές δυσκολίες ως προς την εφαρμογή οξικού οξέος στον τράχηλο της μήτρας εμποδίζουν μια ακριβή μέτρηση αυτής της αρχικής αύξησης της ανάκλασης. Για παράδειγμα, δεδομένα των αρχικών 10-20 δευτερολέπτων δεν καταγράφονται λόγω της παρουσίας οξικού οξέος που θολώνει τις εικόνες. Πρόχειρες εκτιμήσεις δείχνουν ότι η αύξηση είναι κάπου μεταξύ 20%-80% της αρχικής έντασης ανάκλασης αλλά μετρήσεις κατά αυτή την περίοδο είναι δύσκολο να επιτευχθούν. Αντίθετα το φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο φαίνεται να αυξάνει την ανάκλαση 5% κατά μέσο όρο με ένα σφάλμα περίπου 5% και τη διατηρεί αυτή την ένταση για όλη τη διάρκεια των 10 λεπτών.

Ομαλοποίηση των δεδομένων με τη μέση τιμή μπορεί να παρέχει μια πρώτη προσπάθεια αφαίρεσης της διακύμανσης που παρουσιάζει η ένταση. Ο λόγος της πράσινης προς την κόκκινη ένταση φωτός αποτελεί την καλύτερη εξισορρόπηση ανάμεσα στο σήμα, το θόρυβο και την αντίθεση (contrast). Ομαλοποιώντας το πράσινο προς το κόκκινο φως διατηρείται το ανακλών σήμα, αποδεικνύοντας ότι παρουσιάζει φασματική αλλαγή. Ενώ συγκρίνοντας τις αρχικές με τις τελικές κλίσεις προκύπτει μια καλή μέθοδος κατηγοριοποίησης των κυττάρων. Προτείνεται ότι λαμβάνοντας το λόγο των σύντομων προς των διαρκέστερων χρονικών περιόδων για το λόγο του πράσινου προς το κόκκινο σήμα προκύπτει ένας ακριβής τρόπος διαχωρισμού διαφορετικών τύπων κυττάρων. Σημειώνουμε ότι η αλλαγή στην ανάκλαση είναι αποτέλεσμα αλλαγής της διάθλασης μέσα στα κύτταρα. Είναι γνωστό ότι αυτή η αλλαγή στα κύτταρα μπορεί να ερμηνευθεί χρησιμοποιώντας ολόκληρο το φάσμα του λευκού φωτός και προσαρμόζοντας το φάσμα σύμφωνα με τη θεωρία σκέδασης Mie. Τελικά, ένας αλγόριθμος κατηγοριοποίησης χρειάζεται να χρησιμοποιήσει όλες τις συναφείς μετρήσεις που οι κολποσκοπικοί χρησιμοποιούν στην ανάλυση τους, συμπεριλαμβανομένων μορφολογικών χαρακτηριστικών συναρτήσεων του χρόνου. Υπάρχει σχετική έρευνα, όπου ο αριθμός Euler αποτελούσε μια καλή μετρική για κατηγοριοποίηση CIN2/3 κυττάρων και είναι πιθανό ότι εξετάζοντας αυτή τη μέτρηση σε χρονική ακολουθία βελτιώνεται η κατηγοριοποίηση. Συνδυασμός αλγόριθμων μορφολογικής διάγνωσης με αλγόριθμους με αλγόριθμους χρονικών αλλαγών είναι χρήσιμος ώστε να παρέχονται μετρήσεις από όσο περισσότερες κολποσκοπικές παραμέτρους είναι δυνατόν.



Εικόνα 34: Το ποσοστό της πράσινης προς την κόκκινη ανάκλαση φωτός φαίνεται χρησιμοποιώντας όλα τα δεδομένα από τους ασθενείς στην προηγούμενη εικόνα υπολογισμένα από κοινού κατά μέσο όρο. Όπου τα σημεία είναι υπολογισμένα κατά μέσο όρο για χρονικό διάστημα 100sec ώστε να παρέχεται η γενική τάση με μια ομαλοποίηση (smoothing) των δεδομένων. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν το πρότυπο σφάλμα ανάμεσα στους ασθενείς για αυτά τα υπολογισμένα κατά μέσο όρο των σημείων δεδομένων



Εικόνα 35: Δύο μέθοδοι για διαχωρισμό των δεδομένων παρουσιάζονται: (a) απεικόνιση των υπολογισμένων κλίσεων του σήματος ως προς το χρόνο χρησιμοποιώντας το ποσοστό των πράσινων προς των κόκκινων εντάσεων διαχωρισμένων στις πρώιμες χρονικές στιγμές (x άξονας) και τις ύστερες χρονικές στιγμές (άξονας y). Το δεύτερο γράφημα (b) χρησιμοποιεί τις μέσες τιμές έντασης για τις πρώιμες χρονικές στιγμές (x άξονας) και τις ύστερες χρονικές στιγμές (άξονας y). Κάθε σημείο σε αυτά τα γραφήματα αντιπροσωπεύει μια περιοχή ενδιαφέροντος ενός ασθενή επεξεργασμένο σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης

### Automated image analysis

Ανάλυση εικόνας ανάκλασης λευκού φωτός χρησιμοποιώντας το χαρακτηριστικό AW.

Αυτοματοποιημένη ανάλυση εικόνας ψηφιακού κολποσκοπίου για τη διάγνωση-ανίχνευση νεοπλασιών του τραχήλου της μήτρας. [11]

Η οπτικοποίηση των νεοπλασιών του τραχήλου της μήτρας χρησιμοποιώντας Pap test, κολποσκόπηση και βιοψία έχει μειώσει σημαντικά την εκδήλωση και εξάπλωση του καρκίνου. Αυτό επειδή οι (προ)-καρκινικές νεοπλασίες CIN μπορεί να χρειαστούν 3 με 20 χρόνια ώσπου να αναπτυχθούν ως καρκινικές. Παρόλα αυτά εξαιτίας του ελλιπούς εξοπλισμού και έρευνας 238.000 γυναίκες πεθαίνουν κάθε χρόνο από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Το 80% των θανάτων σημειώνεται στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η χρήση απευθείας οπτικής διάγνωσης (DVI: Direct Visual Inspection) με οξικό οξύ ή ιώδιο του Lugol είναι εναλλακτικές τεχνικές. Πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα αυτών των τεχνικών είναι εξαιρετική. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει το αποτέλεσμα έρευνας του Sankaranarayanan et. al που συγκρίνει αυτές τις μεθόδους εξέτασης του HPV και της κλασσικής κυτταρολογίας.

Μέθοδος	Αριθμός ερευνών	Αριθμός ασθενών	Ποσοστό ασθενών με HG ή υψηλότερο	Ευαισθησία Sensitivity	Εύρος ευαισθησίας	Ειδικότητα Specificity	Εύρος ειδικότητας
VIA	11	54.981	16	0.77	0.56-0.94	0.86	0.74-0.94

VIAM	3	16.900	14	0.64	0.61-0.71	0.87	0.83-0.90
VILI	10	49.080	16	0.92	0.76-0.97	0.85	0.73-0.91
Cytology	5	22.663	6	0.58	0.29-0.77	0.95	0.89-0.99
HPV HC II	4	18.085	7	0.67	0.46-0.81	0.94	0.92-0.95

Πίνακας 3: Σύγκριση μεθόδων εξέτασης του HPV και της κλασσικής κυτταρολογίας

VIA: οπτική παρατήρηση με οξικό οξύ

VIAM: οπτική παρατήρηση με οξικό οξύ και μεγέθυνση

VILI: οπτική παρατήρηση με ιώδιο του Lugol

HPV HC II: Human papillomavirus υβριδικό capture II test

Επειδή η DVI στηρίζεται σε οπτική ερμηνεία είναι βασικό να οριστούν αντικειμενικά κριτήρια της θετικής ταυτοποίησης ιστού. Ο Denny παρατήρησε ότι περιορίζοντας την ερμηνεία ενός θετικού τεστ σε μια πλήρως ορισμένη AW αλλοίωση βελτιώνεται σημαντικά η ειδικότητα, ενώ μειώνεται η ευαισθησία. Σε μια σειρά από 1921 γυναίκες που εξετάστηκαν στο Περού, ο Jeronimo βρήκε ότι η DVI ρυθμός θετικότητας μειώθηκε από 13.5% στους πρώτους μήνες σε 4% κατά τη διάρκεια μεταγενέστερων μηνών μια έρευνας δύο χρόνων. Η μείωση στο ρυθμός θετικότητας θεωρήθηκε ότι ήταν εξαιτίας μιας καμπύλης μάθησης για τον αξιολογητή. Ο Bomfim-Hyrrpolito ανακάλυψε τη χρήση της τραχηλογραφίας (cervicography). Μια απλή, ψηφιακή SONY κάμερα χρησιμοποιείται για να φωτογραφήσει τον τράχηλο της μήτρας πριν και μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Οι φωτογραφίες μετά ερμηνεύονται από ειδικό γιατρό (coloscopist). Η τραχηλογραφία βελτίωσε και την ευαισθησία και την ειδικότητα της τεχνικής.

Παρόλα αυτά η προσέγγιση εμποδίζει την υλοποίηση στρατηγικών εξέτασης-θεραπείας σε περιπτώσεις χαμηλών πόρων λόγω της αναγκαιότητας εμπειρογνομώνων.

Πρόσφατα αρκετές έρευνες έχουν δείξει ότι η οπτική φασματοσκοπία έχει ως στόχο να βελτιώσει την οπτική διάγνωση των νεοπλασιών.

Ο Ferris et.al μελέτησε την πολυτροπική υπερφασματική απεικόνιση για τη μη επεμβατική διάγνωση νεοπλασιών. Κατέγραψε 97% ευαισθησία και 70% ειδικότητα.

Ο Huh et.al υπολόγισε την οπτική ανίχνευση HGSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion) χρησιμοποιώντας φθορίζουσα και ανακλώμενη φασματοσκοπία και κατέγραψε 90% ευαισθησία και 70% ειδικότητα.

Ο Craine et.al εισήγαγε ένα ψηφιακό σύστημα κολποσκοπησης για αρχειοθέτηση εικόνων και οπτική εξαγωγή των χαρακτηριστικών τους. Οι Shafi και Cristoforoni χρησιμοποίησαν ένα ψηφιακό απεικονιστικό σύστημα κολποσκοπησης που επιτρέπει λήψη και απλή επεξεργασία εικόνων. Για εκτίμηση των διάφορων κολποσκοπικών χαρακτηριστικών, οι εικόνες αναλύοντας από ειδικούς. Εξετάζοντας τη σχέση ανάμεσα στα κολποσκοπικά χαρακτηριστικά και τα ιστολογικά ευρήματα η έρευνα του Shafi παρείχε πληροφορίες για το ποια χαρακτηριστικά είναι πιο χρήσιμα προς παρατήρηση.

Ο Li et.al ανέπτυξε ένα υπολογιστικά επιβοηθούμενο διαγνωστικό σύστημα χρησιμοποιώντας κολποσκοπικά χαρακτηριστικά όπως AW αλλαγές, ιστολογικές αλλοιώσεις και παρατηρήσεις της δομής των αιμοφόρων αγγείων. Τότε χρησιμοποιήθηκαν αλγόριθμοι επεξεργασίας εικόνας για την ανίχνευση αυτών των χαρακτηριστικών που έδειξαν πολύ υποσχόμενα αποτελέσματα.

Πλέον υπάρχουν υψηλού εύρους CCD κάμερες με χαμηλή ευαισθησία στο φως. Επίσης υπάρχει τεχνολογία οπτικών ολοκληρωμένα κυκλώματα (optic chips) που

επιτρέπουν υψηλής ποιότητας επεξεργασία εικόνας σε πραγματικό χρόνο (real time). Αυτή η πρόοδος μπορεί να καταστήσει δυνατή τη συλλογή διαγνωστικά χρήσιμων ψηφιακών εικόνων του τραχήλου της μήτρας με ή χωρίς μεγέθυνση. Οι προκλήσεις είναι πολλές:

- 1) Αρκετές μελέτες έχουν ερευνήσει μόνο μερικά χαρακτηριστικά και δεν έχουν επωφεληθεί από μεθόδους ανάλυσης εικόνας ή από υπολογιστικά αυτοματοποιημένες τεχνικές.
- 2) Αρκετές μελέτες συγκρίνουν τα χαρακτηριστικά των εικόνων με επιλεγμένες παθολογικές ή φυσιολογικές περιοχές του τραχήλου, αλλά δεν έχουν εφαρμόσει την προσέγγιση μιας ολόκληρης εικόνας που αναγνωρίζει εφόσον υπάρχουν αλλοιώσεις.
- 3) Αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει βιοψίες από επιλεγμένες περιοχές ως κριτήριο. Το κριτήριο αυτό χρειάζεται για να οριστεί τοπικά η αλλοίωση. Παρακάτω εξετάζεται η προσέγγιση αυτοματοποιημένης ανάλυσης εικόνας από λευκού φωτός εικόνες κολποσκοπησης.

### Όργανα

Ένα πολυφασματικό ψηφιακό κολποσκόπιο (MDC) αναπτύχθηκε ώστε να ανακτά τις εικόνες ανάκλασης ολόκληρου του τραχήλου με λευκή φωτεινότητα. Το MDC αποτελείται από ένα εμπορικά διαθέσιμο, tilt-stand κολποσκόπιο (Model 1DL) με μια CCD βιντεοκάμερα χρώματος και ένα δέκτη καρτέ (frame receiver) για απόκτηση των εικόνων. Το κολποσκόπιο παράγει στερεοσκοπική όψη με 7.5x μεγέθυνση. Οι ανακλώμενες εικόνες λαμβάνονται χρησιμοποιώντας πάλι μια CCD κάμερα (CV S3200 Rev B, JAI, Japan). Στην ουσία χρησιμοποιούνται δύο CCD κάμερες.

### Κλινική έρευνα

Οι ασθενείς ήταν τουλάχιστον 18 χρονών, που δεν ήταν έγκυες και οδηγήθηκαν για κολποσκοπική εξέταση εξαιτίας μη φυσιολογικών Pap test. Μόνο ασθενείς με high grade αλλοιώσεις εξετάστηκαν. Ακολουθώντας την κολποσκοπική εξέταση συλλέχθηκαν εικόνες ανάκλασης λευκού φωτός για κάθε ασθενή, με χρήση MDC. Ακολούθησε ένα δεύτερο σύνολο εικόνων ανάκλασης μετά από εφαρμογή 6% διαλύματος οξικού οξέος για 2 λεπτά. Το οξικό οξύ τονίζει τις διαφορές ανάμεσα στα φυσιολογικά και μη κύτταρα. Οι ασθενείς μετά υποβλήθηκαν σε εξέταση LEEP. Η ιστοπαθολογία των ευρημάτων σημειωνόταν και κοβόταν από τον κλινικό γιατρό. Κάθε εξωμήτριο κοβόταν σε 12 κομμάτια. Οι εξεταστές παρατηρούσαν τις περιοχές αιματοξυλίνης και ηωσίνης σημειώνοντας CIN περιοχές. Οι ιστοπαθολογικές περιοχές σαρώνονταν και οι εικόνες μεγεθύνονταν κατά 15%. Οι εικόνες μετά επαναδομούνταν σε έναν τριών διαστάσεων χάρτη χρησιμοποιώντας 3D Image Visualization λογισμικό (Able Software, Lexington, MA). Οι χάρτες παθολογίας επιθεωρούνταν από τους κλινικούς γιατρούς και συγκρίνονταν με τις MDC εικόνες ανάκλασης λευκού φωτός.

### Επεξεργασία δεδομένων

Η προ-επεξεργασία εικόνων είχε ως στόχο την αφαίρεση του impulse θορύβου, της κατοπτρικής ανάκλασης και των περιοχών που είχαν ασάφειες λόγω της ύπαρξης αίματος στην επιφάνεια των κυττάρων. Για το θόρυβο εφαρμόστηκε median φιλτράρισμα και για την κατοπτρική ανάκλαση αφαιρέθηκαν με χρήση του κατωφλίου (>220) pixels με

εξαιρετικά υψηλές εντάσεις. Οι περιοχές με ασάφειες λόγω αίματος ταυτοποιήθηκαν, μέσω σύγκρισης καναλιού κόκκινης έντασης όλης της περιοχής του ιστού και αφαιρέθηκαν. Με στόχο να καταγράψουμε σωστά εικόνες πριν και μετά την εφαρμογή οξικού οξέος αναπτύχθηκε αυτοματοποιημένος αλγόριθμος καταγραφής όπου η θέση του τραχήλου χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς. Έπειτα η ανάλυση χωρίζεται σε δύο βασικά βήματα:

- 1) Κατηγοριοποίηση κυτταρικών περιοχών με παρόμοιες οπτικές ιδιότητες μαζί
- 2) Χρήση αλγορίθμων κατηγοριοποίησης (classification algorithms) για να αποφασιστεί αν αυτές οι περιοχές περιέχουν νεοπλαστικά κύτταρα

### Κατηγοριοποίηση των εντοπισμένων περιοχών της εικόνας

Για να αναγνωρίσουμε τις οπτικές παραμέτρους που μας είναι πιο χρήσιμες επεκτείνουμε το σύστημα RGB. Αυτό το σύστημα αποτελείται πέντε κατηγορίες χαρακτηριστικών:

- 1) χωρίς επεξεργασία RGB τιμές έντασης
- 2) αναλογίες μεμονωμένων RGB τιμών έντασης
- 3) διαφορές στις μεμονωμένες RGB τιμές έντασης
- 4) διαφορές στις αναλογίες των RGB εντάσεων
- 5) αλλαγές στην grayscale ένταση μετά την εφαρμογή οξικού οξέος

Για κάθε μία από τις πριν και μετά εφαρμογής οξικού οξέος εικόνες υπολογίζονται τα ποσοστά όλων των πιθανών ζευγών χαρακτηριστικών. Επίσης υπολογίζονται οι διαφορές στις RGB τιμές έντασης, τις αναλογίες και τις grayscale τιμές μετά την εφαρμογή οξικού οξέος.

Τα χαρακτηριστικά για κατηγοριοποίηση επιλέγονται χρησιμοποιώντας την αρχή της από κοινού μεγιστοποίησης της εντροπίας. Έτσι χαρακτηριστικά με περισσότερη πληροφορία θα οδηγούσαν σε καλύτερα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης. Αφού η από κοινού εντροπία αντιπροσωπεύει την ολική πληροφορία από ένα σύνολο χαρακτηριστικών, μεγιστοποιώντας την θα επιλεγόταν και ένα σύνολο χρήσιμων για την κατηγοριοποίηση χαρακτηριστικών.

Χρησιμοποιώντας την παραπάνω μέθοδο, πέντε χαρακτηριστικά θεωρούνται ως βασικά για κατηγοριοποίηση: οι τιμές έντασης των κόκκινων, πράσινων και μπλε καναλιών, ο λόγος της έντασης του πράσινου καναλιού προς του κόκκινου καναλιού και οι αλλαγές στις grayscale τιμές έντασης.

Δεδομένων αυτών των πέντε χαρακτηριστικών σχεδιάζουμε ένα κατηγοριοποιητή συνόλου που περιλαμβάνει έναν αριθμό από διαφορετικούς κατηγοριοποιητές και η τελική κατηγοριοποίηση βασίζεται στους περισσότερους “προφητικούς” ξεχωριστούς κατηγοριοποιητές. Οι τέσσερις κατηγοριοποιητές που συμπεριλαμβάνονται είναι:

- 1) ένας γραμμικός κατηγοριοποιητής ευκλείδειας απόστασης
- 2) ένας γραμμικός κατηγοριοποιητής Mahalanobis απόστασης
- 3) ένας KNN (K nearest neighbor) κατηγοριοποιητής με 6 γείτονες
- 4) μια SVM (support vector machine) με γραμμικό πυρήνα

Η μέθοδος επικύρωσης (validation method) είναι να εκπαιδευτούν οι κατηγοριοποιητές ώστε να χρησιμοποιούν την τεχνική leave-one-patient-out cross-validation. Σε αυτή τη μέθοδο ο αλγόριθμος εκπαιδεύεται σε όλα τα δεδομένα αποκλείοντας έναν ασθενή και μετά εφαρμόζεται στον ασθενή που αποκλείστηκε. Αυτή η διαδικασία γίνεται για όλους τους ασθενείς. Για κάθε ασθενή οι περιοχές της εικόνας ταυτοποιούνται αντιστοιχίζοντας στις ιστοπαθολογικά αποδεδειγμένες περιοχές φυσιολογικού επιθηλίου, LGSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion) αλλοιώσεις και HGSIL αλλοιώσεις. Επειδή οι περιοχές HGSIL θεραπεύονται και οι LGSIL ακολουθούν, οι HGSIL περιοχές θεωρούνται μη φυσιολογικές, ενώ οι φυσιολογικές περιοχές και οι LGSIL περιοχές θεωρούνται όλες ως φυσιολογικές. Τα δεδομένα εκπαίδευσης συγκεντρώνονται χρησιμοποιώντας ένα παράθυρο 20X20 pixels επιλεγμένο από περιοχές φυσιολογικού ιστού, LGSIL και HGSIL όλες μέσα στην ίδια εικόνα. Για κάθε παράθυρο υπολογίζονται τα πέντε χαρακτηριστικά για κάθε pixel. Έπειτα η μέση τιμή, η απόκλιση, το 95ο εκατοστημόριο και η εντροπία κάθε χαρακτηριστικού υπολογίζονται για το 20X20 παράθυρο. Το 20X20 παράθυρο δειγματοληπτείται με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Στον πρώτο τρόπο επιλέγονται μη φυσιολογικές περιοχές όπου παθολογικό HGSIL και αλλαγές των τιμών έντασης λόγω οξικού οξέος είναι εμφανείς. Στο δεύτερο τρόπο επιλέγονται μη φυσιολογικές περιοχές όπου παθολογικό HGSIL και αλλαγές των τιμών έντασης λόγω οξικού οξέος ήταν οπτικά λιγότερο εμφανείς. Στον τρίτο τρόπο τα μη φυσιολογικά δεδομένα επιλέγονται βάσει μόνο του παθολογικού χάρτη και χωρίς καμία αναφορά στις εικόνες της κολποσκοπησης. Η λειτουργία κατηγοριοποιητή δοκιμάζεται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του cross-validation και αξιολογείται χρησιμοποιώντας τη ROC ανάλυση (receiver-operator characteristic curve analysis).

### Ανάλυση εικόνας

Η αυτοματοποιημένη ερμηνεία της εικόνας χρειάζεται διαδικασίες που να τμηματοποιούν (segment) την εικόνα σε τοπικά παρόμοιες περιοχές. Η τμηματοποίηση αυτή γίνεται με χρήση του αλγορίθμου K-means. Προκειμένου να ξεπεραστεί το πρόβλημα των ελαχίστων του K-means χρησιμοποιήθηκε διατάραξης (perturbation theory). Ορίζεται η πιθανότητα διατάραξης  $p_i$  και η απόσταση  $d_i$  ανάμεσα στη μέση τιμή της κλάσης (cluster)  $i$  και της κοντινότερης μέσης τιμής. Η τιμή της παραπάνω πιθανότητας αλλάζει για κάθε επανάληψη. Για κάθε κλάση που δημιουργείται μετά, επιλέγονται παράθυρα από pixels βάσει των αποτελεσμάτων της κατηγοριοποίησης και παράλληλα υπολογίζεται μια πιθανότητα παθογένειας για κάθε κλάση. Οι παθογενείς περιοχές αναγνωρίζονται ως αυτές οι κλάσεις των οποίων η πιθανότητα παθογένειας ξεπερνάει ένα προκαθορισμένο κατώφλι.

### Αξιολόγηση των επιδόσεων

Προκειμένου να αξιολογήσουμε τα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης της κάθε εικόνας χρησιμοποιείται μια προσέγγιση βασισμένη σε πλέγμα (grid-based) για τον υπολογισμό της ευαισθησίας και της ειδικότητας. Σε αυτή την προσέγγιση, η εικόνα διαιρείται σε πλέγματα και τα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης των pixels σε κάθε πλέγμα μιας εικόνας συγκρίνονται με τον αντίστοιχο παθολογικό χάρτη. Αν ο αριθμός των μη-κατηγοριοποιημένων pixels είναι μικρότερος από το 20% του αριθμού των pixels στο πλέγμα, τότε το πλέγμα θεωρείται ότι κατηγοριοποιήθηκε σωστά. Χρησιμοποιώντας αυτή

την προσέγγιση η ευαισθησία και η ειδικότητα της εικόνας ορίζονται ως:

$$\text{Ευαισθησία εικόνας} = \frac{\text{αριθμός των πλεγμάτων σωστά ταυτοποιημένων ως θετικά πλέγματα}}{\text{αριθμό των θετικών πλεγμάτων}}$$

$$\text{Ειδικότητα εικόνας} = \frac{\text{αριθμός των πλεγμάτων σωστά ταυτοποιημένων ως αρνητικά πλέγματα}}{\text{αριθμό των αρνητικών πλεγμάτων}}$$

Προκειμένου να αξιολογήσουμε τη συνολική ευαισθησία και ειδικότητα της αυτοματοποιημένης διαδικασίας επεξεργασίας εικόνας, η πιθανότητα κατώφλι που προκύπτει στην πιο επιθυμητή ακρίβεια-ειδικότητα αποφασίζεται σύμφωνα με την έννοια Pareto (Pareto sense).

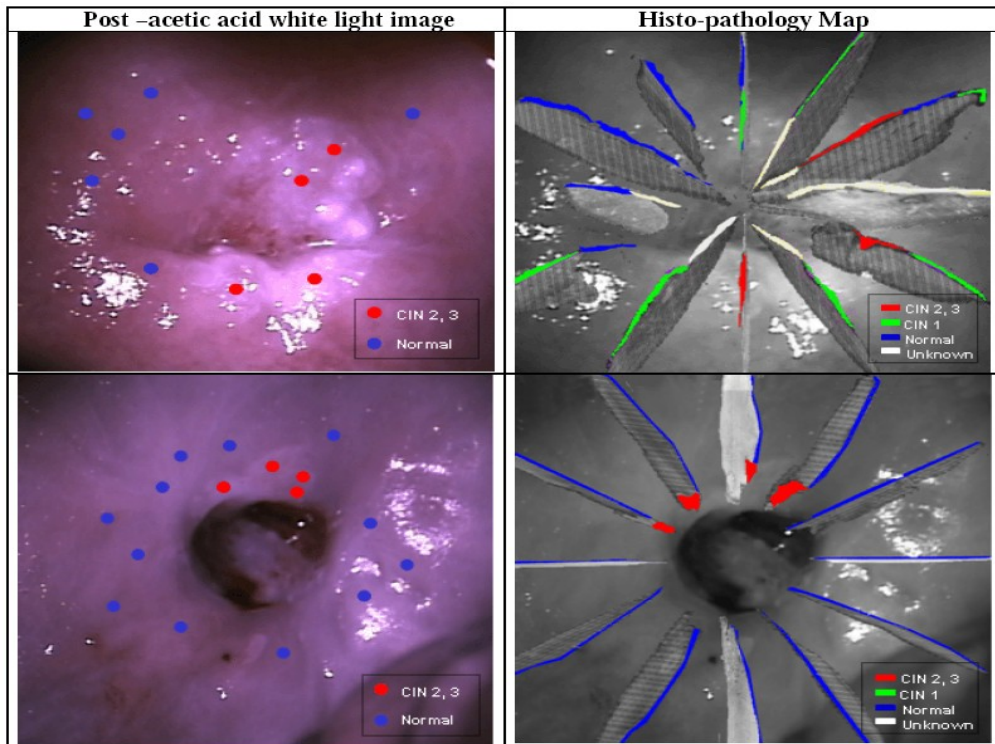
Αυτό το κατώφλι πιθανότητας εφαρμόστηκε σε όλα τα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης εικόνων των ασθενών. Αν μια εικόνα περιέχει μια περιοχή HGSIL της οποίας η ακτίνα να είναι μεγαλύτερη από 1mm τότε ο ασθενής κατηγοριοποιείται ως αναγκαίως περαιτέρω εξέτασης. Σύμφωνα με αυτή την προσέγγιση η ευαισθησία και η ειδικότητα ορίζονται ως:

$$\text{Ευαισθησία (mdc)} = \frac{\text{αριθμός των ασθενων σωστά διαπιστωμένων ως HGSIL}}{\text{αριθμό των HGSIL ασθενών}}$$

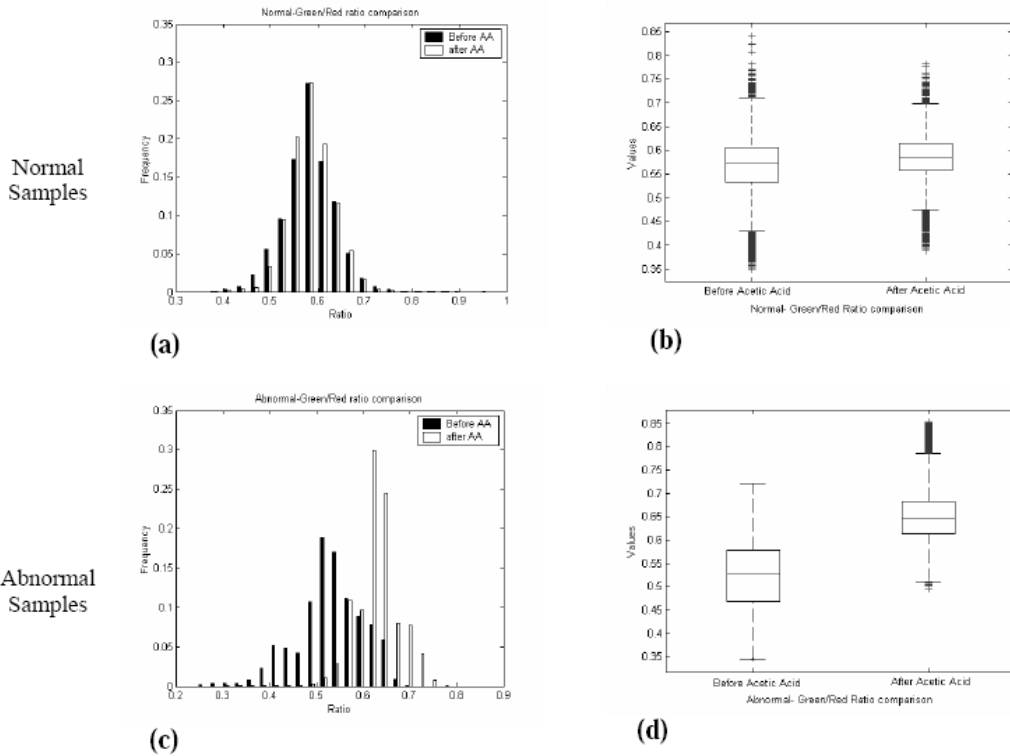
$$\text{Ειδικότητα (mdc)} = \frac{\text{αριθμός των ασθενων σωστά διαπιστωμένων ως LGSIL}}{\text{αριθμό των φυσιολογικών ή LGSIL ασθενών}}$$

### Αποτελέσματα

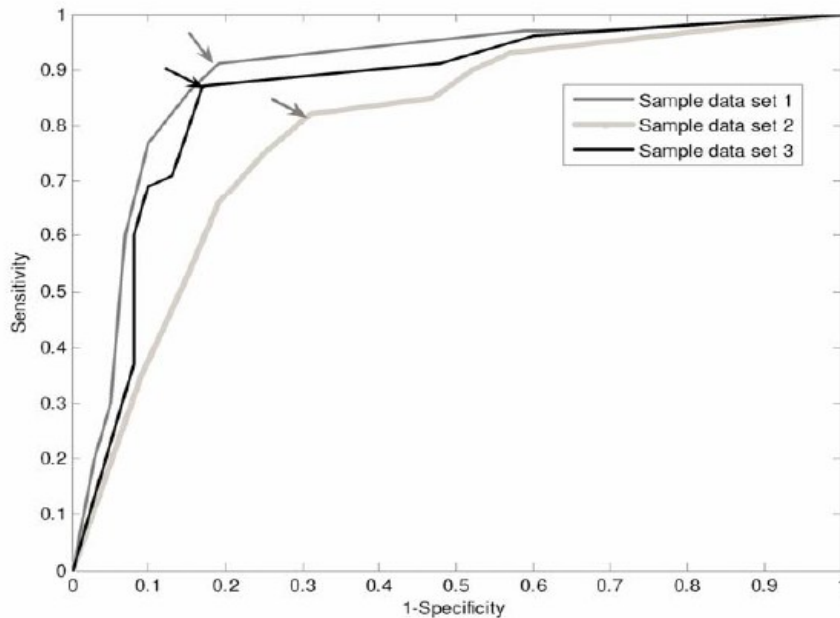
Οι πριν και μετά οξικού οξέος εικόνες μετρήθηκαν για 29 ασθενείς. Ιστοπαθολογική εξέταση έδειξε 21 ασθενείς (73%) με CIN2 ή 3 αλλοιώσεις στον τράχηλο της μήτρας, δύο ασθενείς (6%) με CIN1 ή 1 αλλοίωση και έξι ασθενείς (21%) χωρίς καθόλου ένδειξη CIN. Καθένας από αυτούς τους 8 ασθενείς είχε προηγουμένως μια βιοψία που έδειχνε HGSIL. Παρακολουθώντας τα συγκεντρωμένα δεδομένα εκπαίδευσης παρατηρούμε ότι: μη φυσιολογικά δεδομένα για το σύνολο εκπαίδευσης δειγματοληπτούνται από rixels στις HGSIL περιοχές, φυσιολογικά δεδομένα για το σύνολο εκπαίδευσης δειγματοληπτούνται από ιστοπαθολογικά φυσιολογικές ή LGSIL περιοχές. Επίσης εξετάζεται η αλλαγή στην αναλογία της έντασης στο πράσινο κανάλι προς εκείνης στο κόκκινο κανάλι που επιφέρει το οξικό οξύ για το σύνολο δεδομένων εκπαίδευσης που έχουν αναγνωριστεί ιστοπαθολογικά φυσιολογικά και παθογενή. Η εφαρμογή οξικού οξέος αλλάζει ουσιαστικά το λόγο της πράσινης προς την κόκκινη ένταση όταν μετριέται στα φυσιολογικά κύτταρα. Παρόλα αυτά, η παραπάνω αναλογία αυξάνεται για μη φυσιολογικά δείγματα. Μετά την εφαρμογή οξικού οξέος είναι φανερός ο διαχωρισμός ανάμεσα στα φυσιολογικά και μη δείγματα και αυτός ο λόγος εντάσεων είναι ένα από τα χαρακτηριστικά που επιλέγονται από για τον αλγόριθμο κατηγοριοποίησης.



Εικόνα 36: Προ-εφαρμογής οξικού οξέος άσπρου φωτός εικόνες από δύο ασθενείς (αριστερή στήλη) με ιστοπαθολογικό χάρτη (δεξιά στήλη). Οι τελείες στην αριστερή υποδηλώνουν τις περιοχές που τυχαία επιλέγονται για χρήση στην κατηγοριοποίηση της χωροθέτησης περιοχών. Ο τύπος ιστού σε αυτά τα σημεία αποφασίζεται σύμφωνα με τον ιστοπαθολογικό χάρτη. Ο ιστοπαθολογικός χάρτης περιλαμβάνει μια εικόνα από μια H&E χρωματισμένη ιστοπαθολογική περιοχή μετά από LEEP δειγματοληψία. Το επιθήλιο σε αυτές τις περιοχές είναι κωδικοποιημένο με χρώμα σύμφωνα με την ιστοπαθολογική διάγνωση, με μπλε δηλώνεται το φυσιολογικό επιθήλιο, με πράσινο η βλάβη CIN1 και CIN2 και με κόκκινο η βλάβη CIN3. Περιοχές με ελλιπές επιθήλιο χρωματίζονται ως άσπρες

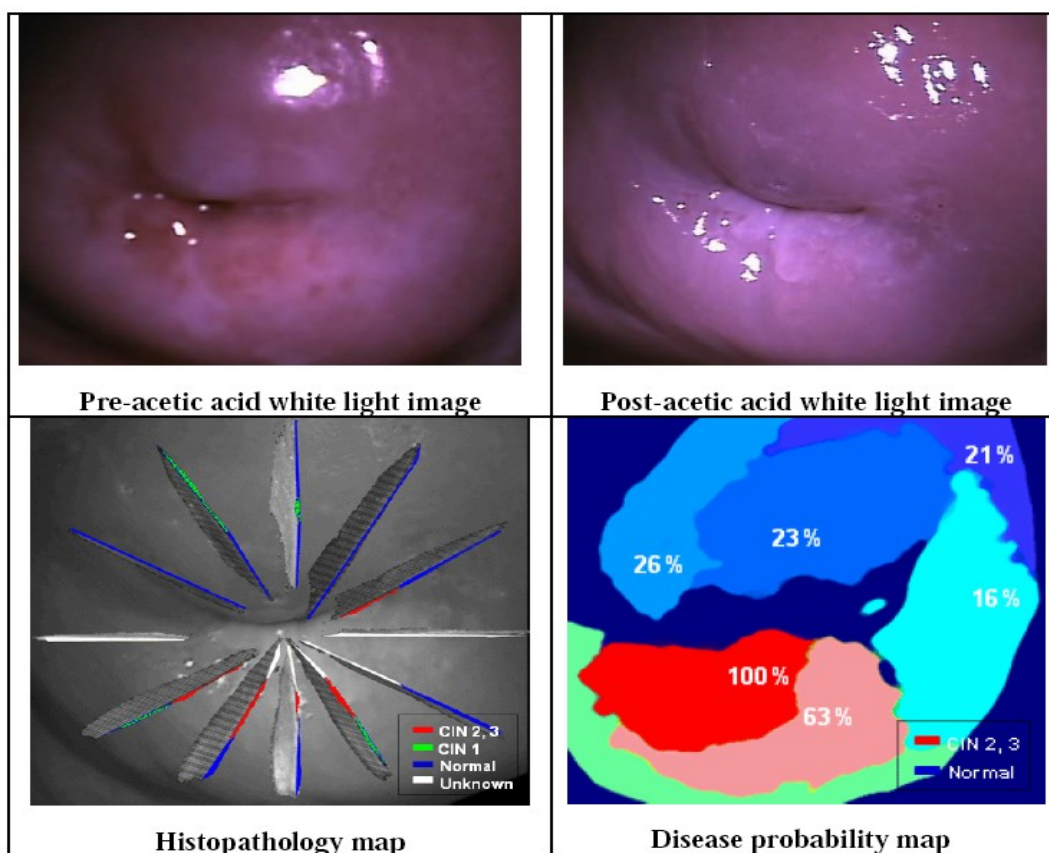


Εικόνα 37: Ιστόγραμμα και box σχεδιάγραμμα (σχεδιάγραμμα τύπου κουτί) που δείχνει το ποσοστό ανάκλασης στο πράσινο κανάλι προς αυτό στο κόκκινο κανάλι πριν και μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Το (a) ιστόγραμμα και (b) το box σχεδιάγραμμα των ιστοπαθολογικά φυσιολογικών δειγμάτων υποδεικνύουν μικρές αλλαγές σε αυτό το χαρακτηριστικό, ενώ το (c) ιστόγραμμα και (d) το box σχεδιάγραμμα αυτού του χαρακτηριστικού αυξάνουν σημαντικά μετά την εφαρμογή οξικού οξέος για ιστολογικά μη φυσιολογικά δείγματα



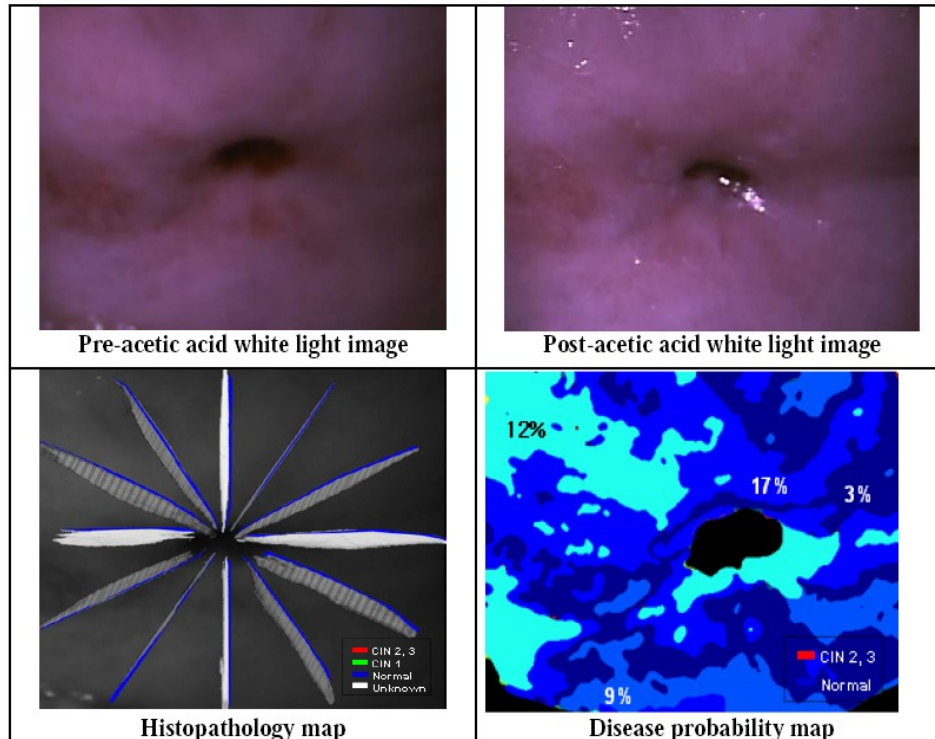
Εικόνα 38: ROC (Receiver Operating Characteristic) καμπύλες για πολυ-κατηγοριοποιημένο διαχωρισμό των high grade αλλοιώσεων του πλακώδους επιθηλίου ως προς φυσιολογικά ή low grade δείγματα αλλοιώσεων πλακώδους επιθηλίου για τρία διαφορετικά σύνολα δεδομένων-δειγμάτων

Έχει μελετηθεί λειτουργία του προτεινόμενου κατηγοριοποιητή για εντοπισμένες περιοχές της εικόνας με τρία διαφορετικά σύνολα εκπαίδευσης. Το πρώτο σύνολο εκπαίδευσης επέφερε τα καλύτερα αποτελέσματα, αυτά τα δεδομένα δειγματοληπτήθηκαν από εκείνες τις περιοχές όπου εξίσου ο παθολογικός χάρτης υποδεικνυε high grade ασθένεια και οι κολποσκοπικές εικόνες έδειχναν σημαντικές αλλαγές μετά την προσθήκη οξικού οξέος. Η λειτουργία του τρίτου συνόλου εκπαίδευσης όπου οι περιοχές της εικόνας επιλέχθηκαν βασισμένες μόνο στον παθολογικό χάρτη είναι καλύτερη από εκείνη του δεύτερου συνόλου εκπαίδευσης όπου οι μη φυσιολογικές περιοχές επιλέχθηκαν από παθολογικά μη φυσιολογικές περιοχές στις οποίες η AW αλλαγή έντασης ήταν οπτικά λιγότερο εμφανής. Για κάθε ROC καμπύλη, το σημείο με την πιο επιθυμητή ευαισθησία και ειδικότητα επιλέχθηκε ανάμεσα στα βέλτιστα κατά Pareto σημεία. Το επιλεγμένο σημείο για το πρώτο σύνολο εκπαίδευσης έχει 91% ευαισθησία και 80% ειδικότητα. Το βέλτιστο σημείο για το δεύτερο σύνολο εκπαίδευσης 82% ευαισθησία και 69% ειδικότητα και για το τρίτο σύνολο 87% ευαισθησία και 83% ειδικότητα.



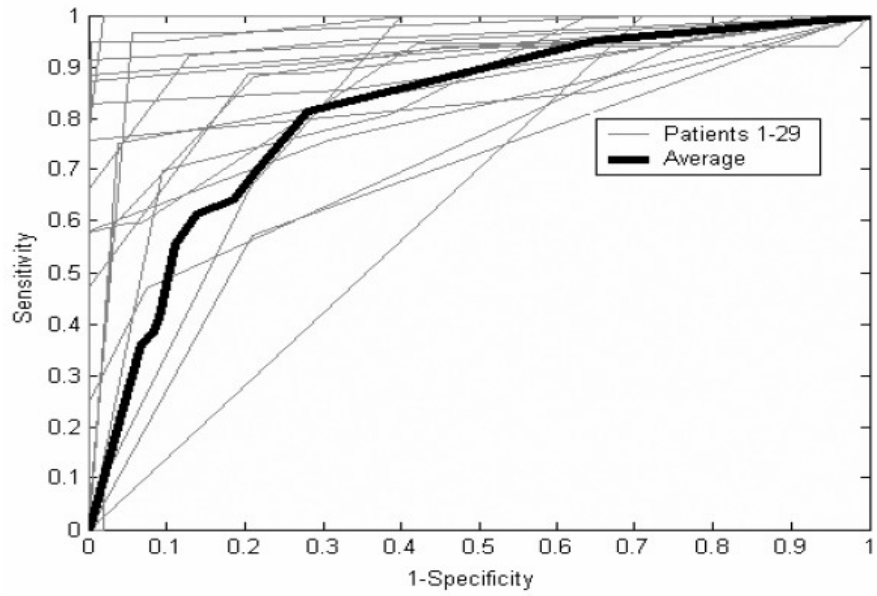
Εικόνα 39: Αποτελέσματα ταξινόμησης εικόνων για έναν ασθενή με CIN1,2,3 αλλοιώσεις χρησιμοποιώντας την προτεινόμενη προσέγγιση κατηγοριοποίησης εικόνας

Επίσης προκύπτουν πριν και μετά εφαρμογής οξικού οξέος εικόνες για ασθενή με CIN1/2 και 3 μαζί με τον παθολογικό χάρτη και το αποτέλεσμα κατηγοριοποίησης. Οι υψηλής πιθανότητας περιοχές της ασθένειας στο χάρτη πιθανότητας της ασθένειας συσχετίζονται με περιοχές CIN2/3 στον ιστοπαθολογικό χάρτη. Οι ίδιες εικόνες προκύπτουν και για ασθενή με εντελώς φυσιολογικό τράχηλο.

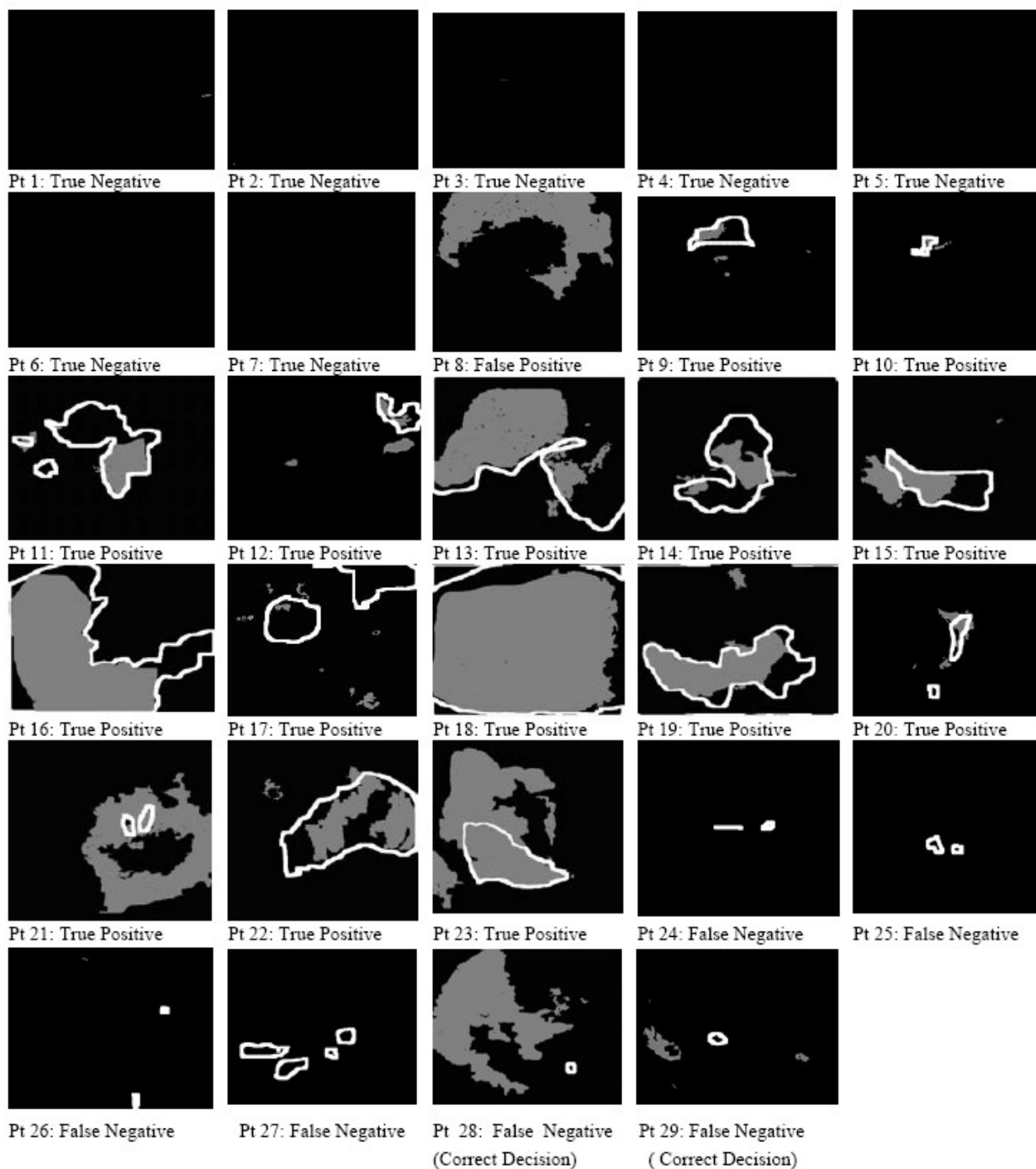


Εικόνα 40: Αποτελέσματα ταξινόμησης εικόνων για έναν ασθενή με φυσιολογικό τράχηλο μήτρας χρησιμοποιώντας την προτεινόμενη προσέγγιση κατηγοριοποίησης εικόνας

Η υψηλότερη πιθανότητα παθογένειας στον πιθανοτικό χάρτη είναι 17% και για κάθε τιμή κατώφλιου μεγαλύτερη από 17% όλες οι περιοχές θεωρούνται ως φυσιολογικές. Έπειτα έχουμε εικόνες της λειτουργίας της κατηγοριοποίησης εικόνων για 29 ασθενείς χρησιμοποιώντας καμπύλη ROC. Το αποτέλεσμα της κατηγοριοποίησης για κάθε ασθενή εκτιμάται χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση βασισμένη σε πλέγμα (grid-based). Στις ROC καμπύλες, παρατηρούνται σημεία-κόμβοι αφού υπάρχει ένας περιορισμένος αριθμός πιθανοτήτων παθογένειας για τις κλάσεις. Αυτό είναι, ότι όσο αυξάνουμε το κατώφλι πιθανότητας, η διάγνωση επίδοση αλλάζει με απότομο τρόπο μόνο όταν το κατώφλι πιθανότητας ξεπερνάει την πιθανότητα παθογένειας για μια κλάση. Χρησιμοποιώντας την καμπύλη μέσω ROC, το κατώφλι πιθανότητας (0.68) με την πιο επιθυμητή τιμή μέσης ευαισθησίας (82%) και ειδικότητας (73%) υπολογίζονται σύμφωνα με την έννοια Pareto.



Εικόνα 41: ROC καμπύλες κατηγοριοποίησης εικόνων για 29 ασθενείς. Η καλύτερη τιμή κατωφλίου (0.68) αξιολογείται από το σημείο του μέσου όρου της ROC καμπύλης αντιστοιχώντας σε 82% ευαισθησία και 73% ειδικότητα



Εικόνα 42: Αποτελέσματα διάγνωσης για 29 ασθενείς βασισμένα σε αυτοματοποιημένες εικόνες, για φυσιολογικό επιθήλιο, ή LGSIL, ή HGSIL μετά από LEEP διαδικασία. Εφαρμόζεται ένα κατώφλι στον πίνακα πιθανοτήτων της ασθένειας και εκείνες οι περιοχές που έχουν διαγνωσθεί ως φυσιολογικές παρουσιάζονται ως μαύρες, ενώ οι περιοχές που έχουν διαγνωσθεί ως high grade παρουσιάζονται ως γκρι. Η περιοχή που περικλείεται από μια άσπρη γραμμή αντιπροσωπεύει την CIN2/3 περιοχή του παθολογικού χάρτη. Ο αλγόριθμος απέδωσε 7 true negative αποτελέσματα, ένα false positive αποτέλεσμα, 15 true positive αποτελέσματα και 6 false negative αποτελέσματα

## Συγκεκριμένα παραδείγματα

Χρησιμοποιείται κατώφλι πιθανότητας 0.68 για 29 ασθενείς με φυσιολογικό, LGSIL ή HGSIL ιστοπαθολογικό χάρτη (8 ασθενείς). Για τους #1-7 ασθενείς η διάγνωση βασίστηκε σε αυτοματοποιημένη ανάλυση εικόνας που ταιριάζει με την παθολογική καταγραφή. Ωστόσο, στον ασθενή #8 υπάρχει μια ασυμφωνία ανάμεσα στο αποτέλεσμα της αυτοματοποιημένης ανάλυσης εικόνας και την παθολογική καταγραφή, η πρώτη αναγνωρίζει μια αξιοσημείωτη παθογενή περιοχή ενώ η δεύτερη δηλώνει ότι δεν παρουσιάζεται καμιά παθογένεια ιστού. Οι ασθενείς #9-29 έχουν CIN2/3 μετά από LEEP εξέταση (21 ασθενείς). Για 15 ασθενείς όπου ο αλγόριθμος κατηγοριοποίησης απέδωσε true positive αποτέλεσμα η HGSIL περιοχή που αναγνωρίστηκε από τον αλγόριθμο κατηγοριοποίησης σχετίζεται με αυτό τον ιστοπαθολογικό χάρτη (ασθενείς #9-23). Για έξι ασθενείς ο αλγόριθμος κατηγοριοποίησης απέδωσε εσφαλμένο αποτέλεσμα (ασθενείς #24-27) ή ασαφές αποτέλεσμα (#28-29). Σε 4 από αυτούς τους ασθενείς η διαδικασία αυτοματοποιημένης ανάλυσης εικόνας δεν αναγνώρισε περιοχές HGSIL που αναγνωρίστηκαν αργότερα από LEEP εξέταση. Σε 2 ασθενείς, HGSIL περιοχές αναγνωρίστηκαν από αυτοματοποιημένη ανάλυση εικόνας αλλά δεν αντιστοιχούσαν σε θέσεις όπου καταγράφηκαν μετά από τον ιστοπαθολογικό χάρτη. Η επαγόμενη ευαισθησία και ειδικότητα είναι 79% και 88% αντίστοιχα για 27 ασθενείς εξαιρουμένων δύο με ασαφή αποτελέσματα.

## Άλλες μελέτες

- Ο Pogue et. al ανέλυσε το φαινόμενο του AW για high grade αλλοιώσεις σε 6 ασθενείς με διαπιστωμένο μέσω βιοψίας CIN2, CIN3. Φάνηκαν οι χωρικές και χρονικές αλλαγές του λόγου πράσινης προς κόκκινη ένταση ως σημαντικό AW χαρακτηριστικό διαχωρισμού των φυσιολογικών και μη περιοχών. Παρόλα αυτά δεν καταγράφηκε διάγνωση με τη χρήση αυτού του χαρακτηριστικού.
- Ο Μπάλας et.al αξιολόγησε την αλλαγή στις ιδιότητες σκέδασης του φωτός από τον τράχηλο της μήτρας χρησιμοποιώντας τη μέγιστη αντίθεση ανάμεσα σε περιοχές που ανταποκρίθηκαν και σε περιοχές που δεν ανταποκρίθηκαν στο οξικό οξύ για 16 ασθενείς. Η χρονική διάρκεια της οπισθοσκεδασμένης έντασης του φωτός είναι σημαντικό χαρακτηριστικό διάγνωσης

## Η παραπάνω μελέτη

- Η παραπάνω μελέτη ανέπτυξε τη χρυσή τομή για αυστηρή αξιολόγηση της ευαισθησίας και της ειδικότητας στην κατηγοριοποίηση του περιεχομένου της εικόνας. Μια βασική αδυναμία της παραπάνω μελέτης είναι ότι εφαρμόστηκε σε ασθενείς με high grade αλλοιώσεις. Η προβλέψιμη τιμή λοιπόν μπορεί να είναι χαμηλότερη σε ένα εξεταζόμενο πληθυσμό. Επίσης η προσέγγιση αυτή μπορεί να είναι χαμηλότερη σε ένα εξεταζόμενο πληθυσμό. Επίσης η προσέγγιση αυτή μπορεί να αποτύχει να ανιχνεύσει (προ)-καρκινικές αλλοιώσεις που δε δείχνουν AW. Μπορεί να υπάρχουν αλλοιώσεις που δεν έχουν κερατίνη και έτσι να μην εμφανίζουν AW. Άρα αυτές οι αλλοιώσεις μπορεί να μην ανιχνευθούν χρησιμοποιώντας αυτό τον αλγόριθμο. Ο αρχικός αλλά και ο προχωρημένα διηθητικός καρκίνος είναι συνήθως ερυθηματώδης και δεν παρουσιάζει AW.

Χρησιμοποιώντας τα ευρήματα του AW για να ανιχνεύσουμε τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (2009) [16]

Τα δυσπλαστικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας γίνονται άσπρα μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Η παρακάτω τεχνική μετράει πολλαπλές παραμέτρους της διαδικασίας του AW από δύο εικόνες που έχουν ληφθεί με ψηφιακό κολποσκόπιο. Η μια εικόνα λαμβάνεται πριν και η άλλη μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Η χωρική αλλαγή του AW εξάγεται χρησιμοποιώντας πληροφορίες χρώματος και υφής στην προ-οξικού οξέος εικόνα. Η χρονική αλλαγή εξάγεται από την ένταση και τις χρωματικές αλλαγές ανάμεσα στην προ και μετά οξικού οξέος εικόνα με μια αυτοματοποιημένη ευθυγράμμιση. Στην ουσία οδηγούμαστε σε έναν αυτοματοποιημένο τρόπο υπολογισμού του ευρήματος AW που υποδηλώνει τους βαθμούς της χρονικής αλλαγής. Το σύστημα απεικόνισης και ανάλυσης δεδομένων εφαρμόστηκε σε 99 ασθενείς, με ευαισθησία και ειδικότητα 94% και 87% αντίστοιχα για διαχωρισμό high grade δυσπλασιών (CIN2+) από φυσιολογικά και low grade κύτταρα λαμβάνοντας υπόψιν το ιστολογικό υπόβαθρο ως κριτήριο.

## Εισαγωγή

Μια τραχηλική νεοπλασία παρουσιάζει συγκεκριμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά που μπορούν να αναγνωριστούν κατά τη διάρκεια μιας κολποσκοπικής εξέτασης. Αυτά τα χαρακτηριστικά περιέχουν ευδιάκριτες επιθηλιακές και αγγειακές ανωμαλίες.

Ένα AW επιθήλιο είναι ένα βασικό κολποσκοπικό δείγμα που παρατηρείται στην τραχηλική νεοπλασία. Παρόλο που το AW επιθήλιο δεν ισούται πάντα με νεοπλασία, σχεδόν όλες οι τραχηλικές νεοπλασίες παρουσιάζουν ένα παροδικό άσπρο χρώμα μετά την εφαρμογή 3%-5% διαλύματος οξικού οξέος. Επομένως τα κολποσκοπικά ευρήματα σε συνδυασμό με το AW επιθήλιο μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση της σοβαρότητας των τραχηλικών αλλοιώσεων. Θεωρείται ότι η κολποσκόπηση που είναι μια βασική διαγνωστική μέθοδος, δεν καταφέρνει παρόλα αυτά να εντοπίσει το 1/3 των high grade αλλοιώσεων. Υπάρχει ήδη ένα σύνολο ερευνών για την αυτοματοποιημένη διάγνωση του τραχηλικού καρκίνου όπως ο Yang et. al που ανέπτυξε μια τεχνική ανίχνευσης του AW χρησιμοποιώντας K-means κατηγοριοποίηση. Ο Gordon και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν έναν αλγόριθμο για unsupervised τμηματοποίηση (segmentation) των τριών τύπων αλλοιώσεων χρησιμοποιώντας το Gaussian (γκουασιανό) μοντέλο. Σε πρόσφατη έρευνα, η AW περιοχή αναγνωρίζεται εξάγοντας την υψηλότερη μέση ένταση κλάσης ανάμεσα στις ομαλές (smooth) περιοχές. Επίσης παρατηρήθηκε ότι εξαιτίας επιδράσεων φωτισμού και άλλων αλλαγών κατά τη διάρκεια της εξέτασης (λόγω του ασθενή κ.λ.π) οι AW αλλοιώσεις διαπιστώνονταν εσφαλμένα. Επιπλέον AW αλλοιώσεις που βρίσκονται σε σκιασμένες περιοχές της εικόνας δεν ανιχνεύθηκαν καθόλου. Ο Kaufman et.al ολοκλήρωσε μια ευρεσιτεχνία στην ανάλυση των αλλαγών έντασης και σημείωσε ότι ο λόγος των μέσων τιμών πράσινης προς κόκκινης έντασης για δύο χρονικά διαστήματα (100sec-200sec) και (200sec-300sec) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαχωρισμό CIN2/3 αλλοιώσεων από φυσιολογικά και CIN1 κύτταρα.

Σκοπός της παρακάτω τεχνικής είναι να παρουσιάσουμε τη χρήση ενός ψηφιακού κολποσκοπίου το οποίο λαμβάνει πολωμένες και μη πολωμένες χρωματικές εικόνες του τραχήλου. Μια ακολουθία αλγορίθμων της επεξεργασίας εικόνας χρησιμοποιείται για να αναλυθεί το ανατομικό ενδιαφέρον του τραχήλου, να εξάγει το χρώμα και την AW ιδιότητα του επιθηλίου και να χωροθετηθούν οι AW αλλοιώσεις. Το σύστημα εφαρμόστηκε σε 99 ασθενείς και έδωσε καλή συσχέτιση με τις παθολογικά διαπιστωμένες αλλοιώσεις.

## Κλινική εξέταση

Εξετάστηκαν 99 γυναίκες 22-50 χρονών με εφαρμογή 5% οξικού οξέος και λήφθηκαν από αυτές πολωμένες και μη πολωμένες RGB εικόνες του ενδομητρίου. Το 5% διάλυμα οξικού οξέος εφαρμόστηκε στην επιφάνεια του τραχήλου για 1 λεπτό. Πολωμένες και μη πολωμένες φωτογραφίες λαμβάνονται από τον τράχηλο 1 λεπτό μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Έπειτα εφαρμόζεται ιώδιο του Lugol και επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία. Μετά την εφαρμογή του ιωδίου του Lugol έγινε τοπική εφαρμογή αναισθητικού και LEEP εξέταση ή βιοψία κώνου. Τέλος λήφθηκαν εικόνες πολωμένες και μη πολωμένες με τις παραπάνω χειρουργικές επεμβάσεις. Τα δείγματα μετά στάλθηκαν σε παθολογικό εργαστήριο για ιστολογική ανάλυση.

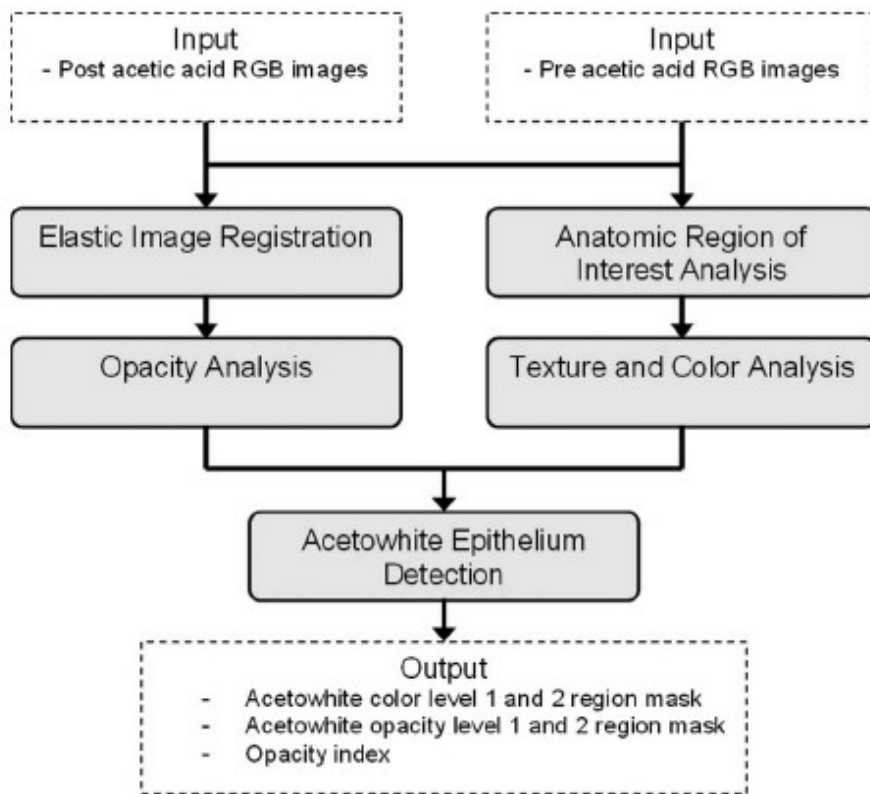
Οι ιστοπαθολογικές διαγνώσεις καθίσταντο μετά από ερμηνεία των δειγμάτων που προήλθαν από τη LEEP εξέταση και για ένα υποσύνολο ασθενών τα δείγματα εξετάζονται από κλινικούς γιατρούς για να οριστεί έτσι ο ιστολογικός χάρτης. Ο ιστολογικός χάρτης παρείχε λεπτομερή διαγνωστική πληροφορία για HGSIL, LGSIL αλλοιώσεις και διηθητικό καρκίνο. Ο ιστολογικός χάρτης παρουσιάζοταν ως προβεβλημένες γραμμές πάνω στην κολποσκοπική εικόνα για να δημιουργήσει ένα παθολογικά βασισμένο πρότυπο κριτήριο. Αν είναι εφικτό οι HGSIL αλλοιώσεις κατηγοριοποιούνται περαιτέρω ως CIN1, CIN2 ή CIN3. Ένα υποσύνολο των τραχηλικών εικόνων που συλλέχθηκαν εξετάζονταν από έμπειρους κολποσκόπους και τα κολποσκοπικά χαρακτηριστικά συμπεριλαμβανομένων των εξωμήτριο, cervical os, επιθήλιο, πλακώδες επιθήλιο και AW επιθήλιο σημειωνόταν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Photoshop (CS2, Adobe System Inc., San Jose, California). Οι κολποσκοπικές εικόνες λειτουργούσαν ως η αληθινή πληροφορία για την εξαγωγή κολποσκοπικών χαρακτηριστικών και την υλοποίηση του αλγορίθμου.

## Ψηφιακό κολποσκόπιο

Το ψηφιακό κολποσκόπιο που χρησιμοποιείται αξιοποιεί ένα βασικό κολποσκόπιο, δύο υψηλής ανάλυσης 14Mpixel ψηφιακές κάμερες (Kodak, DCS Pro SLR/n) και μια οδηγούμενη από ίνες πηγή φωτός (Perkin Elmer, DiX1765 λάμπα ξένου). Επιπρόσθετα με τη δυνατότητα απεικόνισης υψηλής ανάλυσης το ψηφιακό κολποσκόπιο παρέχει τη δυνατότητα στερεοσκοπικής απεικόνισης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για 3D ανακατασκευή. Οι εικόνες που αποκτώνται αποθηκεύονται σε DCR μορφή (Digital Camera Raw format) χωρίς συμπίεση και μετά μετατρέπονται σε αρχεία tiff. Στο παραπάνω σύστημα 92 pixels αντιπροσωπεύουν 1mm, μια ανάλυση που δίνει τη δυνατότητα στον υπολογιστή να ανιχνεύσει “μωσαϊκό”, στίξη και άτυπες φλέβες και να αξιολογήσει ενδοτριχοειδής αποστάσεις. Βασικό πλεονέκτημα του παραπάνω κολποσκοπίου είναι η συμπερίληψη πόλωσης που μειώνει το θάμπωμα των εικόνων που θα μπορούσε να ερμηνευθεί εσφαλμένα ως AW επιθήλιο. Χρησιμοποιείται και μια μονάδα βαθμονόμησης για βαθμονόμηση των κλινικών θέσεων. Στόχος είναι να εξασφαλιστεί ότι εικόνες που λαμβάνονται σε διαφορετικές χρονικές στιγμές με διαφορετικά κολποσκόπια θα παρουσιάζουν όμοιες τιμές έντασης και χρώματος ανεξαρτήτως της κάμερας που χρησιμοποιείται και της πηγής φωτός. Αυτό γίνεται χρησιμοποιώντας ένα σταθερό χρωματικό χώρο (color space).



Εικόνα 43: Υψηλής ανάλυσης ψηφιακό κολποσκόπιο με ικανότητα πολωμένης απεικόνισης



Εικόνα 44: Διάγραμμα ροής της αυτοματοποιημένης ανάλυσης εικόνας

## Αυτοματοποιημένη ανάλυση εικόνας

Στην ανάλυσή μας η προ-οξικού οξέος εικόνα χρησιμοποιείται ως εικόνα αναφοράς. Η μετά οξικού οξέος εικόνα αναλύεται σύμφωνα με την ανατομία του τραχήλου. Επόμενο βήμα είναι η εξαγωγή χρώματος και χωρικών ιδιοτήτων του AW επιθήλιου. Αφαιρώντας τις πριν και μετά οξικού οξέος εικόνες και εφαρμόζοντας unsupervised αλγόριθμους κατηγοριοποίησης υπολογίζουμε τις ιδιότητες αυτές. Ένα ευρετήριο αδιαφάνειας υπολογίζεται βασισμένο στα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης.

## Ανάλυση της ανατομικής περιοχής ενδιαφέροντος

Η ανάλυση της ανατομικής περιοχής ενδιαφέροντος είναι μια πλήρως αυτοματοποιημένη διαδικασία και για να επιβεβαιώσουμε ότι ελήφθη μια εικόνα ολόκληρου του τραχήλου επιλέγεται ως επίπεδο μεγέθυνσης του κολποσκοπίου αυτό ώστε να περιέχεται τόσο η άκρη του κολποδιαστολέα όσο και τα τοιχώματα του κόλπου.

Πριν από περαιτέρω επεξεργασία εικόνας η περιοχή του τραχήλου πρέπει να εξαχθεί ως περιοχή ενδιαφέροντος (ROI). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να βρεθεί η τραχηλική περιοχή εξαιρώντας τα κολπικά τοιχώματα αφού η υφή και το χρώμα τους μοιάζουν με τα τραχηλικά πλακώδη ή μεταπλαστικά επιθήλια.

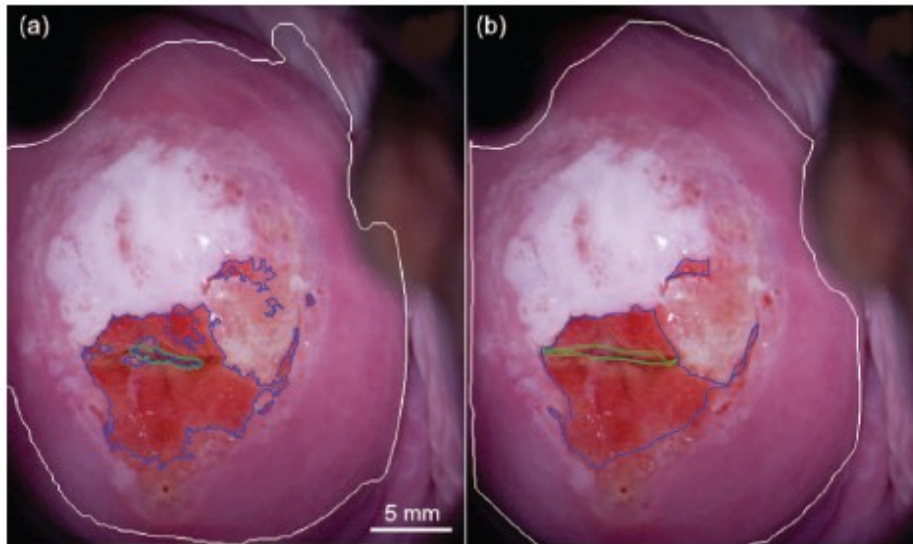
Ο αυτοματοποιημένος αλγόριθμος χρησιμοποιεί unsupervised κατηγοριοποίηση 2 κλάσεων βασισμένη στην τεχνική του GMM (Gaussian mixture model). Πρώτα μια Gaussian συνάρτηση smoothing εφαρμόζεται στην RGB εικόνα για να αφαιρεθεί ο θόρυβος. Έπειτα εφαρμόζεται ο Karhunen-Loeve (K-L) μετασχηματισμός για να μετασχηματίσει την εικόνα από τον RGB χώρο στον K-L χώρο. Ο K-L χώρος έχει αποδειχτεί ότι είναι περισσότερο αποτελεσματικός χώρος για χαρακτηρισμό χρώματος-υφής στη διάγνωση όγκων. Τρίτον, ο αλγόριθμος μεγιστοποίησης της μέσης τιμής (EM-expectation maximization) χρησιμοποιείται για να κατηγοριοποιηθεί το K1 κανάλι (το ιδιοδιάνυσμα που αντιστοιχεί στη μεγαλύτερη ιδιοτιμή) ως προσκήνιο ή ως παρασκήνιο. Ο EM αλγόριθμος χρησιμοποιείται για διάγνωση επειδή αποδίδει αυστηρό διαχωρισμό των δύο κλάσεων χωρίς να χρειάζεται καμία παράμετρος. Τέταρτον με την προσκηνιακή περιοχή, τα κολπικά τοιχώματα ανιχνεύονται χρησιμοποιώντας πληροφορίες χρώματος και gradient. Το άνοιγμα του τραχήλου (cervical os) ορίζει το μέρος του τραχηλικού καναλιού που καλύπτεται από το επιθήλιο. Είναι μια μικρή περιοχή στο κέντρο του τραχήλου με χαμηλή ένταση περικυκλωμένη από το επιθήλιο και τη ζώνη μετασχηματισμού (transformation zone-TZ).

Ο αλγόριθμος ανίχνευσης της περιοχής os βασίζεται στη μετατόπιση του μέσου (mean shift) κατηγοριοποίηση με την υπόθεση ότι η os περιοχή πιθανότατα εντοπίζεται στο κεντρικό μέρος της τραχηλικής περιοχής με τη χαμηλότερη ένταση και όχι στο κέντρο της εικόνας. Ο αλγόριθμος mean shift είναι μια τεχνική μη παραμετρικής κατηγοριοποίησης που δε χρειάζεται προηγούμενη γνώση του αριθμού των κλάσεων και δεν περιορίζει ως προς τη μορφή των κλάσεων. Βασίζεται στη θεωρία εκτίμησης της πυκνότητας κλίσης (gradient density) και εξασφαλίζει ότι συγκλίνει σε ένα σημείο σε ένα σημείο όπου η κλίση της συνάρτησης πυκνότητας είναι μηδέν. Λόγοι χρήσης του παραπάνω αλγορίθμου είναι α) δε χρειάζεται προκαθορισμένος αριθμός κλάσεων

β) η τμηματοποίηση είναι πολύ ευαίσθητη στην επιλογή των παραμέτρων ανάλυσης

Ο αλγόριθμος ανίχνευσης του cervical os εφαρμόζεται μόνο στην περιοχή του τραχήλου και ξεκινά υπολογίζοντας το μετασχηματισμό απόστασης, ώστε να δημιουργήσει μια εικόνα απόστασης. Οι αποστάσεις υπολογίζονται βασισμένες στην ευκλείδεια μετρική. Σκοπός είναι η χωροθέτηση του κέντρου της περιοχής του τραχήλου.

Έπειτα εφαρμόζεται μια mean shift κατηγοριοποίηση στο προεπιλεγμένο εύρος του K1 καναλιού της εικόνας. Το cervical os επιλέγεται μετά από την κλάση με τη χαμηλότερη ένταση ακολουθούμενη από διαδικασίες αφαίρεσης μικρών περιοχών θορύβου. Για να βελτιωθεί η ακρίβεια της ανίχνευσης του cervical os, ο αλγόριθμος εφαρμόζεται τρεις φορές με τρεις διαφορετικές παραμέτρους ( $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{3}{4}$ ). Η τελική περιοχή cervical os είναι η cervical os περιοχή με τη μέγιστη τιμή. Η κιονοειδής περιοχή του επιθηλίου παραμένει κοκκινωπή μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Αυτή η πληροφορία χρώματος είναι σημαντική για την κατάτμηση (segmentation) της περιοχής αφού ο αλγόριθμος εφαρμόζει mean shift.



Εικόνα 45: Παράδειγμα εξαγωγής ανατομικών χαρακτηριστικών ενδιαφέροντος σε τραχηλικές εικόνες: άσπρο περίγραμμα, τραχηλική περιοχή, πράσινη, τραχηλικό άνοιγμα και μπλε κιονοειδές επιθήλιο. (a) αποτελέσματα αλγόριθμου και (b) σχολιασμός από ειδικό κολποσκόπο

### Ανάλυση AW υφής και χρώματος

Τα παρακάτω βήματα εφαρμόζονται στην ανάλυση των ιδιοτήτων χρώματος και υφής των AW αλλοιώσεων:

#### Βήμα 1: Εξαγωγή περιοχής υφής

Δεδομένης της φυσιολογικής ανατομίας περιοχών μιας εικόνας τραχήλου και αφαιρώντας την cervical os περιοχή και το κιονοειδές επιθήλιο, προκύπτει μόνο μια περιοχή που περιλαμβάνει το πλακώδες επιθήλιο, μεταπλαστικά και δυσπλαστικά κύτταρα.

Σε αυτό το βήμα το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην εξαγωγή περιοχών που παρουσιάζουν high grade υφή ανεξάρτητη από τη χρωματική πληροφορία. Η ανάλυση υφής είναι ένας τρόπος ορισμού των ιδιοτήτων της χαρακτηριζόμενη ως τραχιά, ομαλή, μεταξοειδή ή ανώμαλη, γεμάτη εξογκώματα ως συνάρτηση των διακυμάνσεων χωρικής έντασης. Η τραχύτητα ή οι ανωμαλίες μεταφράζονται ως διακυμάνσεις στις τιμές έντασης ή ως επίπεδα του γκρι.

Η τεχνική που χρησιμοποιείται εξάγει τα χαρακτηριστικά υφής της εικόνας. Το εύρος του Gaussian παραθύρου ορίζει την κλίμακα των χαρακτηριστικών υφής. Ο πίνακας με το διάνυσμα κλίσεων εντός του παραθύρου υπολογίζεται για κάθε pixel της εικόνας και ορίζεται ως  $M_{\sigma}(x,y)$ .

Στο σημείο αυτό αναφέρεται η αντίθεση (contrast) της εικόνας όπου ορίζεται ως:

$$\text{contrast} = (\lambda_1 + \lambda_2)^{1/2}$$

όπου  $\lambda_1$  και  $\lambda_2$  είναι οι ιδιοτιμές του  $M_\sigma$ , όπου το  $M_\sigma$ , σχετίζεται με μια διωνυμική προσέγγιση του Gaussian smoothing με διακύμανση  $\sigma^2$  και το gradient της έντασης της εικόνας. Η περιοχή υφής αποκτάται εφαρμόζοντας δύο κλάσεων κατηγοριοποίηση, στο χώρο των χαρακτηριστικών υφής. Φαίνεται ως άσπρες περιοχές σε μια δυαδική εικόνα.

#### Βήμα 2: Εξαγωγή περιοχής χρώματος

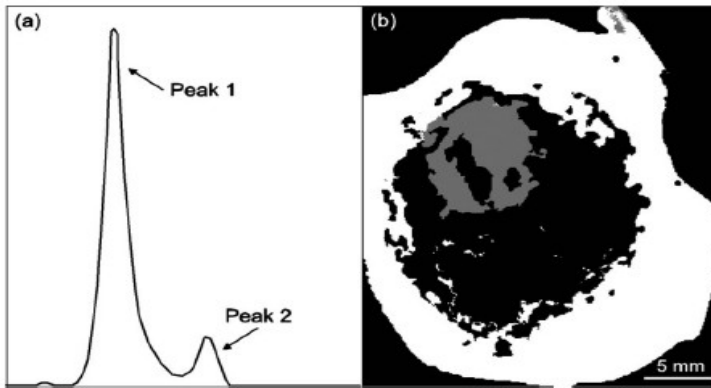
Το χρώμα είναι βασική ιδιότητα της εικόνας για διαχωρισμό AW αλλοιώσεων από φυσιολογικά κύτταρα που φαίνονται ως ροδόχρους στην τραχηλική εικόνα. Ο λόγος που σε αυτό το βήμα εξαιρούμε την υφή από την ανάλυση είναι ότι μη φυσιολογικά αγγεία υπερτίθενται στην AW περιοχή, η AW χρωματική πληροφορία θα υποβαθμιστεί ή θα είναι λιγότερο άσπρη εξαιτίας των πολλών κόκκινων αιμοφόρων αγγείων. Έτσι αφαιρώντας την υφή και συνδυάζοντας με τη χρωματική πληροφορία σε επόμενο βήμα έχουμε ακριβέστερο αποτέλεσμα. Η ROI περιοχή παρουσιάζει μια περίπου ομοιογενή επιφάνεια και συνήθως αποτελείται από φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο και/ή AW περιοχή.

Σκοπός είναι η εξαγωγή των AW αλλοιώσεων από το πλακώδες επιθήλιο. Η τεχνική που εφαρμόζεται χρησιμοποιεί τον αριθμό των επικρατουςών κορυφών του ιστογράμματος του G καναλιού (από το RGB χρωματικό χώρο) για να εξάγει πληροφορία για το μέγεθος της AW περιοχής και για το ποια τεχνική θα εφαρμοστεί στη συνέχεια για τημματοποίηση. Ένα ιστόγραμμα μια κορυφής είναι ενδεικτικό μιας μικρής AW περιοχής, ενώ ένα ιστόγραμμα δύο κορυφών είναι ενδεικτικό μιας μεγαλύτερης ομοιογενούς AW περιοχής. Τμηματοποίηση της ROI γίνεται με mean shift αλγόριθμο κατηγοριοποίησης για ιστόγραμμα μιας κορυφής και με EM αλγόριθμο για ιστόγραμμα δύο κορυφών.

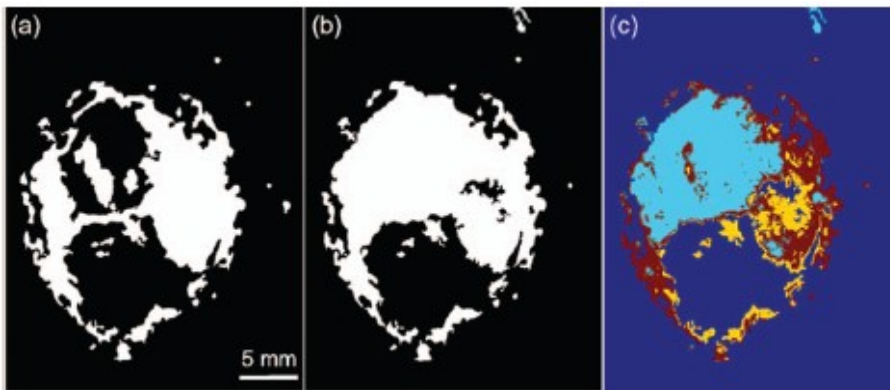
#### Βήμα 3: Συνδυασμός χρώματος και υφής

Στο βήμα αυτό συνδυάζουμε τις πληροφορίες χρώματος και υφής από τα δύο παραπάνω βήματα. Ολόκληρη η περιοχή χρώματος και υφής αναλύεται περαιτέρω βασισμένη στις ιδιότητες χρώματος χρησιμοποιώντας το CIE-Lab χρωματικό χώρο. Οι τρεις παράμετροι του CIE χρωματικού χώρου αντιπροσωπεύουν τη φωτεινότητα (luminance-L) του χρώματος, τη θέση του ανάμεσα στο κόκκινο και το πράσινο (a) και τη θέση ανάμεσα στο κίτρινο και το μπλε (b). Οι μη γραμμικές σχέσεις για τα L, a και b μιμούνται τη λογαριθμική απόκριση του ανθρώπινου ματιού.

Για να αντιπαραβληθούν οι κολποσκοπικές παρατηρήσεις με τους όρους: “θολό άσπρο”, “ενδιάμεσα θολό άσπρο” και “ημιδιαφανές άσπρο” ένας τριών κλάσεων K-means αλγόριθμος εφαρμόζεται για να κατηγοριοποιήσει την υποψήφια περιοχή σε τρία επίπεδα υπόλευκων περιοχών. Αυτές οι περιοχές ταξινομούνται σύμφωνα με μια τιμή που ονομάζεται score(i) και είναι συνάρτηση των  $a_i$  και  $b_i$  όπου τα  $a_i$  και  $b_i$  ορίζουν τις μέσες τιμές των a και b καναλιών αντίστοιχα, για την αντίστοιχη υπόλευκη περιοχή  $i (=1,2,3)$



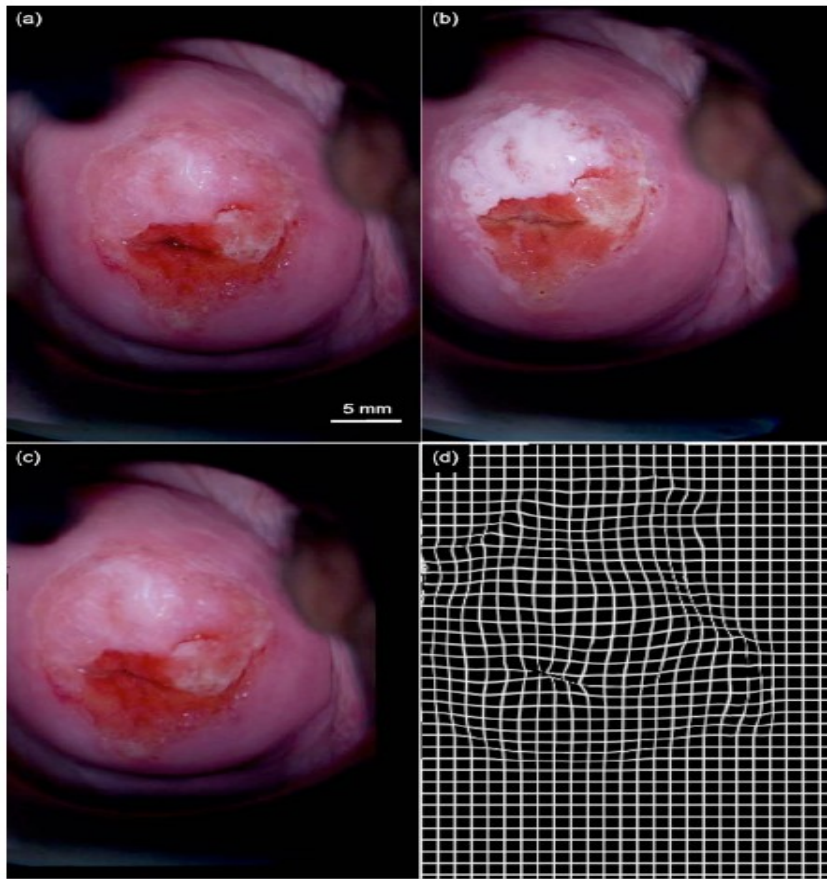
Εικόνα 46: Εξαγωγή acetowhite χρωματικής περιοχής (a) ιστόγραμμα 2-peak έντασης από ομοιογενές τραχηλικό ιστό και (b) ο ομοιογενής ιστός τμηματοποιείται ως acetowhite περιοχή (γκρι) και η ώριμη πλακώδης περιοχή (άσπρη) χρησιμοποιεί χρωματική πληροφορία. Η σκούρα περιοχή εντός της τραχηλικής περιοχής αντιστοιχεί στο τραχηλικό άνοιγμα, το κιονοειδές επιθήλιο και την περιοχή υφής



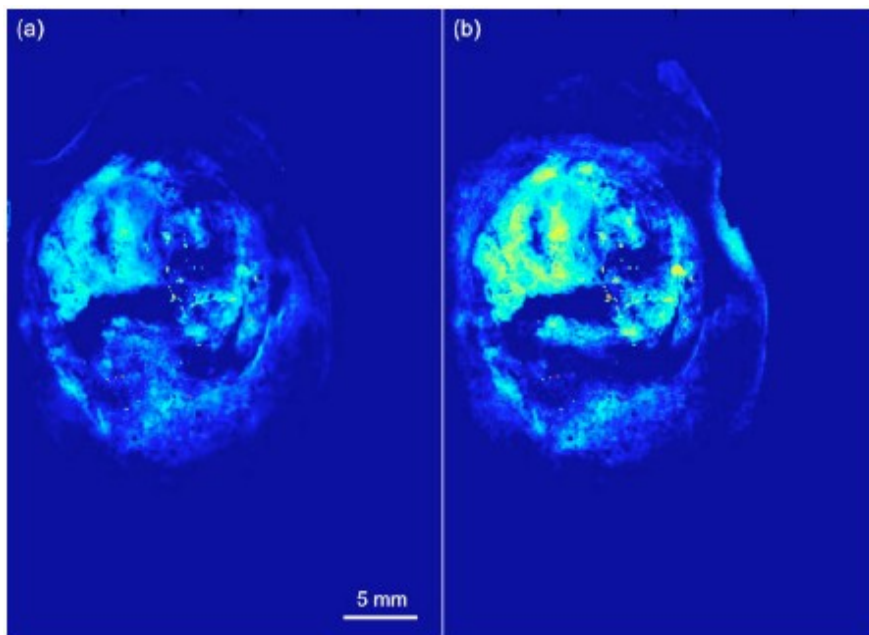
Εικόνα 47: Acetowhite ανάλυση χρώματος: (a) δυαδικός χάρτης της περιοχής υφής, (b) δυαδικός χάρτης των συνδυασμένων περιοχών υφής και acetowhite χρώματος, (c) αυτοματοποιημένη 3-επιπέδων ταξινόμηση χρησιμοποιώντας τη χρωματική πληροφορία

### Ελαστική καταγραφή των εικόνων

Στην κολποσκόπηση το AW επιθήλιο αναφέρεται στο επιθήλιο που παροδικά αλλάζει χρώμα από ροζ ή κόκκινο σε άσπρο μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Ένας περιορισμός στην ανάλυση χρώματος και υφής των μετά οξικού οξέος εικόνων είναι ότι αξιολογούν την ιδιότητα του AW επιθηλίου χωρικά. Για να εξεταστεί πόσο αλλάζει το χρώμα και η ένταση με την εφαρμογή οξικού οξέος αναλύεται η τραχηλική εικόνα πριν την εφαρμογή οξικού οξέος. Βασικό βήμα είναι η ευθυγράμμιση ή η καταγραφή των πριν και μετά οξικού οξέος εικόνων. Χρειάζονται περίπου 1-2 λεπτά για να εξελιχθεί το AW φαινόμενο. Παράλληλα μπορεί να υπάρξουν κινήσεις του ασθενή ή των συσκευών εξέτασης, οπότε οι μέθοδοι καταγραφής που βασίζονται σε γεωμετρικά χαρακτηριστικά συνήθως παρουσιάζουν χαμηλές επιδόσεις λόγω έλλειψης ακριβών χαρακτηριστικών. Έτσι υλοποιείται και ένας αλγόριθμος που λαμβάνει υπόψιν του αυτές τις κινήσεις στις πριν και μετά οξικού οξέος εικόνες. Η τεχνική ανάλυσης χρώματος και υφής εφαρμόζεται στις μετά οξικού οξέος εικόνες και η διαδικασία καταγραφής σχεδιάστηκε ώστε να διαμορφώνει την προ οξικού οξέος εικόνα και να την προσαρμόζει στην μετά οξικού οξέος εικόνα.



Εικόνα 48: Ελαστική εικόνα καταγραφής (a) πριν οξικού οξέος εικόνα, (b) μετά οξικού οξέος εικόνα, (c) ευθυγραμμισμένη προ οξικού οξέος εικόνα, και (d) εμφάνιση της κίνησης του μαλακού ιστού μετά την ερμηνεία



Εικόνα 49: Ανάλυση αδιαφάνειας: (a) διαφορά στο G κανάλι του RGB χρωματικού χώρου, και (b) διαφορά στο a κανάλι του CIE-Lab χρωματικού χώρου

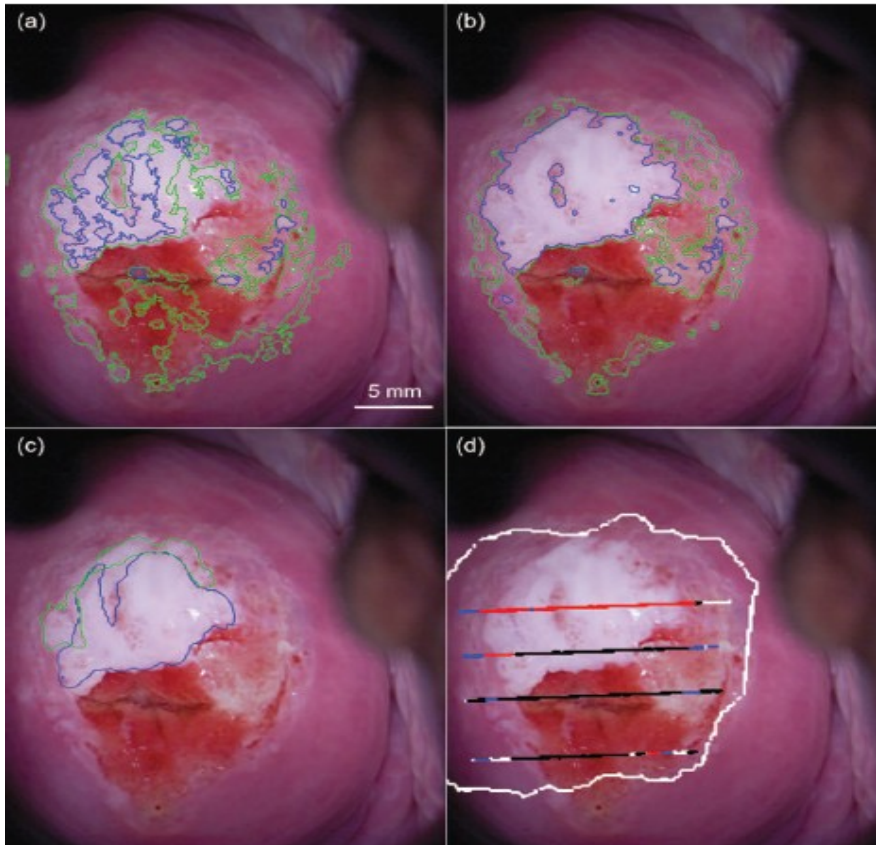
## Ανάλυση της AC αδιαφάνειας

Μετά την ευθυγράμμιση των εικόνων οι AW αλλαγές μπορούν να ληφθούν αφαιρώντας τις καταγεγραμμένες προ και μετά οξικού οξέος εικόνες. Υπάρχουν επιθηλιακά κύτταρα που αν και δεν παρουσιάζουν δυσπλασία εντούτοις γίνονται άσπρα μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Πρέπει όμως να αποκλειστούν από την περιοχή ενδιαφέροντος. Επειδή αυτές οι περιοχές παρουσιάζουν μικρές αλλαγές αδιαφάνειας ένας αλγόριθμος κατηγοριοποίησης two-step-mean-shift μπορεί να εφαρμοστεί. Το πρώτο βήμα διαχωρίζει την κυρίαρχη αλλαγή από μικρές αλλαγές και το δεύτερο βήμα διαχωρίζει την περισσότερο αδιαφανή αλλαγή από την περιοχή που αποκτήθηκε στο πρώτο βήμα. Έπειτα υπολογίζεται ένα εύρημα αδιαφάνειας ως η μέση χρωματική διαφορά των πιο αδιαφανών περιοχών.

$$\text{Opacity index} = \frac{1}{(2^n - 1)\Omega} \left[ \sum_{i,j} f'_k(i,j) - g_k(i,j) \right]^p * r(i,j)^{1/p}$$

όπου  $n$  είναι ο αριθμός των bits της εικόνας,  $f'_k$  είναι η καταγεγραμμένη προ οξικού οξέος εικόνα,  $g_k$  είναι η μετά οξικού οξέος εικόνα και οι δύο στο χρωματικό κανάλι της εικόνας ( $k=1,2,3$ ),  $r$  είναι η πιο αδιαφανής διαχωρισμένη περιοχή από την K-means κατηγοριοποίηση σε δυαδική μορφή,  $\Omega$  είναι ο αριθμός των προσκηνιακών pixels στην αδιαφανή περιοχή  $r$ . Το  $p$  για τη συγκεκριμένη έρευνα τίθεται ίσο με 1.

Στην προκειμένη περίπτωση χρησιμοποιείται το κανάλι  $a$  του χρωματικού χώρου CIE-Lab. Αντίθετα με το κανάλι  $L$ , ή κόκκινο, πράσινο και μπλε στον RGB χρωματικό χώρο, το κανάλι  $a$  δεν επηρεάζεται από την κατανομή του φωτός και την ένταση της πηγής του φωτός. Επίσης επειδή το χρώμα του τραχηλικού ιστού συνήθως αλλάζει από ροζ/κόκκινο σε άσπρο μετά το οξικό οξύ το κανάλι  $a$  επιλέγεται αντί του  $b$  για καλύτερη λήψη των τραχηλικών αλλαγών. Το τελικό AW επιθήλιο αποκτάται μετά από ομαδοποίηση των AW χρωματικών περιοχών με παρόμοιες τιμές αδιαφάνειας.

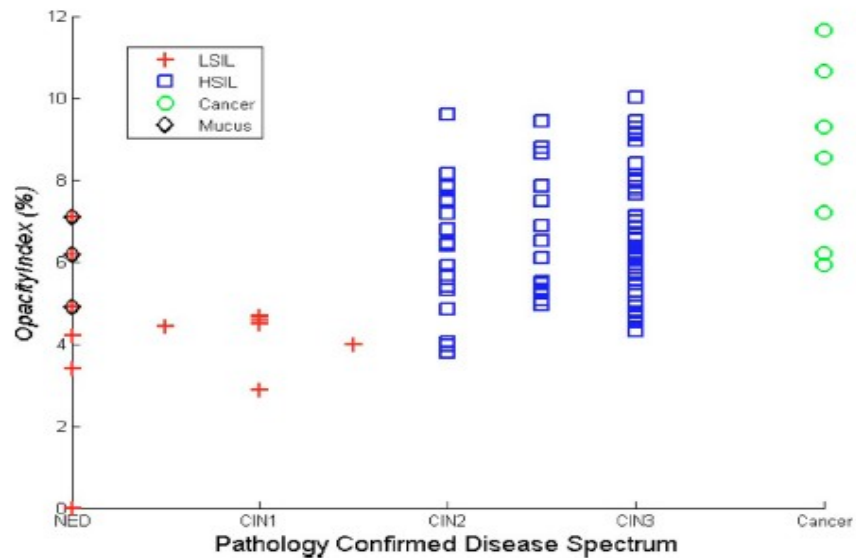


Εικόνα 50: (a) acetowhite ανάλυση αδιαφάνειας, μπλε αδιαφάνεια, πράσινη ενδιάμεση αδιαφάνεια, (b) τελική ανίχνευση acetowhite επιθηλίου, μπλε-πρώτο επίπεδο του άσπρου, πράσινο-δεύτερο επίπεδο του άσπρου, (c) κολποσκοπικός σχολιασμός, μπλε-αδιαφάνεια άσπρου, πράσινη-ενδιάμεση αδιαφάνεια άσπρου και, (d) ιστοπαθολογικά αποτελέσματα: άσπρο-φυσιολογικό, μαύρο-όχι επιθήλιο / καμένο επιθήλιο, μπλε-LSIL, κόκκινο-HSIL

## Αποτελέσματα

Η εικόνα 8 δείχνει ότι τα αποτελέσματα ανάλυσης AW επιθηλίου με HGSIL. Στην εικόνα 8(a) είναι τα αποτελέσματα της ανάλυσης αδιαφάνειας και περιοχές με μπλε περιγράμματα αφορούν στις πιο αδιαφανείς άσπρες αλλοιώσεις, ενώ περιοχές με πράσινα περιγράμματα αφορούν σε ενδεικτικές ή ενδιάμεσα αδιαφανείς άσπρες αλλοιώσεις. Η εικόνα 8(b) δείχνει το αποτέλεσμα της τελικής ανίχνευσης AW επιθηλίου που συνδυάζει την ανάλυση χρώματος και υφής με την ανάλυση αδιαφάνειας. Τα μπλε περιγράμματα αφορούν στο πρώτο επίπεδο AW περιοχών και τα πράσινα στο δεύτερο.

Συνδυάζοντας υφή, χρώμα και αδιαφάνεια οι διαφορετικές AW περιοχές συσχετίζονται με τα κολποσκοπικά ευρήματα, όπως φαίνεται στην εικόνα 8(c). Στην εικόνα αυτή οι κολποσκοπικές παρατηρήσεις του αδιαφανούς άσπρου και του ενδιάμεσου άσπρου υποδεικνύονται από μπλε και πράσινα περιγράμματα, αντίστοιχα. Η εικόνα 8(d) είναι ο ιστολογικός χάρτης της τραχηλικής εικόνας. Το άσπρο περίγραμμα υποδεικνύει το περίγραμμα των χαρτογραφημένων, αποκομμένων ευρημάτων, τα άσπρης, ίσιας γραμμής τμήματα είναι φυσιολογικό επιθήλιο, οι μαύρες γραμμές δεν υποδεικνύουν επιθήλιο, οι κόκκινες γραμμές είναι HGSIL και οι μπλε LGSIL.



Εικόνα 51: Συσχέτιση ανάμεσα στα στοιχεία αδιαφάνειας και το φάσμα ασθένειας από 99 ανθρώπινα δείγματα

Η τοποθεσία του AW επιθηλίου ανιχνεύεται από σύστημα ανάλυσης εικόνας και αξιολογείται χρησιμοποιώντας κολποσκοπικά κριτήρια. Τα true positive και true negative αποτελέσματα υπολογίζονται βάσει pixel-pixel αντιπαραβολής ανάμεσα στο αποτέλεσμα της αυτοματοποιημένης εικόνας και των κολποσκοπικών ευρημάτων. Ένα θετικό επί τοις εκατό ποσοστό συμφωνίας (PPA) και ένα αρνητικό επί τοις εκατό ποσοστό συμφωνίας (NPA) υπολογίζεται ως:

$$PPA = \frac{N_{true\ positive}}{N_{true\ positive} + N_{false\ negative}}$$

$$NPA = \frac{N_{true\ negative}}{N_{true\ negative} + N_{false\ positive}}$$

Για ένα υποσύνολο ασθενών με κολποσκοπικές παρατηρήσεις (53 ασθενείς) οι μέσες τιμές PPA και NPA υπολογιζόταν για την τραχηλική περιοχή, την περιοχή os, το κιονοειδές επιθήλιο και το AW επιθήλιο.

Τραχηλικά χαρακτηριστικά	PPA (%)	NPA (%)
Cervix	86.2	95.7
Cervical os	46.0	99.2
Columnar epithelium	68.1	96.8
AW epithelium	65.0	90.1

Πίνακας 4: Η επίδοση των συστημάτων ανάλυσης εικόνας συγκρινόμενη με τον κολποσκοπικό σχολιασμό

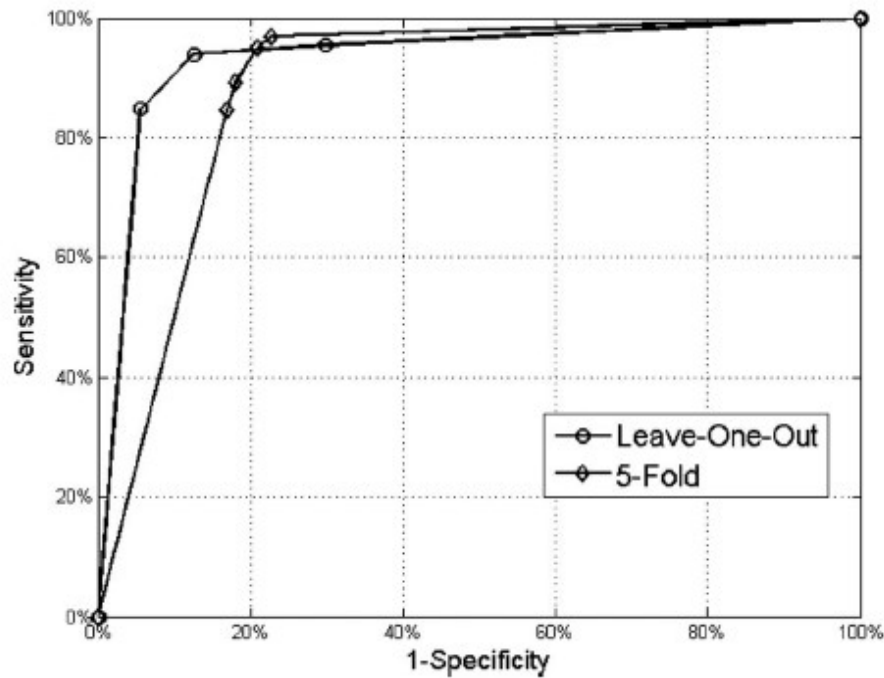
Η υψηλότερη τιμή PPA σημειώνεται για ταυτοποίηση του τραχήλου και η χαμηλότερη για ταυτοποίηση του τραχηλικού os. Όλο το NPA αποτέλεσμα ήταν στο 90% ή παραπάνω.

Το παραπάνω γράφημα παρουσιάζει τη σχέση ανάμεσα στην παθογένεια και τα αδιαφανή ευρήματα εξαγόμενα από εικόνες 99 ασθενών. Σε 92 ασθενείς έγινε μια τελική διάγνωση βασισμένη στα πιο σοβαρά ιστολογικά αποτελέσματα. Σε 7 ασθενείς δεν είχαν ληφθεί ιστολογικά δείγματα και για αυτούς η καλή διάγνωση χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο κριτήριο. Το “+” είναι φυσιολογικά κύτταρα ή με low grade αλλοιώσεις, τα “τετράγωνα” είναι high grade αλλοιώσεις (CIN1, CIN και CIN3) και οι “κύκλοι” είναι επεμβατικός-διηθητικός καρκίνος. Οι “ρόμβοι” είναι false positive εύρημα αδιαφάνειας. Οι φυσιολογικές ή low grade αλλοιώσεις έχουν χαμηλότερη αδιαφάνεια (<5%) από τις high grade και καρκινικές αλλοιώσεις.

Μια πολυπαραμετρική ανάλυση διαχωρισμού πραγματοποιείται και χρησιμοποιούνται δύο στρατηγικές εκπαίδευσης, για κατηγοριοποίηση των ασθενών σε κατηγορίες high και low grade παθογένειας. Η μια στρατηγική είναι η μέθοδος leave-one-out στην οποία το υποκείμενο προς εξέταση απομακρύνεται διαδοχικά από το σύνολο δεδομένων και ο κατηγοριοποιητής εκπαιδεύεται στα υπόλοιπα εναπομείναντα υποκείμενα και στο αποκλεισμένο υποκείμενο γίνεται διάγνωση και σύγκριση σύμφωνα με τα παθολογικά ευρήματα. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα υποκείμενα. Στη δεύτερη στρατηγική το σύνολο των δεδομένων χωρίζεται τυχαία σε 5 υποσύνολα (5 folds). Τέσσερα υποσύνολα χρησιμοποιούνται για εκπαίδευση και το τελευταίο υποσύνολο χρησιμοποιείται για αξιολόγηση. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται 5 φορές

χρησιμοποιώντας διαφορετικό υποσύνολο για αξιολόγηση κάθε φορά. Η διαδικασία και για τις δύο μεθόδους επαναλαμβάνεται 500 φορές αντίστοιχα.

Στην παραπάνω τεχνική η μέθοδος leave-one-out είχε καλύτερα αποτελέσματα από την 5-fold και παρουσίαζε ποσοστό ευαισθησίας 94% (έναντι της στρατηγικής 5-fold με ευαισθησία 89%) και ειδικότητας 87%. Άρα ένα συνεχές, ποσοτικό ευρετήριο αδιαφάνειας έχει υψηλή συσχέτιση στο διαχωρισμό high grade αλλοιώσεων από low grade και μπορεί να παρέχει ένα σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό σε ένα CAD σύστημα.



Εικόνα 52: ROC καμπύλες για το διαχωρισμό high-grade (CIN2 και παραπάνω) αλλοιώσεων από φυσιολογικές και low-grade αλλοιώσεις χρησιμοποιώντας δείγματα αδιαφάνειας

## Κατηγοριοποίηση χωρικού AW προτύπου χρησιμοποιώντας K-NN για ταυτοποίηση (προ)-καρκινικών τραχηλικών αλλοιώσεων σε κολποσκοπικές εικόνες (2009) [17]

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι η πρώτη αιτία θανάτου σε γυναίκες στο Μεξικό. Υπολογίζεται ότι κάθε δύο ώρες μια Μεξικανή γυναίκα πεθαίνει εξαιτίας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Μετά το Pap test, η κολποσκόπηση είναι η πιο χρησιμοποιημένη μέθοδος διάγνωσης της ασθένειας λόγω της υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας της.

Ένα πολύ σημαντικό κολποσκοπικό εύρημα είναι το επίπεδο της έντασης του άσπρου χρώματος που παρουσιάζουν τα κύτταρα του τραχηλικού επιθηλίου μετά την εφαρμογή σε αυτά οξικού οξέος. Το βασικό πρόβλημα όμως είναι η υποκειμενικότητα αυτής της εξέτασης, το ποσό και η ταχύτητα με την οποία συμβαίνουν αυτές οι χρωματικές αλλαγές μπορεί να γίνει αντιληπτό με διαφορετικό τρόπο από τον κάθε παραλήπτη. Άρα χρειάζονται μηχανισμοί που να ποσοτικοποιούν απόλυτα σχεδόν το χρώμα και την ταχύτητα αλλαγής.

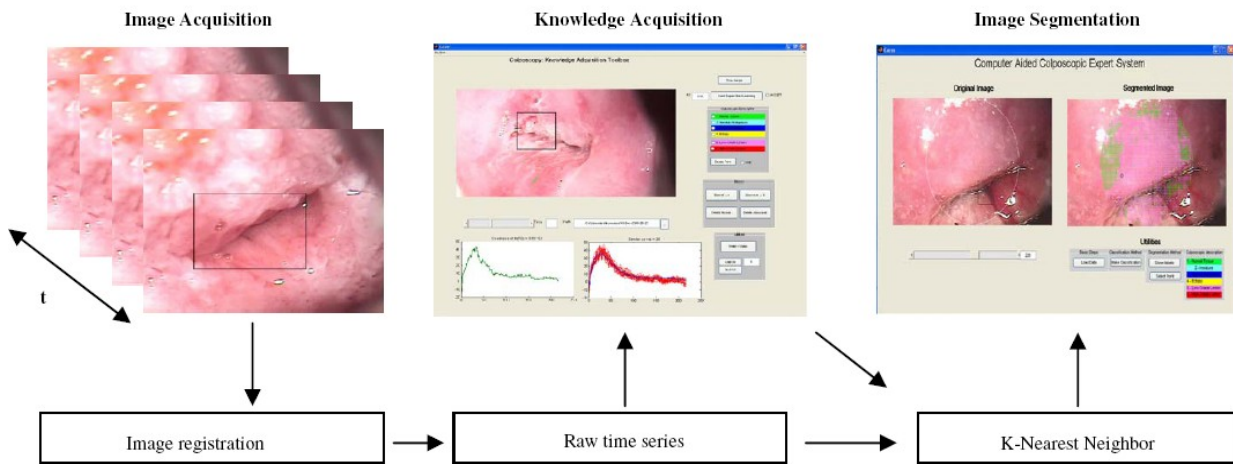
Είναι δύσκολο να βρεθεί βιβλιογραφικά ένας γενικά αποδεκτός βαθμός ευαισθησίας και ειδικότητας που μπορεί να σημειωθεί από έμπειρο κολποσκόπο, αλλά κατά μέσο όρο η εξέταση αυτή έχει ευαισθησία 98% και ειδικότητα 48%.

Μελέτες όπως του Μπάλα et.al χρησιμοποιήσαν τη φασματοσκοπία για να ερευνήσουν τη σχέση ανάμεσα στο AW πρότυπο και τις (προ)-καρκινικές τραχηλικές αλλοιώσεις. Εξετάστηκε η ένταση του οπισθοσκεδασμένου φωτός σε διάφορα μήκη κύματος και αποφασίστηκε ότι στα 525nm +/- 15 το οπισθοσκεδασμένο φως είναι υψηλότερο για (προ)-καρκινικές αλλαγές εξαιτίας της πήξης πρωτεϊνών στα κύτταρα και της απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης. Παρόλο που βρέθηκαν διαφορετικές μορφές χρονικών ακολουθιών για διαφορετικές (προ)-καρκινικές αλλοιώσεις, δε φάνηκε πως αυτό θα χρησιμοποιηθεί για κατάτμηση (segmentation) της εικόνας πέρα από την αφαίρεση των εικόνων πριν και μετά την εφαρμογή του οξικού οξέος.

Πρόσφατα ο Schmid-Saugeon μελέτησε διαφορετικές παραμέτρους για να ποσοτικοποιήσει τις AW αλλαγές. Μελέτησε το σήμα σε διαφορετικούς χρωματικούς χώρους (colour spaces), την τυποποίηση του σήματος χρησιμοποιώντας χρονική αναφορά (πριν την εφαρμογή οξικού οξέος), ώστε να παρουσιάζει τον απόλυτο ρυθμό αλλαγής ως ένα ποσοστό επί τοις εκατό σύμφωνα με τη χρονική αναφορά. Συμπέρανε ότι το πλάτος (amplitude) του σήματος δεν είναι αρκετό για να διαχωριστούν χρονικά πρότυπα που ανήκουν σε διαφορετικούς βαθμούς αλλοίωσης. Πρότεινε λοιπόν να χωριστεί το χρονικό μοτίβο σε τρεις περιοχές: α) τη φάση της αύξησης, β) τη φάση της μέγιστης αύξησης, γ) τη φάση της μείωσης. Χρησιμοποιώντας τις κλίσεις διαφορετικών τμημάτων του σήματος ως χαρακτηριστικά, χρησιμοποιεί ένα γραμμικό διαχωρισμό για να ξεχωρίζει τις φυσιολογικές από τις μη φυσιολογικές περιπτώσεις. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου αυτής ήταν εξίσου 88%. Το ποιας μορφής ατυπίες έχουν συμπεριληφθεί στις μελέτες του και το πως οι τύποι των αλλοιώσεων ομαδοποιούνται ως φυσιολογικές ή μη επηρεάζονται αντίστοιχα και τα αποτελέσματα. Σε φυσιολογικές περιπτώσεις συμπεριέλαβε τον υγιή ιστό, τη μεταπλασία και το CIN1 ενώ σε μη φυσιολογικές τα CIN2 και CIN3. Όμως δεν συμπεριλήφθηκαν περιπτώσεις όπως μη ώριμη ή ώριμη μεταπλασία. Όπως σημειώθηκε τελικά περισσότεροι τύποι ιστών πρέπει να ληφθούν υπόψιν στην ανάλυση και περισσότερα δεδομένα και καλύτερα συστήματα κατηγοριοποίησης πρέπει να ερευνηθούν.

Στην παρούσα έρευνα συγκρίνουμε τη μορφή των χρονικών μοτίβων για να ορίσουμε τις σχέσεις ανάμεσα σε παρόμοιες μορφές και τη σχέση αυτών των μοτίβων με συγκεκριμένους τύπους αλλοιώσεων. Η ανάλυση δε δείχνει μόνο αποτελέσματα από τις μικρές περιοχές από τις οποίες γίνονται οι βιοψίες αλλά συμπεριλαμβάνει και την κατάτμηση ολόκληρης της εικόνας κάτι το οποίο είναι πιο ρεαλιστικό. Αυτό είναι

εξαιρετικά σημαντικό από την άποψη ότι σε ένα πραγματικό υπολογιστικό σύστημα χρειάζεται η ανάλυση ολόκληρης της εικόνας μαζί με δεδομένα θορύβου και outliers (δεδομένα που είναι αριθμητικά απομακρυσμένα από άλλα δεδομένα). Χρησιμοποιούμε ολόκληρο το χρονικό μοτίβο για να αναπτύξουμε μια supervised μηχανή εκπαίδευσης (supervised machine learning-ML) χρησιμοποιώντας ML αλγόριθμο του K-NN (k-nearest neighbor).



Εικόνα 53: Σχήμα ανάλυσης δεδομένων

## Μέθοδοι και μέσα

Συμμετείχαν 38 γυναίκες, 22 με 35 χρονών με μη φυσιολογικό Pap test. Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα οξικού οξέος 3%. Μετά την κολποσκόπηση διενεργήθηκε βιοψία για να σταλούν δείγματα για ιστολογική ανάλυση και PCR τεστ.

## Συγκέντρωση δεδομένων

Οι εικόνες αποκτήθηκαν χρησιμοποιώντας ένα κολποσκόπιο dfv Vasconsellos CP-M7 με 16x μεγέθυνση χωρίς κανένα οπτικό φίλτρο. Η απόσταση εξέτασης ήταν 20cm και το πεδίο όρασης ήταν περίπου ένας κύκλος ακτίνας 13mm. Οι εικόνες συγκεντρώθηκαν χρησιμοποιώντας μια Sony SSC-DC50A κάμερα και λήπτη καρτέ (frame grabber) Matrox Meteor-II / Standard με HP workstation XW6000 με λογισμικό Matlab 7.0. Κατά τη διάρκεια των πρώτων 10 δευτερολέπτων συλλέχθηκαν 10 εικόνες (352x240) (1frame/sec) και μετά την εφαρμογή οξικού οξέος 300 εικόνες σε 5 λεπτά χρησιμοποιώντας την ίδια συχνότητα δειγματοληψίας. Οι εικόνες ελέγχου που λήφθηκαν στην αρχή κάθε δοκιμής είχαν διπλό ρόλο. Πρώτον, για να υπάρχει μια βάση αναφοράς για την αξιολόγηση του επί τοις εκατό ποσοστού αλλαγής του σήματος και δεύτερον για να εκτιμηθεί ο θόρυβος του σήματος. Κάθε εικόνα αποθηκεύτηκε μετά ως ένα ξεχωριστό BMP αρχείο. Παρόλο που αναπτύχθηκε ανάλυση για χρωματικές εικόνες υπάρχουν επίσης αποτελέσματα και για gray scale εικόνες που είναι παρόμοια.

## Ανάλυση δεδομένων

Η ακολουθία των εικόνων της κολποσκοπησης μπορεί να αναπαρασταθεί ως μια ακολουθία από  $t$  2D εικόνες  $I_i(x,y)$  με χρόνο συγκέντρωσης  $t < t+1$ . Η χρωματική διακύμανση κατά μήκος του χρόνου για κάθε pixel της εικόνας παρέχει μια χρονική ακολουθία. Η τελική εικόνα που προκύπτει μπορεί να μελετηθεί ως μια 3D εικόνα  $I(x,y,t)$  ορισμένη σε ένα χωρο-χρονικό πλαίσιο. Η μεθοδολογία που προτείνεται περιέχει τρεις βασικές διαδικασίες: προεπεξεργασία, εξαγωγή χρονικών ακολουθιών και supervised learning.

## Προεπεξεργασία

Η διαδικασία συγκέντρωσης κολποσκοπικών εικόνων διαρκεί 5 λεπτά και παρόλο που ο ασθενής παραμένει ακίνητος, κάποιες μικρές τυχαίες κινήσεις είναι αναπόφευκτες. Για να μπορέσουμε να αναλύσουμε την ακολουθία των εικόνων οι δομές των εικόνων πρέπει να έρθουν στην ίδια θέση αφαιρώντας τις διαφορές εξαιτίας κινήσεων του ασθενή -άρα οι κολποσκοπικές εικόνες πρέπει να ευθυγραμμιστούν. Αυτό το βήμα είναι σημαντικό, ο στόχος της χωρικής ευθυγράμμισης των 2D εικόνων είναι να γίνει δυνατή η σύγκριση ανάμεσα στις αντίστοιχες ανατομικές θέσεις. Πρέπει να επιλεγεί η κατάλληλη μέθοδος, μέσα από πολλές, σύμφωνα με τις αναμενόμενες γεωμετρικές διαφορές και τον τύπο των δεδομένων. Η μη ευθυγράμμιση των κολποσκοπικών εικόνων μπορεί να μοντελοποιηθεί με απλή ερμηνεία, η μέθοδος μπορεί να μετασχηματίσει όλα τα δεδομένα χρησιμοποιώντας ίδιες παραμέτρους ή μπορεί να είναι τοπική ανάλογα με τις τοπικές διακυμάνσεις. Μπορεί να βασιστεί άμεσα στις τιμές έντασης της εικόνας ή να εκτελεστεί χρησιμοποιώντας κάποια χαρακτηριστικά υπολογισμένα από τις εντάσεις. Επειδή οι κολποσκοπικές εικόνες δεν περιέχουν αρκετές διακριτές λεπτομέρειες επιλέγεται η μέθοδος που βασίζεται στις τιμές έντασης. Κλασικός αντιπρόσωπος αυτής της μεθόδου είναι το ομαλοποιημένο cross-correlation (CC). Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται απευθείας τις εντάσεις της εικόνας και αυτός ο υπολογισμός ομοιότητας υπολογίζεται για ζευγάρια παραθύρων από την είσοδο και εικόνες αναφοράς και ερευνάται το μέγιστο (μέγιστη τιμή).

Η είσοδος και οι εικόνες αναφοράς ανανεώνονται συνεχώς ξεκινώντας από την πρώτη και δεύτερη εικόνα της ακολουθίας και μετά η είσοδος και οι εικόνες αναφοράς επαναορίζονται από τη δεύτερη και τρίτη εικόνα κ.ο.κ. Το σημείο αρχικοποίησης της έρευνας ανανεώνεται από την τελευταία θέση στην οποία βρέθηκε το πρότυπο παραθύρου. Η στρατηγική καταγραφής επιτρέπει όχι μόνο να αντιμετωπιστεί το γεγονός ότι το εξεταζόμενο πρότυπο αλλάζει κατά τη διάρκεια του χρόνου αλλά επίσης μειώνει το χωρικό κενό πάνω στο οποίο αναπτύσσεται η έρευνα. Επειδή οι τραχηλικές αλλοιώσεις εξαπλώνονται στον ιστό κατά περιοχές (δημιουργώντας περιοχές με ομοιογενή ιστό) δεν είναι κατάλληλη μια υψηλή χωρική ανάλυση. Άρα μετά την καταγραφή η χωρική ανάλυση μειώνεται κατά 50% του αρχικού μεγέθους.

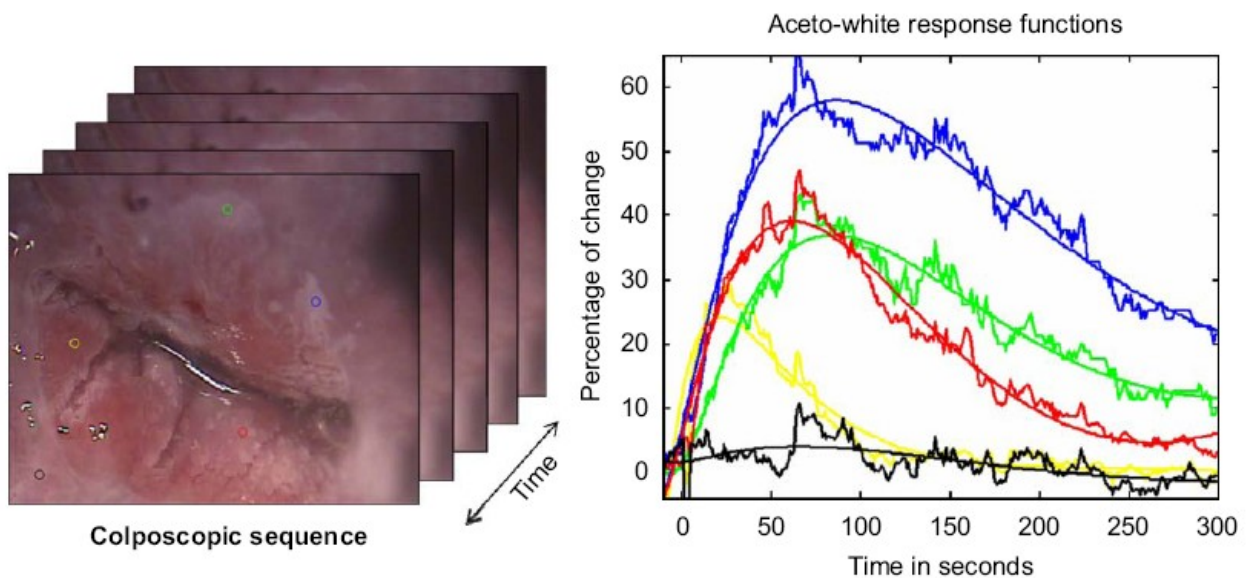
## Εξαγωγή χρονικών ακολουθιών

Το σύνολο των κολποσκοπικών εικόνων θεωρείται ως ένας χωροχρονικός πίνακας δεδομένων. Έστω ότι ο ImageCube(m,n,t) αντιπροσωπεύει μια στοίβα από t εικόνες μεγέθους (m,n). Άρα υπάρχουν (m x n) pixels καθένα από τα οποία είναι μια χρονική ακολουθία μήκους t. Έστω ότι r(i,j) αντιπροσωπεύει το χρώμα του pixel (i,j) i=1...m και j=1...n.

Η τιμή έντασης του κάθε pixel κατά μήκος του χρόνου χρησιμοποιείται για να δημιουργήσουμε μια χρονική ακολουθία που ονομάζεται συνάρτηση απόκρισης του AW (Awrf). Προκειμένου να γίνει smoothing στο σήμα προτείνεται το ακόλουθο πολυωνυμικό μοντέλο ως συνάρτηση του χρόνου.

$$Awrf(t) = \theta_0 + \theta_1 t + \frac{\theta_2}{t} + \frac{\theta_3}{t^2} + \frac{\theta_4}{t^3}$$

Ως ένας τρόπος τυποποίησης ώστε να αποφευχθεί η σύγκριση ανάμεσα σε διαφορετικά υποκείμενα εξέτασης οι τιμές κάθε χρονικού προτύπου διαιρούνται με τη μέση τιμή της βασικής περιόδου. Το τελικό πλάτος του Awrf υπολογίζεται μετά ως ένα επί τοις εκατό ποσοστό αλλαγής σύμφωνα με την αρχική.



Εικόνα 54: Acetowhite response functions. Στα δεξιά, τα χρονικά στιγμιότυπα παρατηρούμενα στα pixels υποδηλώνονται από τελείες στην αριστερή εικόνα. Όπως μπορεί να εκτιμηθεί, διαφορετικοί τύποι ιστών παράγουν Awrf με διαφορετικό ποσοστό αλλαγής, ταχύτητα αύξησης και μείωσης. Δίπλα σε κάθε γραμμή Awrf φαίνεται και το πολυωνυμικό του μοντέλο

## Supervised learning

Το supervised learning είναι μια μέθοδος κατασκευής μοντέλων από ένα σύνολο παρατηρήσεων που παρουσιάζονται ως παραδείγματα. Ο στόχος αυτών των μεθόδων είναι να προβλέψουν την κλάση μιας αφανούς παρατήρησης δεδομένης της γνώσης (μοντέλου) που εξήχθη από τα δεδομένα εκπαίδευσης. Τα δεδομένα εκπαίδευσης μπορούν να θεωρηθούν ως μια βάση δεδομένων που περιέχει παρατηρήσεις και την αντίστοιχη κλάση τους. Όταν η τιμή μιας κλάσης είναι απόλυτη το supervised learning ονομάζεται κατηγοριοποίηση (classification). Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για να γίνει κατηγοριοποίηση

όπως K-NN (K-nearest neighbor), δέντρα απόφασης (decision trees), νευρωνικά δίκτυα (neural networks). Η επιλογή της μεθόδου βασίζεται στο είδος των δεδομένων και σε υποθέσεις και τις περισσότερες φορές επιλέγεται εμπειρικά. Ένα σύνολο κολποσκοπικών δεδομένων μπορεί να εξεταστεί ως μια βάση δεδομένων χρονικών ακολουθιών, το μέρος της κατηγοριοποίησης αποτελείται από την εύρεση παρόμοιων χρονικών προτύπων με σύνηθες σχήμα που ανήκουν στον ίδιο τύπο αλλοιώσεων.

Η έρευνα ενδιαφέρεται για την ερμηνεία της σχέσης ανάμεσα στα συνήθη σχήματα και την κλάση των αλλοιώσεων. Προτείνεται η χρήση smoothed πολυωνυμικού Awrf ως μοναδικό χαρακτηριστικό και ο KNN κατηγοριοποιητής. Αυτή η μέθοδος είναι ένας άμεσος τρόπος να μελετηθεί η σχέση ανάμεσα στις μορφές των χρονικών προτύπων και στους αντίστοιχους τύπους ιστών.

### KNN αλγόριθμος κατηγοριοποίησης

Είναι ο απλός αλγόριθμος για machine learning. Η βασική ιδέα του είναι ότι δεδομένης μιας μη κατηγοριοποιημένης παρατήρησης ο αλγόριθμος προσδιορίζει την κλάση αυτών των παρατηρήσεων των δεδομένων εκπαίδευσης που είναι παρόμοια με τη νέα περίπτωση. Η παράμετρος  $k$  μπορεί να πάρει διαφορετικές τιμές, όταν είναι ίση με 1 η νέα παρατήρηση μπαίνει στην κλάση της πιο παρόμοιας περίπτωσης των δεδομένων εκπαίδευσης αλλιώς αν  $k > 1$  η νέα παρατήρηση μπαίνει στην κλάση των πιο συχνών  $k$ -κοντινών γειτόνων (k-nearest neighbors). Κάτω από αυτήν την προσέγγιση δεν υπάρχει μόνο ένα μοντέλο κατασκευής και για κάθε νέα παρατήρηση το ολοκληρωμένο σύνολο των δεδομένων εκπαίδευσης πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν. Αυτό ονομάζεται “τεμπέλικη αξιολόγηση” (lazy evaluation). Πολλές μετρικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αναπτυχθούν κριτήρια ομοιότητας όπως το πιο σύνηθες που είναι η ευκλείδεια απόσταση.

### Ακρίβεια κατηγοριοποίησης

Η λειτουργία ενός αλγορίθμου κατηγοριοποίησης αξιολογείται χρησιμοποιώντας διαφορετικές μετρικές που οι πιο συνήθεις είναι η ακρίβεια, η ευαισθησία και η ειδικότητα. Όλες οι μετρικές χρησιμοποιούν έναν confusion matrix για να εκτιμήσουν το επί τοις εκατό ποσοστό της παρατήρησης που ανατίθεται στη σωστή κλάση κατά την κατηγοριοποίηση.

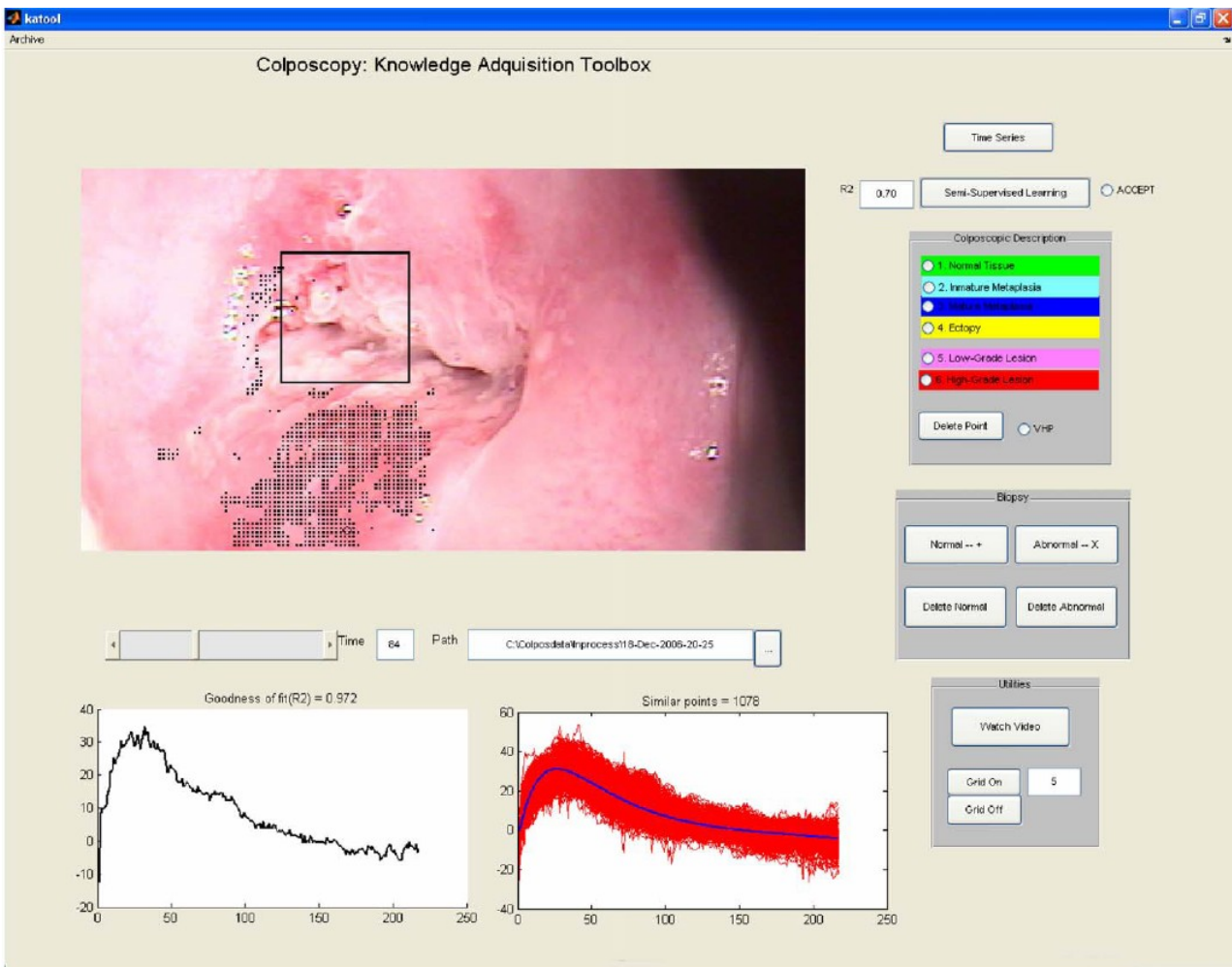
Ένας τέτοιος πίνακας είναι και ο παρακάτω:

Real / predicted	Positive	Negative
Positive	True positive	False negative
Negative	False positive	True negative

Πίνακας 5: Confusion matrix

Η ακρίβεια στη διαδικασία κατηγοριοποίησης υπολογίζεται ως ο λόγος των true positive συν true negative παρατηρήσεων προς το συνολικό αριθμό των παρατηρήσεων. Η ευαισθησία υπολογίζεται ως ο λόγος των true positive παρατηρήσεων προς το άθροισμα των true positive συν false negative παρατηρήσεων. Η ειδικότητα υπολογίζεται ως ο λόγος των true negative παρατηρήσεων προς το άθροισμα των true negative συν false positive παρατηρήσεων.

Όλες αυτές οι μετρικές αξιολόγησης της κατηγοριοποίησης υπολογίζονται χωρίζοντας τη βάση δεδομένων σε 2 σύνολα. Το πρώτο σύνολο χρησιμοποιείται για να εκπαιδεύσει τον αλγόριθμο και το δεύτερο χρησιμοποιείται για να επικυρώσει τη λειτουργία του κατηγοριοποιητή μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται cross-validation. Στην παρούσα εργασία το σύνολο εκπαίδευσης συμμορφώνεται με την παρατήρηση όλων των ασθενών εκτός από ένα, το σύνολο επικύρωσης συμμορφώνεται με την παρατήρηση του ασθενούς που αποκλείστηκε από το σύνολο εκπαίδευσης και αυτό επαναλαμβάνεται για όλες τις περιπτώσεις. Αυτό ονομάζεται leave-one-out cross-validation.



Εικόνα 55: Διεπαφή συγκέντρωσης γραφικών. Χρησιμοποιώντας αυτό το εργαλείο, ο χρήστης μπορεί να σημειώσει μια ετικέτα σε κάθε αντιπροσωπευτική περιοχή του ιστού. Η συνάρτηση Awrf κάθε επιλεγμένου pixel της εικόνας εμφανίζεται σε ένα ξεχωριστό παράθυρο. Σε μια semi-supervised εκδοχή, για κάθε επιλεγμένο pixel, προτείνεται στο χρήστη ένα σύνολο από pixels με παρόμοια συνάρτηση Awrf ώστε να απλοποιηθεί η διαδικασία σημείωσης με ετικέτες των κλάσεων

## Αποτελέσματα

Η καταγραφή των εικόνων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την τεχνική cross-correlation. Το παράθυρο έρευνας ορίστηκε επιλέγοντας μια περιοχή χαρακτηριστικών στην οποία κάποια ανατομικά χαρακτηριστικά εμφανίζουν υψηλά επίπεδα αντίθεσης (contrast), όπως η τραχηλική σπή. Σε αυτές τις περιπτώσεις στις οποίες η τραχηλική σπή δεν ήταν μια καλή αναφορά εφαρμόζεται ως διαγνωστικός δείκτης το διάλυμα Lugol. Μόλις καταγραφόταν το σύνολο δεδομένων, ο κολποσκοπός όριζε σημεία των κολποσκοπικών εικόνων αποτελεσμάτων για κάθε ασθενή ώστε να δημιουργηθούν κλάσεις αντιπροσωπευτικών περιοχών. Για να διευκολυνθεί αυτό αναπτύχθηκε μια γραφική διεπαφή ώστε ο κολποσκοπός να μπορεί να δει ολόκληρη την εικόνα των κολποσκοπικών αποτελεσμάτων. Επίσης μπορούσε να επιλέξει τις εικόνες σε διαφορετικές στιγμές ώστε να παρατηρήσει τις AW αλλαγές.

Βάσει των αποτελεσμάτων που καταγράφηκαν ιστολογικά ο ειδικός επέλεγε ένα pixel της εικόνας ώστε να το χαρακτηρίσει ως: φυσιολογικό ιστό, πρώιμη μεταπλασία, ώριμη μεταπλασία, εκτρόπιο, low grade αλλοίωση ή high grade αλλοίωση, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Κλάση	Ασθενείς	Παρατηρήσεις
Normal tissue (-)	11	851
Immature metaplasia (-)	7	156
Mature metaplasia (-)	5	189
Ectopy (-)	2	91
Low grade lesion (+)	26	1164
High grade lesion (+)	3	123

Πίνακας 6: Βάση δεδομένων (database)

Μόλις καταγραφόταν τα αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ιστών από κάθε ασθενή, κατασκευαζόταν μια χωρο-χρονική βάση δεδομένων που περιείχε την ταυτότητα του ασθενή, τη χωρική θέση παρατήρησης της εικόνας, την κλάση και το χρονικό πρότυπο που εξαγόταν από τη στερεοσκοπική ακολουθία σε σχέση με αυτή τη θέση. Η διαδικασία κατηγοριοποίησης υλοποιούνταν με K-NN αλγόριθμο, χρησιμοποιώντας  $k=1, 10$  και  $20$ . Η ευκλείδεια απόσταση χρησιμοποιείται ως μέτρο ομοιότητας. Η λειτουργία κατηγοριοποίησης εφαρμόζεται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο leave-one-out cross-validation. Ακολουθώντας τις συμβουλές του έμπειρου κολποσκοπού, η κλάση χωρίζεται σε δύο κατηγορίες: φυσιολογικό ιστό (φυσιολογικό ιστό, πρώιμη μεταπλασία, ώριμη μεταπλασία, εκτρόπιο) και μη φυσιολογικό ιστό (low grade αλλοίωση, high grade αλλοίωση). Επειδή η βάση δεδομένων περιέχει περισσότερες παρατηρήσεις για τη μη φυσιολογική κατηγορία, οι παρατηρήσεις εξισορροπούνται χρησιμοποιώντας υποδειγματοληψία στην κλάση πλειοψηφίας.

Τα αποτελέσματα κατηγοριοποίησης φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

k value	sensitivity	specificity
1	73	54
10	72	56
20	71	59

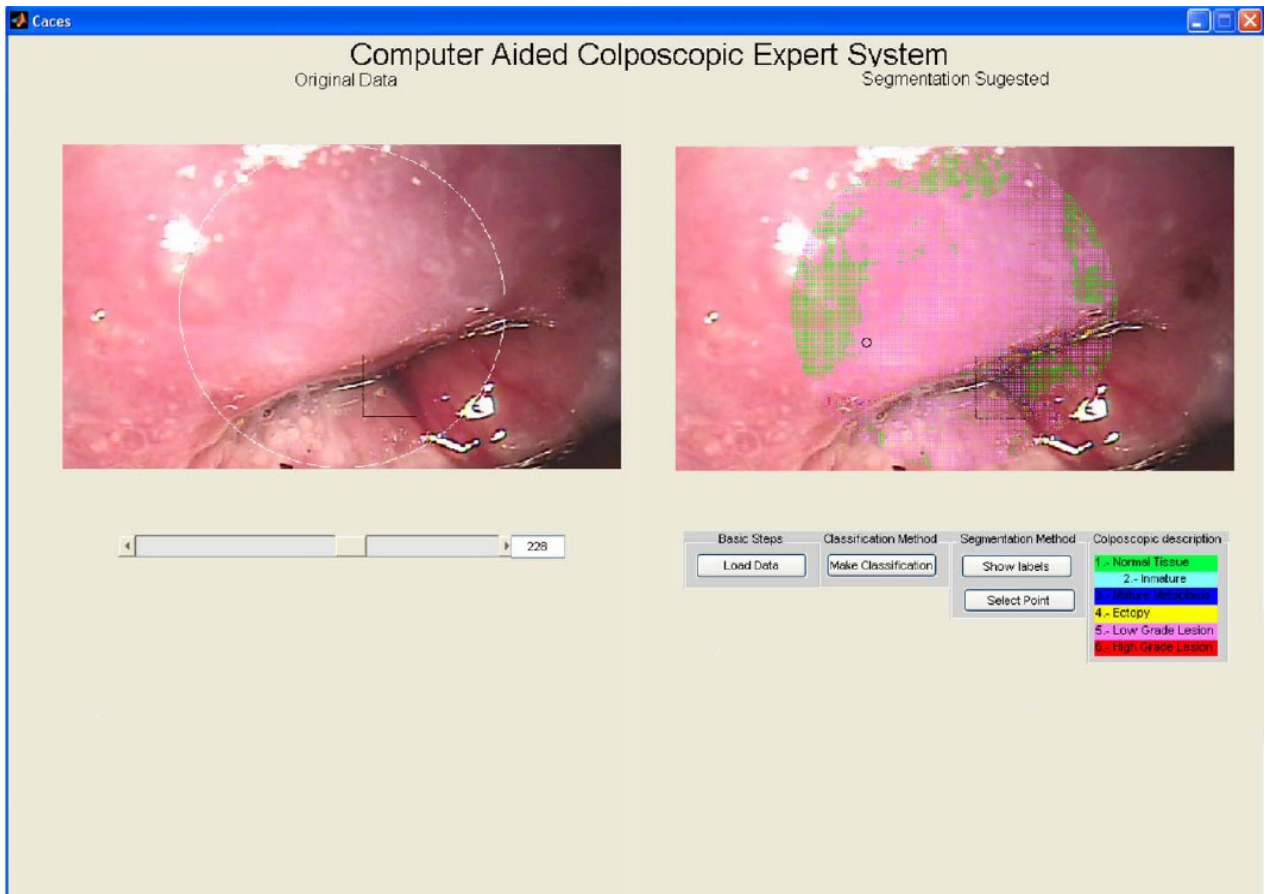
Πίνακας 7: Επιδόσεις της κατηγοριοποίησης

Επίσης εφαρμόστηκε supervised learning σε ολόκληρη την εικόνα, το οποίο σημαίνει όχι μόνο σε εκείνες τις θέσεις (pixels) που επιλέγονται από τον κλινικό γιατρό κατά την κατηγοριοποίηση. Σε αυτή την ανάλυση η κατηγοριοποίηση αναπτύχθηκε με έναν παρόμοιο τρόπο όπως πριν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο leave-one-out. Ωστόσο, σε αυτή την περίπτωση, όλα τα χρονικά πρότυπα που ανήκαν σε ολόκληρη την εικόνα, συμπεριλαμβάνονταν στο σύνολο αξιολόγησης. Όπως είναι φανερό, κάτω από αυτή την προσέγγιση δεν είναι δυνατόν να αξιολογηθεί η λειτουργία της διαδικασίας κατηγοριοποίησης επειδή ολόκληρη η εικόνα δεν κατηγοριοποιείται κατά τη διαδικασία δημιουργίας των κλάσεων. Ωστόσο, αξιολογούνται οπτικά από τον ειδικό, συμπεριλαμβάνοντας ότι τα αποτελέσματα τμηματοποίησης είναι συναφή με αυτά που εισήχθησαν στο σύνολο εκπαίδευσης.

Η παραπάνω εργασία κατέγραψε την τμηματοποίηση ολόκληρης της εικόνας χρησιμοποιώντας το AW φαινόμενο, ωστόσο δε χρησιμοποιήθηκε ολόκληρο το AW χρονικό πρότυπο.

### Συμπεράσματα

Από την παραπάνω πιλοτική έρευνα φαίνεται ότι τα φυσιολογικά και μη φυσιολογικά κολποσκοπικά ευρήματα μπορούν να διαχωριστούν, χρησιμοποιώντας τη χρονική πληροφορία, εγγενή της αλλαγής του χρώματος κατά το φαινόμενο AW. Η μορφή των χρονικών προτύπων (Awrfs) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τμηματοποίηση της κολποσκοπικής εικόνας. Παρόλα αυτά, έχουν προταθεί κάποιες προσεγγίσεις για ανάλυση των κολποσκοπικών εικόνων χρησιμοποιώντας χρονικά πρότυπα, κανένα από τα οποία δεν έχει αναπτύξει μια ολοκληρωμένη μεθοδολογία ανάλυσης των κολποσκοπικών ακολουθιών προκειμένου να τμηματοποιηθεί αυτόματα ολόκληρη η εικόνα. Η παραπάνω τεχνική είναι από τις πιο εύκολες τεχνικές κατηγοριοποίησης και ξεπερνάει την ειδικότητα κατηγοριοποίησης από ειδικό κολποσκόπο (59% και 48%), ωστόσο η ευαισθησία του K-NN αλγορίθμου είναι χαμηλότερη από αυτήν ενός κολποσκόπου (71% και 98%). Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι κάποιες μη φυσιολογικές παρατηρήσεις όπως leukoplakia φαίνεται επίσης άσπρη πριν την εφαρμογή οξικού οξέος και το χρονικό του πρότυπο είναι περίπου επίπεδο, με παρόμοιο σχήμα όπως ο φυσιολογικός ιστός.



Εικόνα 56: Τμηματοποίηση κολποσκοπικών εικόνων. Η εικόνα στα αριστερά δείχνει την αρχική άγνωστη κολποσκοπική ακολουθία που δίνεται από τον ταξινομητή. Στα δεξιά, η εικόνα δείχνει τις ετικέτες (labels) που προτείνονται από το εργαλείο τμηματοποίησης. Μόνο το κεντρικό μέρος της εικόνας, σημειωμένο με τον κύκλο, αναλύεται ώστε να αποφευχθούν αντικείμενα που εισάγονται από ετερογένειες φωτισμού στην περιφέρεια

## Λόγοι αναγκαιότητας εύρεσης αντικειμενικών μεθόδων διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Η έγκαιρη ανίχνευση, (άρα και η αυξημένη πιθανότητα θεραπείας) του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, που μάλιστα δε βασίζεται σε υποκειμενικά αλλά σε αντικειμενικά κριτήρια, παραμένει μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις για τους επιστήμονες, οι οποίοι συνεχίζουν τις έρευνές τους προς αυτή την κατεύθυνση.

Δεδομένου των παραπάνω και της συνεχόμενης αύξησης των κρουσμάτων και στις αναπτυσσόμενες χώρες, είναι εμφανής η αναγκαιότητα εύρεσης αντικειμενικών, αποδοτικών και μη δαπανηρών διαγνωστικών μεθόδων.

Η κυτταρολογική και ιστολογική εξέταση ανίχνευσης των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας βασίζονται σε εξέταση ιστών εκτός ζωντανού οργανισμού (in vitro). Τα τελευταία χρόνια, μεγάλος αριθμός διαγνωστικών μεθόδων βασίζεται σε τεχνικές οπτικής μοριακής απεικόνισης των ιστών όπου η χρήση διαγνωστικών δεικτών (biomarkers) καθιστά δυνατή την αλλαγή των οπτικών ιδιοτήτων του παθολογικού ιστού (π.χ τα χαρακτηριστικά σκέδασης). Η in vivo (εξέταση εντός ζωντανού οργανισμού) παρακολούθηση του δυναμικού φαινομένου μπορεί να οδηγήσει σε διάγνωση καθώς και κατανόηση της δομής του παθολογικού ιστού.

Η εργασία αυτή λοιπόν, ανοίγει ένα νέο κεφάλαιο εκτίμησης της σημασίας των χαρακτηριστικών των δυναμικών οπτικών σημάτων. Η σύγχρονη βιοϊατρική μελέτη στοχεύει στην κατασκευή έγκυρων διαγνωστικών εργαλείων που παρέχουν εξέταση σε ζωντανό οργανισμό (in vivo) και άμεση, μη χρονοβόρα εξαγωγή αποτελεσμάτων με δυνατότητα οπτικής παρακολούθησης-ανάγνωσης μέσω οθόνης. Το ιατρικό μηχάνημα DYSIS παρέχει in vivo (εντός ζωντανού οργανισμού) ανίχνευση των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας και τείνει να αντικαταστήσει την κλασική μέθοδο της κολποσκόπησης.

### Το ιατρικό μηχάνημα DYSIS

Το DYSIS είναι η πρώτη, φέρουσα τη σήμανση CE, ιατρική συσκευή στον κόσμο που χρησιμοποιεί παράλληλα την ψηφιακή και τη δυναμική τεχνολογία φασματικής απεικόνισης για την παροχή βοήθειας και αυτοματοποίησης, ανεξαρτήτως χρήστη, ανίχνευσης και χαρτογράφησης των νεοπλασιών του τραχήλου της μήτρας in vivo (σε ζωντανό οργανισμό).

Τώρα πια το DYSIS αναδύεται ως η επόμενη γενιά απεικονιστικής τεχνολογίας για κολποσκόπους στον 21ο αιώνα. Το DYSIS ενσωματώνει μια σειρά από ρηξικέλευθες καινοτομίες που είναι αποτέλεσμα ενός, περισσότερο από μιας δεκαετίας, πρωτοποριακού ερευνητικού έργου.

Ο πυρήνας της τεχνολογίας του DYSIS βασίζεται στην ποσοτική αξιολόγηση και χαρτογράφηση των δυναμικών χαρακτηριστικών του acetowhitening. Από τη σύλληψη έως την εφαρμογή, καινοτόμες, οπτοηλεκτρονικές λύσεις ψηφιακής απεικόνισης έχουν αναπτυχθεί σε συνδυασμό με (CAD) εργαλεία σε ένα εξαιρετικά εργονομικό και φιλικό προς το χρήστη πακέτο. Το DYSIS είναι έτοιμο να αντικαταστήσει τις συμβατικές μεθόδους κολποσκόπησης προσφέροντας καθοδήγηση για την ανίχνευση νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας in vivo. Επίσης παρέχει ψηφιακή χαρτογράφηση των ανώμαλων περιοχών, καθοδήγηση για βιοψία, δειγματοληψία και στοχευμένη παρακολούθηση. Αυτά τα μοναδικά πλεονεκτήματα επιτυγχάνονται ενώ, διατηρείται το πρότυπο της διαδικασίας κολποσκοπικής εξέτασης.

Σε μια πολυκλινική δοκιμή – μελέτη το DYSIS απέδειξε αξιοσημείωτα ανώτερες επιδόσεις σε σχέση με συμβατικά μέσα κυτταρολογίας και κολποσκόπησης κάνοντας διακρίσεις ανάμεσα σε υψηλού και χαμηλού βαθμού νεοπλασίες (high-grade – low-grade neoplasia). Επιπλέον, η από DYSIS καθοδηγούμενη βιοψία – δειγματοληψία έδειξε ανώτερη ακρίβεια από την απλή κολποσκόπηση στη λήψη δειγμάτων.

Το μηχάνημα DYSIS είναι έτοιμο να φέρει την επανάσταση στη μέθοδο κολποσκόπησης επιτυγχάνοντας, ανεξαρτήτου χρήστη, υψηλή αρχική απόδοση. Αυτό θα αναβαθμίσει το ρόλο της κολποσκόπησης στη διαγνωστική αλυσίδα των νεοπλασιών του τραχήλου της μήτρας με εμφανή τα οφέλη στους χρήστες του DYSIS και στην υγεία του κοινωνικού συνόλου γενικά.

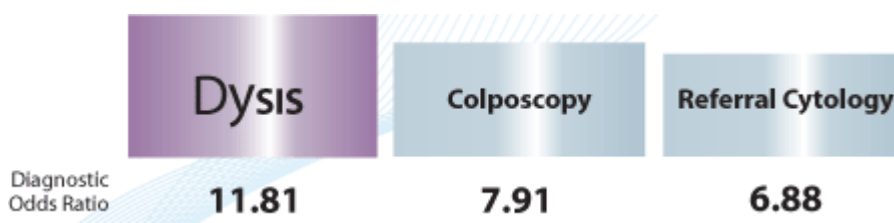
### Τα κλινικά στοιχεία

Το DYSIS έχει δοκιμαστεί σε μια μεγάλη πολυκλινική μελέτη με εγγεγραμμένες 447 γυναίκες. Η μελέτη, σχεδιασμένη ως ένα πολυκέντρο, μη τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών, πραγματοποιήθηκε σε συμφωνία με τη Δήλωση του Ελσίνκι και τις κατευθυντήριες γραμμές του ISO 14155-1 (2003).

Σκοπός της μελέτης ήταν η σύγκριση των επιδόσεων των DYSIS με συμβατικά μέσα κολποσκόπησης και κυτταρολογίας στη διάκριση υψηλού και χαμηλού βαθμού νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας. Η καμπύλη δέκτη-φορέα (ROC) του DYSIS είχε μια περιοχή κάτω από την καμπύλη του 0,844, αποδεικνύοντας μια εξαιρετική επίδοση. Η βελτίωση της συνολικής απόδοσης αποδεικνύεται από το λόγο διαγνωστικών πιθανοτήτων (Diagnostic Odds Ratio - DOR) που παρουσιάζονται συγκριτικά παρακάτω:

	DYSIS	Κολποσκόπηση	Παραπομπή Κυτταρολογίας
DOR	11.81	7.91	6.88

Πίνακας 8: DYSIS DOR



Εικόνα 57: DYSIS Diagnostic Odds Ratio (DYSIS DOR)

Σε αυτή τη μελέτη το DOR του DYSIS ήταν 71% υψηλότερο από αυτό της κυτταρολογίας και 49% υψηλότερο από αυτό της κολποσκόπησης.

Το DYSIS ανίχνευσε 22 περιπτώσεις υψηλού βαθμού νεοπλασιών που πέρασαν απαρατήρητες όμως από τις συμβατικές μεθόδους κολποσκόπησης. Η DYSIS τεχνολογία επιτυγχάνει αποτελέσματα ακολουθώντας αντικειμενική και ποσοτική διαδικασία παρά την υποκειμενική εντύπωση ενός έμπειρου κολποσκόπου.

Το DYSIS ενσωματώνει την πλέον προηγμένη οπτική και ψηφιακή τεχνολογία σε ένα εξαιρετικά εργονομικό και φιλικό προς το χρήστη πακέτο, το οποίο περιλαμβάνει:

- A) Ανώτερη οπτική για μεγέθυνση της εικόνας και εξάλειψη του θορύβου.
- B) LED φωτισμό για σταθερή λειτουργία και παρατεταμένη διάρκεια ζωής.
- Γ) Υψηλής ευκρίνειας απεικόνιση του αισθητήρα για ευδιάκριτο χρώμα και φασματική απεικόνιση.
- Δ) Συσκευή λειτουργίας μέσω οθόνης αφής και αναθεώρηση των δεδομένων χρησιμοποιώντας ένα βέλτιστο υψηλής ευκρίνειας μόνιτορ, για βελτιωμένη εργονομική και κλινική ροή εργασίας.
- Ε) Υψηλού επιπέδου βάση δεδομένων για την αποθήκευση δεδομένων, αναθεώρηση και παρακολούθηση.

#### Τα πλεονεκτήματα

Μετά από μια διαδικασία απόκτησης εικόνας που δεν υπερβαίνει τα τέσσερα λεπτά, το DYSIS παρέχει στους κολποσκόπους τις πληροφορίες που απαιτούνται για μια ποσοτική αξιολόγηση των βαθμών νεοπλασίας *in vivo* (σε ζωντανό οργανισμό), που προσφέρει πολλά βασικά πλεονεκτήματα και συνδεδεμένα οφέλη.

- A) Το DYSIS προσφέρει τα μέσα για ένα ανεξαρτήτου χρήστη, αλλά υψηλής απόδοσης εντοπισμό και χαρτογράφηση υψηλού βαθμού νεοπλασιών.
- B) Το DYSIS κάνει την κολποσκοπική εκτίμηση αντικειμενικά και αναπαραγώγιμα, ελαχιστοποιώντας τις διαφωνίες παρατήρησης.
- Γ) Το DYSIS, που απευθύνεται σε ειδικούς γιατρούς, παρέχει καθοδήγηση για βελτίωση της βιοψίας και της ακρίβειας δειγματοληψίας. Ο γιατρός έχει, επομένως, στη διάθεσή του ένα απολύτως αντικειμενικό σύστημα ανίχνευσης της βλάβης και μπορεί να καθοδηγηθεί στη λήψη βιοψίας από τα επικίνδυνα σημεία, εφόσον αυτά θα εμφανιστούν στην οθόνη, με υψηλότερο βαθμό ακρίβειας.
- Δ) Το DYSIS προσφέρει ένα μοναδικό μέσο για την αντικειμενική και ποσοτική παρακολούθηση και ανίχνευση και επαναλαμβανόμενων και εναπομείναντων βλαβών.
- Ε) Το DYSIS ανιχνεύει μικρές εστιακές βλάβες που μπορεί να διαφύγουν της παρατήρησης.
- ΣΤ) Η λειτουργία των αυτοματοποιημένων διαδικασιών του DYSIS το καθιστούν εξίσου κατάλληλο για χρήση από εκπαιδευμένους κολποσκόπους ή εκπαιδευόμενους νοσοκόμους ακόμα και από εκπαιδευμένο παραϊατρικό προσωπικό.

## Η επιστήμη

Η Forth-Photonics R&G ομάδα έχει εφεύρει και αναπτύξει την πλατφόρμα δυναμικής, φασματικής απεικόνισης για να επιτρέψει η in vivo (εντός ζωντανού οργανισμού) διάγνωση των (προ)-καρκίνων του επιθηλίου (οπτική βιοψία).

Παρέχει πληροφορίες πλούσιες σε διαγνωστικά σήματα που επιτρέπουν την ανίχνευση και χαρτογράφηση των λειτουργικών και διαρθρωτικών αλλαγών που συμβαίνουν σε ανώμαλα επιθηλιακά κύτταρα κατά την εξέλιξη της ασθένειας.

Το DYSIS υπολογίζει το φαινόμενο του acetowhitening, το οποίο είναι εξαιρετικά συσχετισμένο με την αλλαγή της δομής και της λειτουργικότητας του μη-φυσιολογικού επιθηλίου. Γίνεται μοντελοποίηση και ανάλυση των πειραματικών δεδομένων που επιτρέπει τον υπολογισμό των δυναμικών παραμέτρων εκφράζοντας την αντίδραση του ιστού σε κάθε pixel της εικόνας.

Εργαστηριακές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα δεδομένα που λαμβάνονται συσχετίζονται με το βαθμό νεοπλασίας και επιτρέπουν την αμερόληπτη διαφοροποίηση μεταξύ νεοπλασματικών και μη νεοπλασματικών βλαβών καθώς και νεοπλασιών διαφορετικών βαθμών.

Η χωρική κατανομή αυτών των παραμέτρων περιλαμβάνει το δυναμικό χάρτη, που μπορεί να υπερτεθεί στο χρώμα της εικόνας του ιστού. Αυτά τα δεδομένα παρέχουν ένα μέσο για την in vivo ανίχνευση, καταγραφή και ταξινόμηση της βλάβης καθώς και για τη διάγνωση, ανίχνευση και παρακολούθηση, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπεται η on-line καθοδήγηση για βιοψία και χειρουργική αγωγή.

## Η σωστή επιλογή

Οι εξελίξεις που βελτιώνουν την ευαισθησία ανίχνευσης θα οδηγήσουν σε μια σημαντική αύξηση των παραπομπών για κολποσκόπηση. Η κολποσκόπηση αποκτά μεγαλύτερη σημασία από ποτέ.

Είναι επιτακτική ανάγκη να βελτιωθεί η κλινική άσκηση της κολποσκόπησης, δεδομένου του ρόλου της στη διαγνωστική αλυσίδα ως το μόνο μέσο για την ακριβή καθοδήγηση της βιοψίας του τραχήλου της μήτρας. Το DYSIS ικανοποιεί το αίτημα αυτό με την εφαρμογή μοναδικής τεχνολογίας απεικόνισης στην κολποσκόπηση.

Το DYSIS παρουσιάζει ανωτερότητα τόσο ως προς την κυτταρολογία όσο και ως προς τις μεθόδους της συμβατικής κολποσκόπησης και γεφυρώνει τη διαφορά απόδοσης μεταξύ των νέων τεστ ανίχνευσης και της συμβατικής κολποσκόπησης.

Το DYSIS ταιριάζει απόλυτα στην νέα εποχή του καρκίνου τραχήλου της μήτρας της πρόληψης και της διαχείρισης του ως ασθένεια. Οι τρέχουσες τάσεις δείχνουν ότι η συντριπτική πλειονότητα των νεοπλασιών θα ανιχνευθούν κολποσκοπικά.

Με το DYSIS η ανίχνευση, η αξιολόγηση, η θεραπεία και η παρακολούθησή τους μπορεί να επιτευχθεί με οικονομικά αποδοτικό τρόπο.

## Αναλυτική περιγραφή της λειτουργίας του DYSIS

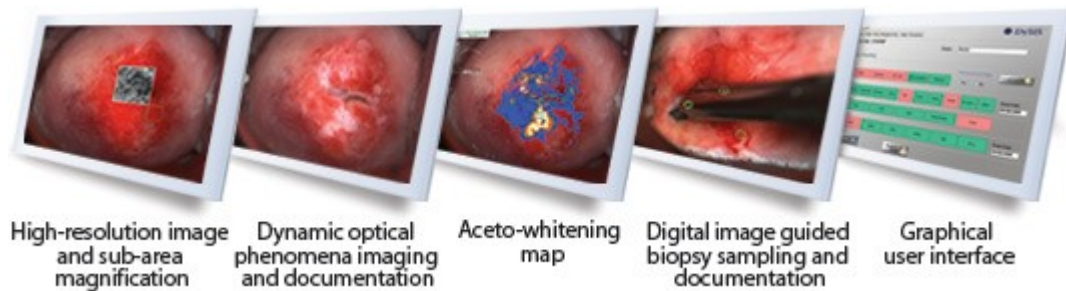
Η λειτουργία του DYSIS βασίζεται στην ιδιότητα του οξικού οξέος (3 – 5% acetic acid) να αντιδρά ειδικά με τα μη φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα μεταβάλλοντας προοδευτικά και αντιστρεπτά τις οπτικές ιδιότητες σκέδασης του φωτός που διαπερνά τα κύτταρα αυτά. Η αντίδραση του οξικού οξέος με παθογόνα επιθηλιακά κύτταρα παρέχει στον παρατηρητή την οπτική αντίληψη του φαινομένου αυτού μέσω του acetowhitening (AW) [9].



Εικόνα 58: Το ιατρικό μηχανήμα DYSIS

Το AW είναι ένα δυναμικό οπτικό φαινόμενο που γίνεται αντιληπτό από την ανθρώπινη όραση ως άσπρισμα της παθογόνου περιοχής ύστερα από τον ψεκασμό οξικού οξέος. Κλινικές έρευνες έδειξαν ότι η διάρκεια και το ποσοστό του ασπρίσματος της παθογόνου περιοχής σχετίζεται με τον βαθμό της βλάβης (CIN) [6].

Το AW πραγματοποιείται προοδευτικά και κατά την χρονική στιγμή  $t=\tau$  παίρνει την μέγιστη του ένταση. Έχει μελετηθεί και μοντελοποιηθεί στο Πολυτεχνείο Κρήτης το βιοφυσικό υπόβαθρο του φαινομένου του AW, σύμφωνα με την μορφολογία του επιθηλιακού ιστού [6]. Σήμερα, το επιστημονικό ενδιαφέρον του δυναμικού φαινομένου του AW είναι έντονο δεδομένης της προσπάθειας εύρεσης αποδοτικών μεθόδων διάγνωσης, χαμηλού κόστους και χωρίς επιβλαβείς συνέπειες στην υγεία του ασθενή.



Εικόνα 59: Εικόνες που προκύπτουν κατά την εξέταση με το ιατρικό μηχανήμα DYSIS

Πρόσφατες έρευνες σε ευρύ σύνολο γυναικών αποδεικνύουν την αποδοτικότητα της επιθεώρησης του φαινομένου του AW ως μέθοδο διάγνωσης. Σύμφωνα με τις έρευνες αυτές, όπου έλαβαν μέρος 50.000 γυναίκες, παρατηρήθηκε μείωση κατά 30% των περιστατικών του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μέσω οπτικής παρατήρησης του AW σε σχέση με την καθιερωμένη αλυσίδα εξετάσεων μέχρι τώρα (κυτταρική ανάλυση, κολποσκόπηση, ιστολογική εξέταση) [6].

Η οπτική επιθεώρηση του AW λαμβάνεται υπόψιν από τους ιατρούς αν και στερείται αντικειμενικότητας διότι είναι ένα καθαρά οπτικό φαινόμενο που η οπτική αντίληψη του εξαρτάται από τον παρατηρητή. Τα κύρια διαγνωστικά κριτήρια της άμεσης οπτικής επιθεώρησης του AW βασίζονται στις εξής παραμέτρους: την ταχύτητα και το μέγεθος της διαδικασίας ασπρίσματος, τον βαθμό ασπρίσματος την στιγμή που συμβαίνει το μέγιστο άσπρισμα και τον βαθμό απότομης ή μη οριοθέτησης των παθογόνων κυττάρων από τα υγιή (demarcation).

Η διαγνωστική ακρίβεια εξαρτάται από τον τρόπο που κάθε ιατρός εφαρμόζει τις κατευθυντήριες γραμμές (στην κολποσκόπηση: δείκτες κολποσκόπησης Reid -RCI-). Εξετάζοντας τα χαρακτηριστικά: χρώμα, οριοθέτηση βλάβης και επιφανειακό σχηματισμό (demarcation), γειτονικά αγγεία, ιωδιούχο βάψιμο, προκύπτει η περιγραφή της εκάστοτε βλάβης όπου για κάθε χαρακτηριστικό παρέχονται αριθμητικοί δείκτες ανάλογα με την περιγραφή, το άθροισμα των οποίων δίνει τις εξής διαγνώσεις ανάλογα με την επικινδυνότητα:

0-2	πιθανόν CIN I
3-4	υπέρθετη βλάβη, πιθανόν CIN I ή CIN II
5-8	πιθανόν CIN II ή CIN III

Η περιγραφική διάγνωση του ιατρού καθιστά σαφές το χρώμα και το demarcation της βλάβης [13]. Το demarcation μιας βλάβης ορίζεται ως ο βαθμός οριοθέτησης των παθογόνων κυττάρων από τα υγιή. Οι δύο κατηγορίες κυττάρων διαχωρίζονται λόγω του AW και όσο πιο απότομος ο διαχωρισμός των δύο περιοχών, τόσο πιο demarcated (οριοθετημένη) η βλάβη. Το demarcation μέχρι τώρα δεν έχει ποσοτικοποιηθεί και αρκείται στον περιγραφικό προσδιορισμό του σύμφωνα με την μέση οπτική αντίληψη του παρατηρητή – ιατρού.

Η διπλωματική αυτή εργασία παρέχει για πρώτη φορά την ποσοτικοποίηση του demarcation εξάγοντας ποσοτικές οπτικές παραμέτρους από εικόνες. Οι εικόνες προκύπτουν από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS. Δεν έχει αποδειχτεί ακόμα κλινικά η σημασία του demarcation και η ερμηνεία του στον επιθηλιακό ιστό.

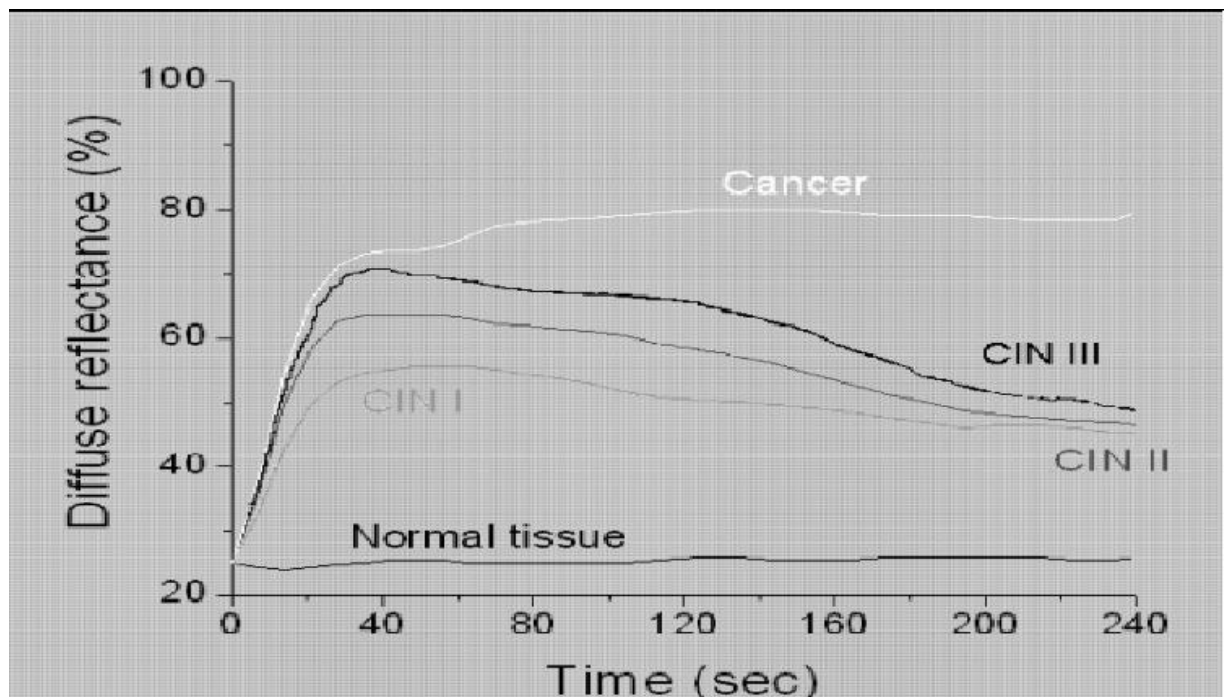
Η πρώτη προσέγγιση που παρέχει η εργασία είναι η ποσοτικοποίηση του σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται και τα συμπεράσματα που εξάγονται από αυτήν. Το demarcation αναφέρεται στο δυναμικό φαινόμενου του AW αλλά δεν είναι μια δυναμική παράμετρος. Από την εργασία αποδεικνύεται ότι σύμφωνα με τις τελικές εξαγόμενες παραμέτρους ποσοτικοποίησης, μπορούν να διαχωριστούν βλάβες χαμηλού και υψηλού κινδύνου (low, high-grade neoplasia).

Οι τελικές παράμετροι μπορούν επιπροσθέτως να λειτουργήσουν ως ποσοτικό διαγνωστικό κριτήριο της οπτικής επιθεώρησης του AW προσφέροντας αντικειμενικότητα σε ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια, ως επιπρόσθετη διαγνωστική παράμετρος του DYSIS αλλά και να παρέχει την έννοια της πρόβλεψης της κατεύθυνσης των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο.

Σύμφωνα με το τελευταίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς που τα διαγνωστικά τεστ τους αποδείχτηκαν αληθώς αρνητικά (true negative) δίνοντας μια μελλοντική πρόβλεψη πιθανής μετάστασης. Η απόδειξη αυτού απαιτεί κλινικές και μακροχρόνιες δοκιμές.

## DYSIS – Δεδομένα της εργασίας

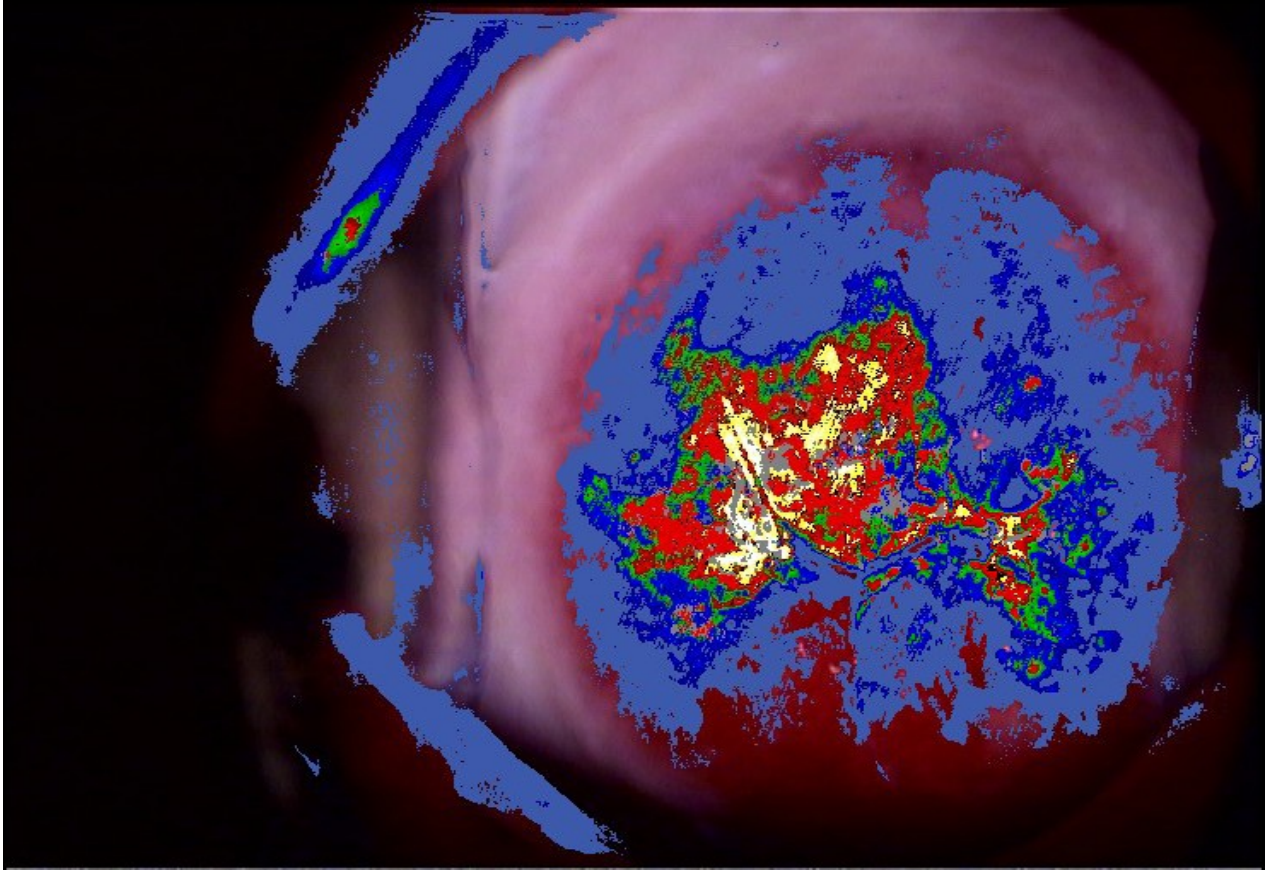
Το ιατρικό μηχάνημα DYSIS παρέχει in vivo (εντός ζωντανού οργανισμού) ανίχνευση αλλοιώσεων, άμεση οπτική χαρτογράφηση της βλάβης (χάρτης DYSIS) και διάγνωση ενώ ταυτοχρόνως καθιστά δυνατό τον ακριβή εντοπισμό προ-καρκινικών κυττάρων ώστε η λήψη βιοψίας ή η τυχόν εγχείρηση να πραγματοποιηθούν σε σωστά σημεία. Η λειτουργία του βασίζεται στην χρονική απορρόφηση του οξικού οξέος από τα κύτταρα που έχουν ψεκάσει και αντιπροσωπεύονται από τις καμπύλες έντασης-χρόνου. Κάθε καμπύλη αναφέρεται σε μια περίπτωση αλλοίωσης. Κάποια χρονική στιγμή (στο μέγιστο peak) πραγματοποιείται η μέγιστη απορρόφηση. Από κάθε καμπύλη προκύπτουν δυναμικές παράμετροι (π.χ μέγιστη τιμή) οι τιμές των οποίων ομαδοποιούνται σε χρώματα, εξάγοντας το χάρτη του DYSIS ο οποίος οδηγεί στη διάγνωση [9].



Εικόνα 60: Ένταση του οπισθοσκεδασμένου φωτός για παθολόγια και μη κύτταρα

Κάθε χρώμα αντιστοιχεί σε μια περίπτωση αλλοίωσης:

μπλε: CIN I  
πράσινο: CIN II  
κόκκινο: CIN III  
άσπρο: καρκίνος



Εικόνα 61: Χάρτης DYSIS

Ο χάρτης DYSIS στα πλαίσια της εργασίας λειτουργεί για επιβεβαίωση της βλάβης. Το ενδεχόμενο να λειτουργούν οι παράμετροι του demarcation αποδοτικότερα από τις δυναμικές παραμέτρους θα μελετηθεί σύντομα.

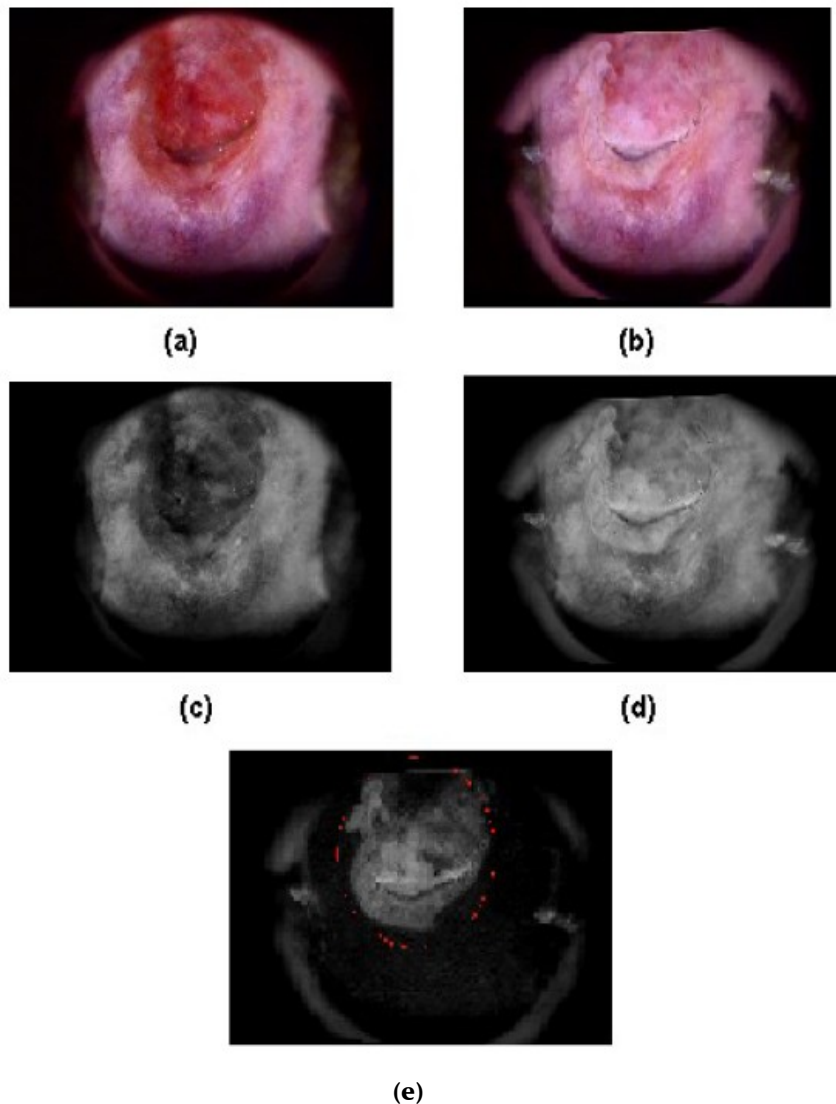
Το DYSIS απεικονίζει ψηφιακά τον ιστό κάθε γυναίκας που υποβάλλεται στην εξέταση από την χρονική στιγμή  $t=0$  όπου δεν έχει ψεκαστεί το οξικό οξύ ανά 5 s μέχρι την χρονική στιγμή  $t=240$  s. Το μέγιστο AW συμβαίνει τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  όπου οι καμπύλες δίνουν το μέγιστο peak. Το DYSIS λύνει το πρόβλημα των αυθόρμητων κινήσεων των ιστών είτε της ασθενούς κάνοντας ευθυγράμμιση (registration) όλων των εικόνων που λαμβάνει. Οι εικόνες που επεξεργαζόμαστε στην εργασία είναι εικόνες που αναφέρονται στις χρονικές στιγμές  $t=0$  και  $t=\tau$ .

Έχει αποδειχτεί ότι η μέγιστη αντίθεση μεταξύ παθογόνου και μη παθογόνου ιστού είναι ορατή στο μήκος κύματος  $\lambda=525\pm 15\text{nm}$  [4]. Για το λόγο αυτό οι RGB λαμβανόμενες εικόνες από το DYSIS γίνεται grayscale στο πράσινο. Εν συνεχεία η τελική εικόνα επεξεργασίας μας (subtracted) προκύπτει από τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  αφαιρώντας την εικόνα την χρονική στιγμή  $t=0$  με σκοπό τον αποκλεισμό άσπρων εκ γενετής περιοχών που πιθανόν να ερμηνευτούν ως AW. Η αφαίρεση γίνεται ανά pixel. Η subtracted εικόνα περιέχει μόνο την αλλαγή που συνέβη ύστερα από χρόνο  $t=\tau$  άρα μόνο το AW μαζί με

θόρυβο εικόνας ο οποίος εκτός του συνηθισμένου ψηφιακού θορύβου προέρχεται και από εργαλεία εξέτασης.

Μέρος της εργασίας είναι η προσπάθεια απαλοιφής των θορύβων αυτών ώστε η επιλογή παραμέτρων να μην οδηγεί σε σφάλματα. Κάθε subtracted εικόνα αναφέρεται σε μία ασθενή. Η διαδικασία απόκτησης της subtracted αναφέρεται στην παρακάτω εικόνα.

Η RGB εικόνα (a) απεικονίζει τον τράχηλο της μήτρας τη χρονική στιγμή  $t=0$  ενώ η (b) την  $t=\tau$  του μέγιστου AW. Η εικόνα (c) είναι η grayscale της (a) ενώ η (d) της (b). Η subtracted είναι η εικόνα (e) όπου το AW είναι ότι φαίνεται στον κόκκινο κύκλο. Ο άσπρος κύκλος και οι κουκκίδες είναι θόρυβος από ανακλάσεις των εργαλείων εξέτασης.



Εικόνα 62: (a) RGB εικόνα τη χρονική στιγμή  $t=0$ , (b) RGB εικόνα τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  (μέγιστο AW), (c) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) της (a), (d) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) της (b), (e) subtracted ( $\tau-t(0)$ ) grayscale ( $\lambda=525\text{nm}$ ) source:DYSIS

Το DYSIS σαν ιατρικό μηχάνημα εξέτασης υπάρχει στα νοσοκομεία Αλεξάνδρα, Hammersmith, StMarys και οι ασθενείς μας είναι από τα νοσοκομεία αυτά.

Για κάθε μία γυναίκα που υπόκειται στην εξέταση με το DYSIS εξάγονται:

1. ο χάρτης DYSIS που δίνει τη διάγνωση
2. εικόνες όμοιες με τις παραπάνω οι οποίες δίνουν την subtracted προς επεξεργασία εικόνα.

## Αποτελέσματα

Οι πολύμηνες κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με τη συμμετοχή 400 και πλέον γυναικών σε δυο βρετανικά νοσοκομεία με τη συνεργασία του Imperial College του Λονδίνου (Hammersmith - St. Mary's) και της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου της Αθήνας (Νοσοκομείο Αλεξάνδρα Α' Γυναικολογική Κλινική) έδειξαν ότι το DySIS βελτιώνει κατά 63% την ακρίβεια της κολποσκοπησης στη διάγνωση του προκαρκίνου και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Η σύγκριση με τη συμβατική κολποσκοπηση και το test Παπανικολάου απέδειξε ότι η νέα μέθοδος είναι θεαματικά ακριβέστερη, καθώς ανίχνευε πολλές περιπτώσεις υψηλού βαθμού νεοπλασίας, οι οποίες δεν είχαν εντοπιστεί με τις άλλες μεθόδους.

Η εξέταση με τη μέθοδο DySIS διαρκεί μονάχα λίγα λεπτά της ώρας, είναι αναίμακτη και ανώδυνη. Άλλα πλεονεκτήματά της είναι η αντικειμενική χαρτογράφηση των παθολογικών περιοχών, η αποφυγή παρενεργειών, καθώς οι τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται είναι μη-ιοντίζουσες, όπως και η παράλληλη μείωση του συνολικού κόστους των ιατρικών πράξεων. Ήδη, σημαντικός αριθμός διακεκριμένων νοσοκομείων, κλινικών και ιδιωτών ιατρών στην Ευρώπη και την Ελλάδα χρησιμοποιούν αυτό το σύστημα στην καθημερινή κλινική πράξη, με πολύ καλά αποτελέσματα, ενώ αναμένεται στο αμέσως προσεχές χρονικό διάστημα η έγκριση των αμερικανικών αρχών, για διάθεσή του και στις Ηνωμένες Πολιτείες.

## ...συνοπτικά λοιπόν

Σ' αυτόν τον τόσο ευαίσθητο και κρίσιμο τομέα, μια ελληνική εταιρία υψηλής τεχνολογίας, τεχνοβλαστός του Ιδρύματος Τεχνολογίας & Έρευνας στο Ηράκλειο της Κρήτης, άνοιξε νέους δρόμους με την καινοτόμο προσέγγισή της στο πρόβλημα.

Καρπός της έρευνάς της ένα ολοκληρωμένο (και κατοχυρωμένο πλέον με ισχυρότατα διεθνή διπλώματα ευρεσιτεχνίας) σύστημα ανίχνευσης, το οποίο παράγει στην Αθήνα και διαθέτει σ' ολόκληρο τον κόσμο.

Η μέθοδος βασίζεται στην αλληλεπίδραση φωτός και ιστού, στο πλαίσιο μιας κοινής κολποσκοπικής εξέτασης. Το φως εκπέμπεται προς τους ιστούς και επανεκπέμπεται απ' αυτούς προς το σύστημα.

Πραγματοποιείται καταγραφή των αποτελεσμάτων σε προεπιλεγμένες φασματικές περιοχές και ανάλυση in vivo, σε «ζωντανό» ιστό, των δυναμικών οπτικών φαινομένων, με τη βοήθεια ειδικών αλγορίθμων και σε επίπεδο κυττάρου, σε δυο εκατομμύρια διαφορετικά σημεία.

Αν υπάρχει νεοπλασία σε εξέλιξη, οι μεταβολές στα δομικά και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του ιστού ανιχνεύονται από το σύστημα και εμφανίζονται αυτομάτως με τη μορφή ψηφιακού χάρτη, όπου οι βαθμοί της νεοπλασίας αναπαρίστανται με διαφορετικά ψευδο-χρώματα: η ύπαρξη δηλώνεται με πράσινο, κόκκινο και κίτρινο χρώμα η μη-ύπαρξη με μπλε.

Ο γιατρός έχει, επομένως, στη διάθεσή του ένα απολύτως αντικειμενικό σύστημα ανίχνευσης της βλάβης και μπορεί να καθοδηγηθεί στη λήψη βιοψίας από τα επικίνδυνα σημεία, εφόσον αυτά θα εμφανιστούν στην οθόνη, με υψηλότατο βαθμό ακρίβειας.

## Αλληλεπίδραση φωτός και ιστού

Η ύπαρξη των χρωμάτων αποτελεί την πιο απλή μορφή αλληλεπίδρασης μεταξύ του φωτός και της ύλης. Αντιλαμβανόμαστε το φως και το χρώμα μέσω της όρασης, που αποτελεί την βασικότερη αίσθηση. Οι διαφορές των χρωμάτων είναι το πιο απλό και βασικό κριτήριο αντίληψης, προκειμένου να κατηγοριοποιήσουμε διάφορα αντικείμενα. Το φως κινείται μέσα στο χώρο και όταν πέσει πάνω στην επιφάνεια ενός αντικειμένου αλληλεπιδρά με αυτή. Η αλληλεπίδραση αυτή αποτελεί την βάση πολλών φυσικών επιστημών, που προσπαθούν να περιγράψουν όλες τις μορφές των αντιδράσεων. Η κατανόηση του φωτός και οι ιδιότητες του ήταν κρίσιμες και πολλές θεωρίες εξελίχθηκαν έχοντας σκοπό να δώσουν απαντήσεις για όλα τα φαινόμενα που συνέβησαν στον κόσμο και στα επιστημονικά πειράματα. Έτσι, το φως μπορεί να θεωρηθεί είτε ως ηλεκτρομαγνητικό κύμα είτε ως μόριο.

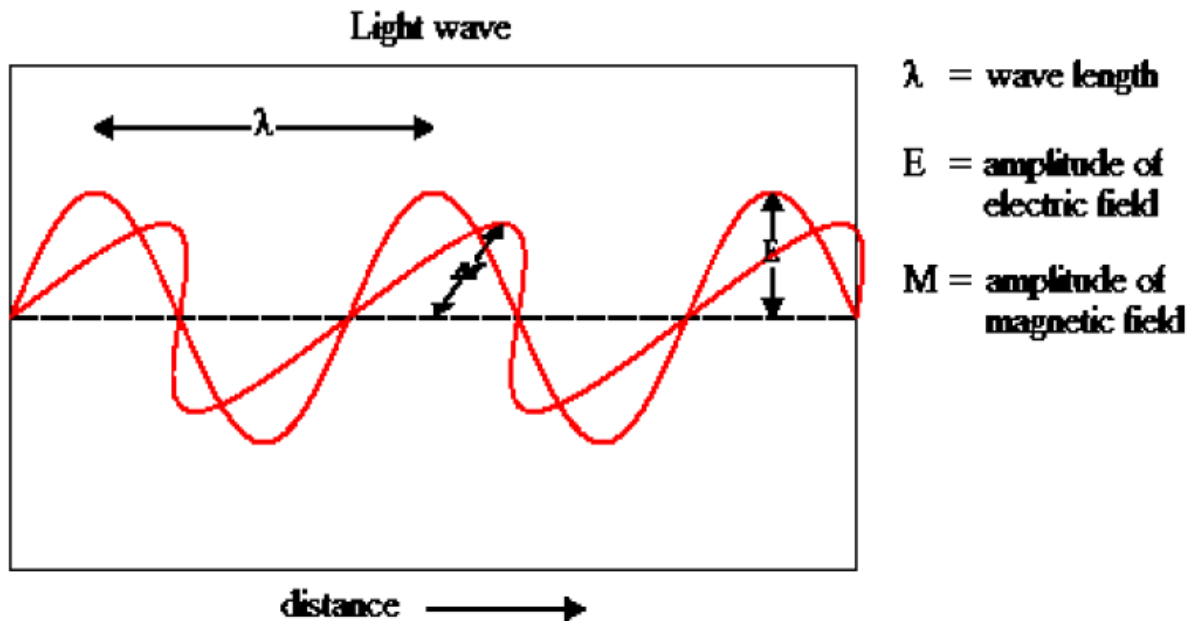
Το χρώμα των αντικειμένων σχηματίζεται μέσω της απορρόφησης και της ανάκλασης των τμημάτων του ορατού φάσματος και είναι κάτι που μπορεί να συλλάβει το ανθρώπινο μάτι. Ωστόσο, προκύπτει η απορία εάν υπάρχουν κι άλλες μορφές αλληλεπίδρασης μεταξύ του φωτός και της ύλης, τις οποίες δεν μπορεί να δει το ανθρώπινο μάτι.

Τι γίνεται εάν το μάτι μας μπορεί να δει μόνο ένα μέρος του φάσματος χρωμάτων; Για να πάμε ένα βήμα μπροστά, τι θα γινόταν αν μπορούσαμε να επεκτείνουμε το ορατό τμήμα του φάσματος με τεχνικά μέσα, έτσι ώστε το μάτι μας να μπορεί να δει περισσότερα πράγματα;

Υπάρχουν πολλά συστήματα και εξελίσσονται διάφορες επιστήμες, προκειμένου να εξασφαλιστούν τα μέσα για επέκταση της όρασης μας πέρα από το ορατό μέρος του φάσματος. Η επέκταση της όρασης μας συνεπάγεται έρευνα σε άλλες όψεις της αλληλεπίδρασης φωτός-ύλης, ανάλογα με ποιο μέρος του φάσματος επιλέγεται ως διαγνωστικό εργαλείο. Η απορρόφηση και η εκπομπή του φωτός είναι η βάση πολλών γνωστών απεικονιστικών συστημάτων, που όλα μοιράζονται βασικές αρχές, παρ' όλο που χρησιμοποιούν διαφορετικές μπάντες του φάσματος. Ένα τέτοιου είδους σύστημα και συνεπώς εξελικτική επιστήμη (μέσω των συγκεκριμένων του εφαρμογών) είναι η φασματική απεικόνιση. Θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η φασματική απεικόνιση είναι ένα είδος συστήματος αισθητήρα, όπου τα φάσματα ενός αντικειμένου είναι η διέγερση του συστήματος και συνεπώς εξασφαλίζει πληροφορίες για το αντικείμενο. Ένας βασικός παράγοντας που διακρίνει την υπερφασματική απεικόνιση (Hyperspectral Imaging) από άλλες τεχνολογίες απεικόνισης είναι το μέρος του φάσματος που χρησιμοποιείται στις εφαρμογές. Αναφερόμαστε σε μήκη κύματος από 300nm έως 1000nm, 1200nm ή 2500nm. Τα κύματα αυτών των μηκών κύματος έχουν μικρά ποσά ενέργειας και μπορούμε εύκολα να προσομοιώσουμε μία παρόμοια διέγερση στο φυσικό φως με τεχνικά μέσα, χρησιμοποιώντας κοινά εξαρτήματα φωτισμού και εξοπλισμό. Αυτό είναι σημαντικό για ιατρικές και άλλες εφαρμογές, όπου οι στόχοι δεν θα πρέπει να ακτινοβολούνται, σε αντίθεση με τις ακτίνες X κ.τ.λ. Η υπερφασματική απεικόνιση είναι ένα πεδίο μεγάλης σημασίας, λόγω της διακριτικής ικανότητας της, ενώ μπορεί να εφαρμοστεί με το φως της ημέρας ή με τεχνητή πηγή φωτός με μικρά ποσά ενέργειας, οπότε δεν επηρεάζει τους ιστούς ή τα δείγματα που εξετάζονται. Εξασφαλίζει μία τεράστια πηγή πληροφορίας και εκτός από τις προκλήσεις που εμφανίζονται κατά την εξέλιξη της ίδιας της τεχνολογίας, υπάρχουν πολλά πεδία όπου μπορεί να εφαρμοστεί η υπερφασματική απεικόνιση, όπως η ορυκτολογία, η ιατρική, η γεωργία κ.α.

## Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι τύπος κυμάτων σε μορφή ακτινοβολίας, με συνιστώσες ηλεκτρικού και μαγνητικού πεδίου, που διαδίδονται στην ύλη και στο κενό. Ο κόσμος όλος βομβαρδίζεται καθημερινά από ενέργεια σε μορφή ακτινοβολίας που ονομάζεται ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Ένα μέρος αυτής είναι το ορατό φως. Όμως το μεγαλύτερο μέρος της είναι αόρατο όπως οι ακτίνες Χ, η υπεριώδης ακτινοβολία, τα μικροκύματα κ.τ.λ. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία παρουσιάζει δυϊκή φύση δηλαδή κυματικά και σωματιδιακά χαρακτηριστικά ταυτόχρονα. Αυτές οι δύο φύσεις δεν αποκλείουν η μία την άλλη, αλλά αλληλοσυμπληρώνονται.



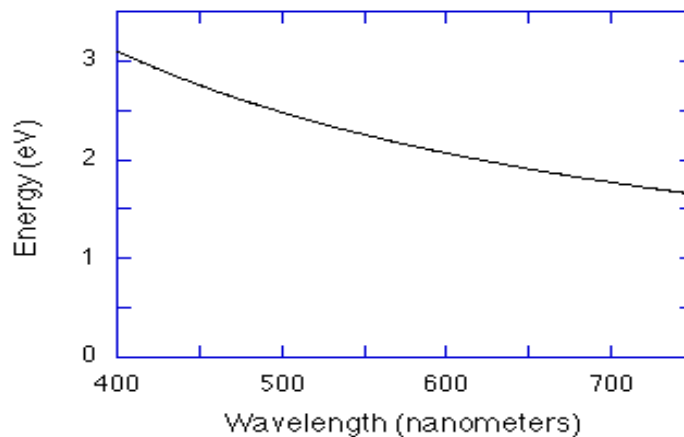
Εικόνα 63: Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

Η βασική μονάδα (quantum) της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, που συνήθως ονομάζονται  $\gamma$ , είναι το φωτόνιο. Σύμφωνα με την θεωρία του φωτός, φωτόνιο είναι ένα ξεχωριστό πακέτο (quantum) ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας. Τα φωτόνια είναι πάντα σε κίνηση ακόμη και στο κενό και έχουν μια σταθερή ταχύτητα φωτός για όλους τους παρατηρητές. Στο κενό η ταχύτητα αυτή είναι ίση με  $c = 2.998 \times 10^8$  m/s. Τα φωτόνια για πρώτη φορά προσδιορίστηκαν από τον Planck του οποίου οι μετρήσεις για το φάσμα blackbody έδειξαν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έπρεπε να έρθει σε διακριτές μονάδες, οι οποίες είχαν βαπτιστεί φωτόνια από τον χημικό Lewis Gilbert το 1926. Ένα από τα αποτελέσματα της δυαδικότητας που παρουσιάζει το φως σώμα-κύμα είναι ότι τα φωτόνια αν και αντιμετωπίζονται ως σωματίδια μπορούν να έχουν συχνότητα, μήκος κύματος, πλάτος και άλλες ιδιότητες της μηχανικής κύματος. Το φωτόνιο είναι ένα στοιχειώδες σωματίδιο αν και δεν έχει μάζα. Δεν μπορεί να καταστραφεί από μόνο του αν και η ενέργεια του μπορεί να μεταφερθεί (ή δημιουργηθεί) κατά την αλληλεπίδραση του με άλλα σωματίδια. Το φωτόνιο είναι ηλεκτρικά ουδέτερο και είναι ένα από τα σπάνια σωματίδια που είναι ακριβώς ίδιο με το αντισωματίδιο (antiphoton). Τα φωτόνια είναι σωματίδια με spin-1 με την περιστροφή του άξονα τους να είναι παράλληλη προς την κατεύθυνση κίνησης τους. Αυτή η δυνατότητα είναι που επιτρέπει την πόλωση του φωτός. Κάθε φωτόνιο έχει ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος και μια πολύ συγκεκριμένη ποσότητα ενέργειας. Τα φωτόνια παράγονται ή απορροφώνται όταν ηλεκτρόνια κινούνται μεταξύ διαφορετικών επιπέδων ενέργειας στα άτομα.

Ο Einstein είναι ο πρώτος που εξέφρασε τη δυϊκή φύση της ακτινοβολίας σαν μια συνεχή ροή διακριτών σωματιδίων ή κυματικών ενεργειακών πακέτων (φωτόνια). Η ενέργεια ενός φωτονίου συχνότητας  $\nu$  δίνεται από τον τύπο:

$$E = h\nu = hc / \lambda$$

όπου  $h$  είναι η σταθερά του Planck ( $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$ ),  $c$  η ταχύτητα του φωτός,  $\nu$  η συχνότητα και  $\lambda$  το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Η καμπύλη δείχνει τη σχέση,  $E \text{ (eV)} = 1.240 / \lambda \text{ (nm)}$  που παρουσιάζεται για την ενέργεια σε eV έναντι φωτονίου μήκους κύματος σε νανόμετρα για την ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος



Εικόνα 64: Η καμπύλη δείχνει τη σχέση,  $E \text{ (eV)} = 1.240 / \lambda \text{ (nm)}$

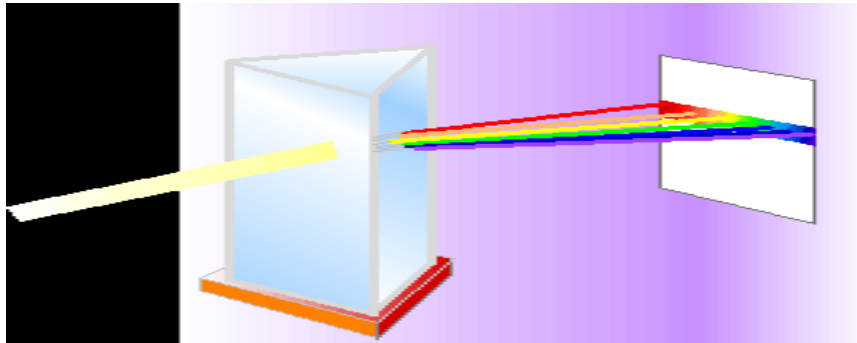
Επειδή η ενέργεια των φωτονίων είναι ευθέως ανάλογη με τη συχνότητα, τα χαμηλής ενέργειας φωτόνια έχουν χαμηλές συχνότητες, ενώ τα υψηλής ενέργειας έχουν υψηλές συχνότητες. Τα φωτόνια χαμηλής ενέργειας ονομάζονται ραδιοκύματα ή μικροκύματα, τα μεσαίας ενέργειας (κύματα φωτός, ή ορατό φως) τα φωτόνια υψηλής ενέργειας ονομάζονται ακτίνες X, ενώ εκείνα που έχουν ακόμη μεγαλύτερη ενέργεια ονομάζονται ακτίνες γάμμα.

### Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Με τον όρο φάσμα εννοούμε την κατανομή της έντασης του φωτός κατά μήκος κύματος. Ένα φάσμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να λάβουμε πληροφορίες σχετικά με την ατομική ενέργεια, το μοριακό επίπεδο, τη μοριακή γεωμετρία, τους χημικούς δεσμούς, τις αλληλεπιδράσεις των μορίων και σχετικές διαδικασίες. Χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των στοιχείων που συνιστούν ένα δείγμα (ποιοτική ανάλυση) καθώς και για την μέτρηση της ποσότητας των υλικών σε ένα δείγμα (ποσοτική ανάλυση).

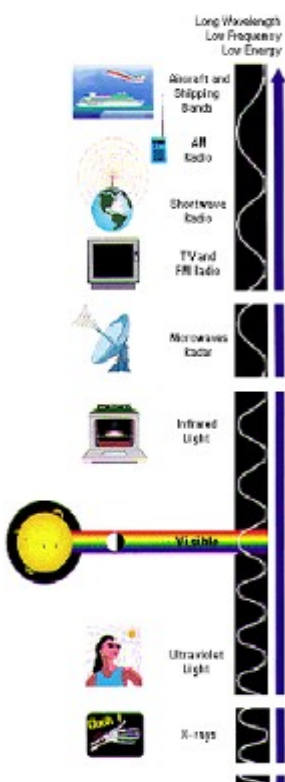
Περνώντας το ηλιακό φως μέσα από ένα γυάλινο πρίσμα, ο μεγάλος Sir Isaac Newton πρώτα απέδειξε ότι το λευκό φως αποτελείται από μια ποικιλία χρωμάτων του φωτός. Τα χρώματα αντιστοιχούν σε διαφορετικά μήκη κύματος του φωτός. Όσο περνά μέσα από το πρίσμα, τα μήκη κύματος του φωτός κάμπτονται (λυγίζουν). Αυτά, έρχονται σε μια ελαφρώς διαφορετική κατεύθυνση από αυτήν της αρχικής ακτίνας που εισήλθε στο πρίσμα. Τα μεγαλύτερα μήκη κύματος του κόκκινου φωτός κάμπτονται λιγότερο από τα

μικρότερα μήκη κύματος του μπλε φωτός. Κόκκινο, μπλε και άλλα μήκη κύματος του φωτός που συνδυάζονται μαζί διαμορφώνουν το λευκό φως. Ωστόσο, όταν διέρχεται από ένα πρίσμα, οι διαφορετικές καμπές του φωτός διαχωρίζουν τα χρώματα για το σχηματισμό του φάσματος



Εικόνα 65: Το λευκό φως διέρχεται μέσα από το πρίσμα

Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα είναι το εύρος όλων των πιθανών συχνοτήτων μιας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα (συνήθως μόνο φάσμα) ενός αντικείμενου είναι η χαρακτηριστική κατανομή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από το συγκεκριμένο αντικείμενο. Για λόγους ευκολίας διαιρούμε το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα σε φασματικές περιοχές, οι οποίες λόγω των διαφορετικών ενεργειών αλληλεπιδρούν με την ύλη πολύ διαφορετικά. Έτσι εκτείνεται κάτω από τις συχνότητες που χρησιμοποιούνται για το σύγχρονο ραδιόφωνο (στο τέλος του μεγάλου μήκους κύματος), την γάμμα ακτινοβολία (στο τέλος του μικρού μήκους κύματος), καλύπτοντας μήκη κύματος από χιλιάδες χιλιόμετρα σε ένα κλάσμα του μεγέθους ενός ατόμου. Εικάζεται ότι το όριο του σύντομου μήκους κύματος είναι κοντά με το μήκος Planck, και το όριο του μεγάλου μήκους κύματος κοντά με το μέγεθος του σύμπαντος αν και καταρχήν το φάσμα είναι απέραντο και συνεχές. Παρακάτω δίδονται οι διάφοροι τύποι ακτινοβολίας του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (από χαμηλότερη προς υψηλότερη ενέργεια):



Εικόνα 66:

**Ραδιοκύματα:** είναι το είδος της ενέργειας που εκπέμπουν οι ραδιοσταθμοί. Ραδιοκύματα εκπέμπονται επίσης και από άλλα σώματα, όπως αστέρες και αέρια στο διάστημα (όπου και χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της σύστασης των αντικειμένων αυτών). Παράγονται από φορτισμένα σωματίδια που κινούνται μπρος και πίσω. Η ατμόσφαιρα είναι διάφανη στα ραδιοκύματα με μήκη κύματος από λίγα mm σε περίπου 20m.

**Μικροκύματα:** μπορούν να μαγειρέψουν μόνο σε λίγα λεπτά. Χρησιμοποιούνται από τους αστρονόμους για τον προσδιορισμό της δομής των γειτονικών γαλαξιών καθώς και του δικού μας.

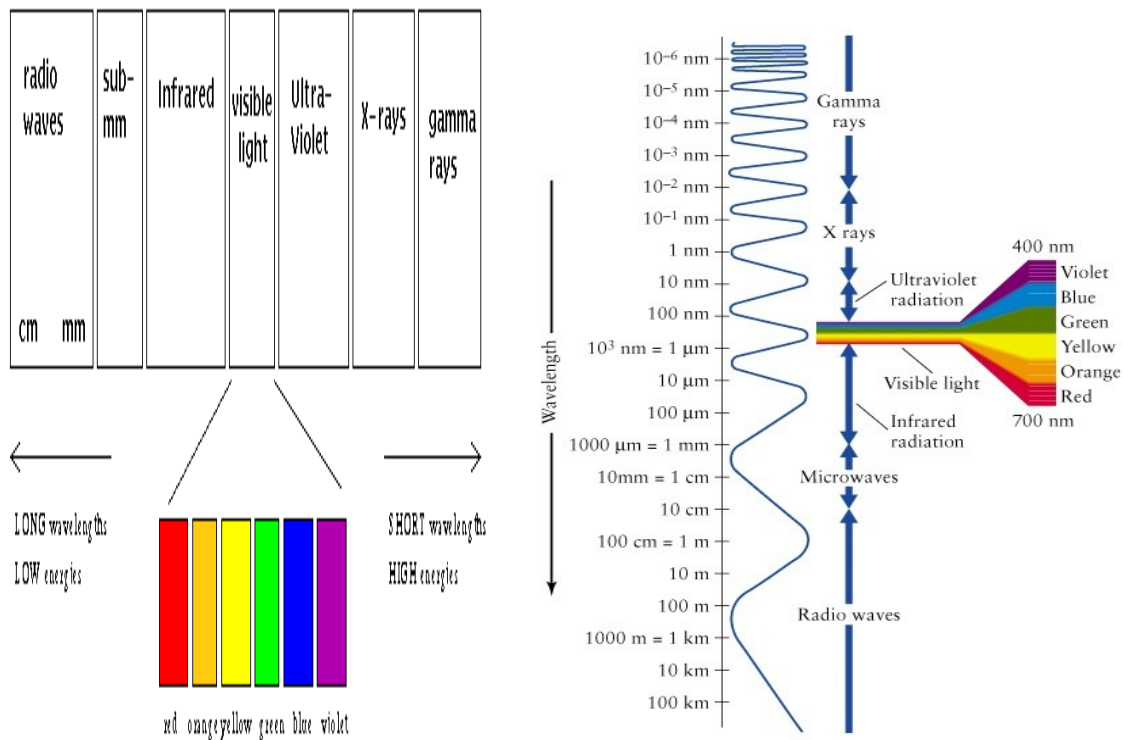
**Υπέρουθρο (IR):** συχνά το ταυτίζουμε με τη θερμότητα γιατί ζεσταίνει το δέρμα μας.

**Ορατό:** είναι το τμήμα του φάσματος που βλέπει το μάτι μας. Εκπέμπεται από κάθε τι: από πυγολαμπίδες, λαμπτήρες, αστέρες, καθώς και ταχέως κινούμενα σωματίδια που συγκρούονται με άλλα σωματίδια.

**Υπεριώδες (UV):** Καίει το δέρμα! Οι αστέρες και άλλα θερμά αντικείμενα του διαστήματος εκπέμπουν UV.

**Ακτίνες X:** Χρησιμοποιούνται στην ιατρική για απεικόνιση οστών και δοντιών. Θερμά αέρια στο σύμπαν επίσης εκπέμπουν ακτίνες X.

**Ακτίνες γ:** Εκπέμπονται από ραδιενεργά υλικά, φυσικά και τεχνητά. Μεγάλοι επιταχυντές που χρησιμοποιούν οι επιστήμονες για την κατανόηση της δομής της ύλης επίσης μπορούν να δώσουν ακτινοβολία γ. Αλλά η μεγαλύτερη πηγή ακτίνων γ είναι το σύμπαν! Παράγει ακτινοβολία γ με όλους τους δυνατούς τρόπους.



Εικόνα 67: Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Προσεγγιστικά, καταγράφονται μήκη κύματος, συχνότητες και ενέργειες των διάφορων περιοχών του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος:

	Μήκος κύματος	Συχνότητα (Hz)	Ενέργεια
<b>Ραδιοκύματα</b>	> 10 cm	< 3 x 10 <sup>9</sup>	< 2 x 10 <sup>-24</sup> J
<b>Μικροκύματα</b>	10 cm - 1 mm	3 x 10 <sup>9</sup> - 3 x 10 <sup>11</sup>	2 x 10 <sup>-24</sup> - 2 x 10 <sup>-22</sup> J
<b>Υπέρυθρο</b>	1 mm - 750 nm	3 x 10 <sup>11</sup> - 4 x 10 <sup>14</sup>	2 x 10 <sup>-22</sup> - 3 x 10 <sup>-19</sup> J
<b>Οπτικό</b>	750 nm - 400 nm	4 x 10 <sup>14</sup> - 7.5 x 10 <sup>14</sup>	1.8 eV - 3 eV
<b>Υπεριώδες</b>	400 nm - 10 nm	7.5 x 10 <sup>14</sup> - 3 x 10 <sup>16</sup>	5 x 10 <sup>-19</sup> - 2 x 10 <sup>-17</sup>
<b>Ακτίνες-X</b>	10 nm - 0.01 nm	3 x 10 <sup>16</sup> - 3 x 10 <sup>19</sup>	2 x 10 <sup>-17</sup> - 2 x 10 <sup>-14</sup>
<b>Ακτίνες-γ</b>	< 0.01 nm	> 3 x 10 <sup>19</sup>	> 2 x 10 <sup>-14</sup>

Εικόνα 68: Περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

Οι κύριες διαιρέσεις του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος ορίζονται στην ουσία αυθαίρετα, αφού μεταξύ συγκεκριμένων ζωνών του φάσματος υπάρχουν πολλές υποδιαιρέσεις (αποχρώσεις), επειδή η μετάβαση από τη μια ζώνη φάσματος στην άλλη είναι βαθμιαία και όχι απότομη.

### Φασματοσκοπία [21]

Φασματοσκοπία ήταν αρχικά η μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ ύλης και ακτινοβολίας ως συνάρτηση του μήκους κύματος ( $\lambda$ ). Στην πραγματικότητα, ιστορικά, η φασματοσκοπία αναφερόταν στη χρήση του ορατού φωτός που διασκορπιζόταν στα μήκη κύματος του, π.χ. από ένα πρίσμα. Αργότερα η έννοια επεκτάθηκε σε μεγάλο βαθμό να περιλαμβάνει κάθε μέτρηση μιας ποσότητας είτε ως συνάρτηση του μήκους κύματος είτε της συχνότητας. Το είδος της φασματοσκοπίας εξαρτάται από τη φυσική ποσότητα που μετράται. Κανονικά, η ποσότητα αυτή είναι μια ένταση, είτε της ενέργειας που παράγεται είτε που απορροφάται. Έτσι έχουμε τα εξής ήδη φασματοσκοπίας:

- Ηλεκτρομαγνητική φασματοσκοπία: περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις της ύλης με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, όπως το φως.
- Ηλεκτρονική φασματοσκοπία: περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις με δέσμη ηλεκτρονίων. Η φασματοσκοπία Auger περιλαμβάνει την εισαγωγή του Auger αποτελέσματος από μια δέσμη ηλεκτρονίων. Στην περίπτωση αυτή, η μέτρηση συνήθως περιλαμβάνει την κινητική ενέργεια των ηλεκτρονίων ως μεταβλητή.
- Φασματομετρία μάζας: αφορά την αλληλεπίδραση φορτισμένων ειδών από μαγνητικά ή / και ηλεκτρικά πεδία, με αποτέλεσμα το φάσμα μάζας. Ο όρος φασματοσκοπία μάζας είναι παρωχημένος, για την τεχνική που είναι κυρίως μια μορφή μετρήσεων, αλλά ταυτόχρονα παράγει ένα φάσμα για την παρατήρηση. Αυτό το φάσμα έχει τη μάζα  $m$  ως μεταβλητή.
- Ακουστική φασματοσκοπία: αφορά την συχνότητα του ήχου.
- Διηλεκτρική φασματοσκοπία: αφορά τη συχνότητα ενός εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου.
- Μηχανική φασματοσκοπία: αφορά τη συχνότητα μιας εξωτερικής μηχανικής πίεσης, π.χ. μια ροπή στρέψης που εφαρμόζεται σε ένα κομμάτι του υλικού.

Η φασματοσκοπική τεχνική που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της συγκέντρωσης ή του ποσού ενός συγκεκριμένου είδους ονομάζεται φασματομετρία ενώ το μέσο που εκτελεί αυτές τις μετρήσεις φασματόμετρο ή spectrograph. Μια ιδιαίτερη εφαρμογή της φασματοσκοπίας συναντάται στην αστρονομία, όπου η φασματοσκοπία χρησιμεύει στην ανάλυση των ιδιοτήτων των μακρινών αντικειμένων. Τα μεγαλύτερα τηλεσκόπια έχουν φασματόμετρα που χρησιμοποιούνται είτε για την μέτρηση της χημικής σύστασης και των φυσικών ιδιοτήτων των αστρονομικών αντικειμένων είτε για την μέτρηση των ταχυτήτων τους από την μετακίνηση Doppler των φασματικών γραμμών. Χρησιμοποιείται επίσης στην φυσική και αναλυτική χημεία για τον προσδιορισμό των υλικών μέσω του φάσματος ανάκλασης ή απορρόφησης τους. Επομένως, η φασματοσκοπία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάδειξη ιδιαίτερων φασματικών

χαρακτηριστικών, τα οποία οφείλονται στους χημικούς δεσμούς των στερεών, υγρών ή αερίων σωμάτων.

Η φασματοσκοπία θα μπορούσε επομένως να οριστεί ως η χρήση των φαινομένων αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη με σκοπό την ποσοτική ή ποιοτική ανάλυση της ύλης ή τη μελέτη φυσικών διεργασιών. Τα φαινόμενα αυτά είναι τα εξής:

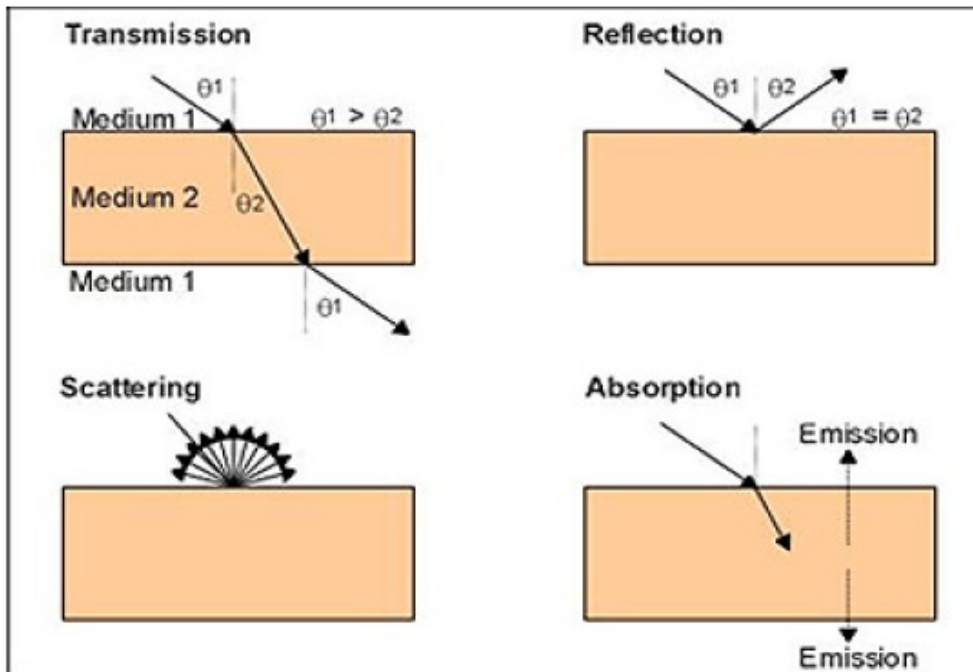
- ✓ απορρόφηση (absorption)
- ✓ εκπομπή (emission)
- ✓ ανάκλαση (reflection)
- ✓ σκέδαση (scattering)

Οι περισσότερες φασματοσκοπικές μέθοδοι διαφοροποιούνται είτε ως ατομικές ή μοριακές με βάση το αν εφαρμόζονται σε άτομα ή μόρια. Σύμφωνα με αυτή τη διάκριση, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τη φύση των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων:

- Φασματοσκοπία απορρόφησης: χρησιμοποιεί την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος στην οποία μια ουσία απορροφά.
- Φασματοσκοπία εκπομπής: χρησιμοποιεί την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος στην οποία μια ουσία ακτινοβολεί(εκπέμπει). Η ουσία πρώτα πρέπει να απορροφά την ενέργεια. Αυτή η ενέργεια μπορεί να είναι από ποικίλες πηγές, η οποία καθορίζει το όνομα της μετέπειτα εκπομπής.
- Φασματοσκοπία σκέδασης (διασποράς): μετρά την ποσότητα του φωτός που μια ουσία διασκορπίζει σε ορισμένα μήκη κύματος, τυχαίες γωνίες, και γωνίες πόλωσης. Η διαδικασία διασποράς είναι πολύ ταχύτερη από την διαδικασία απορρόφησης/εκπομπής. Μια από τις πιο χρήσιμες εφαρμογές της φασματοσκοπίας σκέδασης του φωτός είναι η φασματοσκοπία Raman.

Οι μέθοδοι φασματοσκοπίας, δηλαδή οι διατάξεις και οι διαδικασίες που ακολουθούνται προκειμένου να μελετηθεί η αλληλεπίδραση του φωτός με την ύλη, μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες σύμφωνα με την ιδιότητα του αντικειμένου το οποίο θα μελετηθεί. Συγκεκριμένα, η πιο απλή μορφή φασματοσκοπίας είναι αυτή που αφορά τη μέτρηση για ένα μοναδικό σημείο και ονομάζεται αντίστοιχα φασματοσκοπία σημείου. Στην περίπτωση αυτή, οι διατάξεις που χρησιμοποιούνται είναι πολύ απλές και συνήθως αποτελούνται από ένα φασματόμετρο και μια οπτική ίνα. Στην περίπτωση που η μέτρηση πρέπει να γίνει σε διαστάσεις εικόνες, τότε χρησιμοποιούνται πιο πολύπλοκες διατάξεις και οι μέθοδοι που εφαρμόζονται συνήθως είναι η πολυφασματική ή η υπερφασματική απεικόνιση.

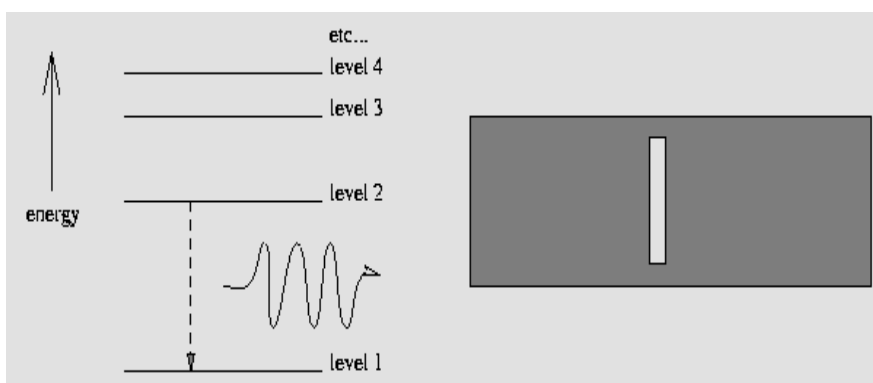
Παρακάτω φαίνονται φαινόμενα που συμβαίνουν όταν το φως έρθει σε επαφή με κάποια επιφάνεια ενός άλλου μέσου.



Εικόνα 69: Φαινόμενα που συμβαίνουν όταν το φως έρθει σε επαφή με κάποια επιφάνεια ενός άλλου μέσου

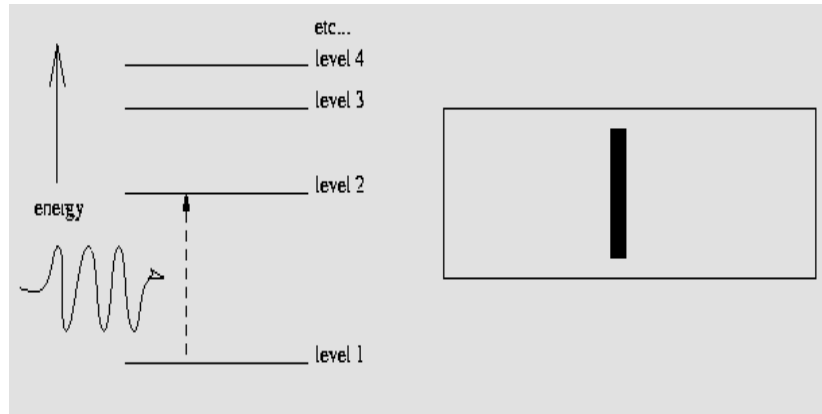
### Απορρόφηση – Εκπομπή

Ένα άτομο υδρογόνου πέφτει από το 2<sup>ο</sup> επίπεδο ενέργειας στο 1<sup>ο</sup>, εκπέμποντας ένα κύμα φωτός με ενέργεια ίση με τη διαφορά μεταξύ των ενεργειακών επιπέδων 2 και 1 ( $E_2 - E_1$ ). Η μετάπτωση από την διεγερμένη κατάσταση level 2 στην αρχική κατάσταση level 1, με την ταυτόχρονη εκπομπή ενός φωτονίου με συχνότητα  $\omega$ , όπου  $h\omega = E_2 - E_1$ , ονομάζεται εκπομπή (emission). Η ενέργεια ( $h\omega = E_2 - E_1$ ) αυτή αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο χρώμα, ή μήκος κύματος του φωτός - και έτσι βλέπουμε μια φωτεινή γραμμή σε αυτό το ακριβές μήκος κύματος! ... ένα φάσμα εκπομπής γεννιέται, όπως φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 70: Ένα φάσμα εκπομπής γεννιέται

Αντίστροφα, έστω ότι το άτομο βρίσκεται στο επίπεδο level1, με ενέργεια E1. Τα ηλεκτρόνια του ατόμου αυτού μπορούν να μεταβούν σε μία διεγερμένη κατάσταση level2 υψηλότερης ενέργειας E2, αν αλληλεπιδράσει με αυτό θερμική ακτινοβολία πυκνότητας ενέργειας J και συχνότητας  $\omega$ , τέτοιας ώστε το γινόμενο  $h\omega$  να ισούται με τη διαφορά ενέργειας των δύο επιπέδων,  $h\omega = E2 - E1$ . Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται απορρόφηση (absorption). Κατά το φαινόμενο αυτό μια σκοτεινή γραμμή απορρόφησης φάσματος έχει γεννηθεί, όπως φαίνεται παρακάτω:

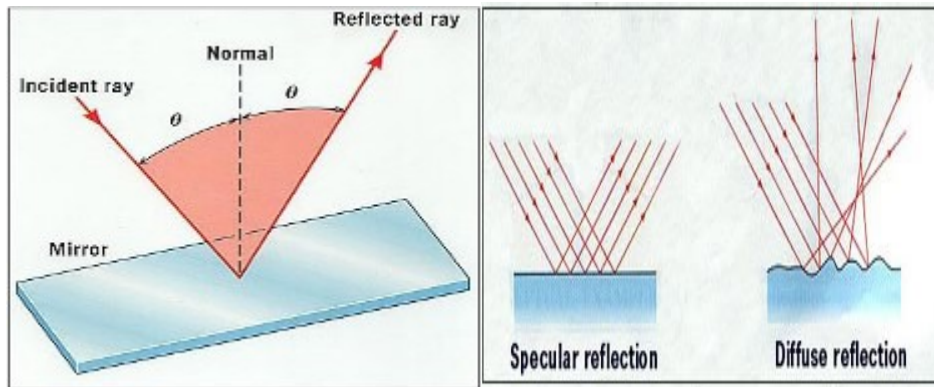


Εικόνα 71: Ένα φάσμα απορρόφησης γεννιέται

### Ανάκλαση – Σκέδαση

Ανάκλαση του φωτός είναι το φαινόμενο εκείνο κατά το οποίο το φως επιστρέφει μετά την πρόσκρουση του σε μια επιφάνεια. Η ανάκλαση έχει να κάνει με κύματα. Μέρος του κύματος του φωτός ή όλο το κύμα παραμένει στο ίδιο μέσο μετά την ανάκλαση. Κατά τη διάρκεια της ανάκλασης η γωνία που σχηματίζει η κατεύθυνση κίνησης του κύματος με την κάθετη προς την επιφάνεια ανάκλασης ονομάζεται γωνία πρόσπτωσης ενώ η γωνία μεταξύ της κατεύθυνσης κίνησης του ανακλώμενου κύματος και της κάθετης γωνία ανάκλασης. Η γωνία πρόσπτωσης είναι ίση με την γωνία ανάκλασης σύμφωνα με το νόμο του Snell.

Όταν το φως συναντά έναν καθρέφτη αντανακλάται και ό,τι ακολουθεί είναι η αναπαράσταση της εικόνας μας πάνω στον καθρέφτη. Αυτό όμως δεν είναι η συνηθισμένη κατάσταση, επειδή ένας καθρέφτης θεωρείται ότι είναι μια τέλεια επιφάνεια χωρίς ανωμαλίες στην επιφάνεια του. Τις περισσότερες φορές το φως δεν συναντά επίπεδες επιφάνειες. Έτσι μιλάμε για κατοπτρική ανάκλαση (specular reflection) εάν η ακτινοβολία ανακλάται προς μία κατεύθυνση (όπως σε ένα καθρέφτη) ή διαχυτική ανάκλαση (diffuse reflection) εάν η ανακλώμενη ακτινοβολία εμφανίζει ισοκατανομή της ισχύος προς πολλές διευθύνσεις.



Εικόνα 72: Γωνία πρόσπτωσης ίση με γωνία ανάκλασης-----Περιπτώσεις ανάκλασης

Στην πραγματικότητα κάθε επιφάνεια ανακλά με τρόπο που είναι ενδιάμεσος αυτών των δύο ακραίων καταστάσεων. Ο παράγοντας που παίζει ρόλο είναι η τραχύτητα (roughness) του στόχου (δηλαδή μια κλίμακα μήκους  $L$ ) σε σχέση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας  $\lambda$ . Ουσιαστικά, όταν το μήκος κύματος της ακτινοβολίας είναι πολύ μεγαλύτερο από τις μικρο-ανωμαλίες της επιφάνειας πρόσπτωσης αυτή δεν μπορεί να δει τις ανωμαλίες αυτές και άρα η επιφάνεια μοιάζει με κάτοπτρο και έχουμε κατοπτρική ανάκλαση σε αντίθετη περίπτωση με μικρότερο μήκος κύματος έχουμε διαχυτική.

Σκέδαση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο μικρά σωματίδια που αιωρούνται σε ένα μέσο με διαφορετικό δείκτη διάθλασης διαχέουν ένα μέρος της ακτινοβολίας προς όλες τις κατευθύνσεις. Η σκέδαση είναι προϊόν πολλαπλής ανάκλασης. Κατά την σκέδαση δεν γίνεται ενεργειακή μετατροπή αλλά αλλαγή της χωρικής κατανομής της ενέργειας. Η ακτινοβολία που σκεδάζεται έχει διαφορετικό μήκος κύματος, ένταση, φάση, διεύθυνση διάδοσης και πόλωση από την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Ουσιαστικά, κατά την σκέδαση απορροφάται ενέργεια από ένα σύστημα (σκεδαστής) από ένα προσπίπτον φωτόνιο και επανεκπέμπεται μέρος της ενέργειας του φωτονίου αυτού από το ίδιο σύστημα. Το φαινόμενο της σκέδασης εξαρτάται από την φύση του σκεδαστή (υλικό, μέγεθος) και την διάταξή του στο χώρο (τυχαία ή κατανεμημένη).

Υπάρχουν τα ακόλουθα είδη σκέδασης:

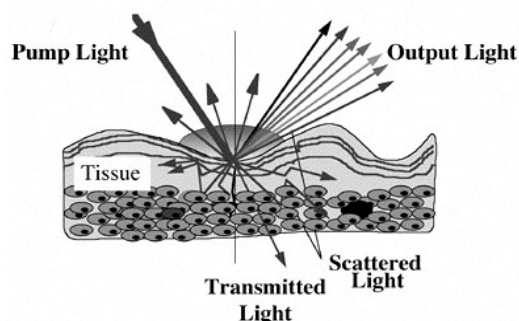
- Rayleigh
- Raman
- Mie
- Stokes και Anti-Stokes
- Brillouin

## Οπτικές ιδιότητες των ιστών

Ιστός είναι ένα κυψελωτό οργανωμένο επίπεδο μεταξύ των κυττάρων και του πλήρη οργανισμού. Κατά συνέπεια, ένας ιστός είναι ένα σύνολο κυττάρων. Αυτά δεν είναι απαραίτητα ταυτόσημα, αλλά έχουν την ίδια προέλευση και πραγματοποιούν από κοινού μια συγκεκριμένη λειτουργία. Επομένως τα όργανα σχηματίζονται από την λειτουργική ομαδοποίηση πολλαπλών ιστών. Ο ιστός είναι ένα μη-διαυγές οπτικό μέσο με μικρές διακυμάνσεις των οπτικών του ιδιοτήτων. Έτσι για την περιγραφή των οπτικών του χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται ογκομετρικές παράμετροι σκέδασης και απορρόφησης και όχι μοντέλα διακριτών κέντρων σκέδασης και απορρόφησης καταναμημένα σε ένα μη σκεδαστικό και μη απορροφητικό μέσο. Οι βασικές οπτικές παράμετροι για τη μελέτη της διάδοσης φωτεινής ακτινοβολίας σε μαλακό ιστό είναι: ο συντελεστής απορρόφησης  $\mu_a$ , ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  και ο βαθμός ανισοτροπίας  $g$ .

Ο συντελεστής απορρόφησης  $\mu_a$  έχει διαστάσεις αντίστροφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα  $1/\mu_a$  εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή μέχρι να συμβεί απορρόφηση. Ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  έχει επίσης διαστάσεις αντίστροφου μήκους ενώ το  $1/\mu_s$  δηλώνει τη μέση ελεύθερη διαδρομή που διανύει το φωτόνιο μέχρι να σκεδαστεί. Το άθροισμα των δύο αυτών συντελεστών δίνει τον ολικό συντελεστή εξασθένησης,  $\mu_t$ . Ο λόγος του συντελεστή σκέδασης προς τον ολικό συντελεστή εξασθένησης προσδιορίζει μια αδιάστατη ποσότητα  $\alpha$ , που ονομάζεται albedo. Οι τιμές μπορεί να πάρει κυμαίνονται μεταξύ 0 και 1, η τιμή 0 υποδηλώνει έλλειψη σκέδασης ενώ η τιμή 1 έλλειψη απορρόφησης.

Ο βαθμός ανισοτροπίας  $g$  υποδηλώνει την ασυμετρία στην περίπτωση σκέδασης και μερικές χαρακτηριστικές τιμές που μπορεί να λάβει είναι: 1 για εμπρόσθια σκέδαση κατά την αρχική διεύθυνση, 0 για ισότροπη σκέδαση και -1 για οπισθοσκέδαση. Από το συνδυασμό του συντελεστή σκέδασης  $\mu_s$  και του βαθμού ανισοτροπίας  $g$  προκύπτει μια άλλη οπτική παράμετρος για την περιγραφή της σκέδασης, ο ενεργός συντελεστής σκέδασης  $\mu_s' = \mu_s(1-g)$ . Έχει διαστάσεις αντίστροφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα  $1/\mu_s'$  εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή έως η τροχιά του φωτονίου γίνει τυχαία.



Εικόνα 73: Οπτικές ιδιότητες των ιστών

Για την περιγραφή των γεγονότων σκέδασης χρησιμοποιείται και η συνάρτηση φάσης,  $p(s, s')$  όπου  $s, s'$  μοναδιαία διανύσματα διεύθυνσης. Η συνάρτηση αυτή εκφράζει το ποσοστό του φωτός, το οποίο εφόσον συμβεί σκέδαση, θα σκεδαστεί από την αρχική διεύθυνση  $s$ , στη διεύθυνση  $s'$ . Συνήθως δίνεται ως συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας οπότε και θα πρέπει να ισχύει:

$$\int_{4\pi} p(s, s') d\omega = 1$$

όπου  $d\omega$  είναι η στοιχειώδης στερεά γωνία κατά τη διεύθυνση  $s$ .

Συνήθως και για λόγους απλότητας η συνάρτηση φάσης εκφράζεται ως συνάρτηση μόνο της γωνίας μεταξύ των δύο διευθύνσεων  $s, s'$ . Η απλούστερη έκφραση για τη συνάρτηση φάσης αντιστοιχεί στην περίπτωση της ισότροπης σκέδασης, όπου η  $p(s, s')$  είναι σταθερή και ισούται σύμφωνα με την παραπάνω σχέση κανονικοποίησης με  $1/4\pi$ . Συνήθως η μορφή της συνάρτησης φάσης δεν είναι γνωστή και μια άλλη παράμετρος το μέσο συνημίτονο της συνάρτησης φάσης ή βαθμός ανισοτροπίας  $g$  χρησιμοποιείται.

$$g = \int_{4\pi} p(s, s')(ss') d\omega = 1$$

Η μελέτη των ιστών είναι γνωστή ως ιστολογία ή σε σχέση με την ασθένεια ιστοπαθολογία. Τα κλασικά εργαλεία για τη μελέτη των ιστών είναι:

- 1) το μπλοκ παραφίνης στο οποίο ο ιστός είναι ενσωματωμένος και στη συνέχεια χωρισμένος
- 2) η ιστολογική κηλίδα
- 3) το οπτικό μικροσκόπιο

Κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες, οι εξελίξεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν ενισχύσει τις λεπτομέρειες που μπορούν να παρατηρηθούν στους ιστούς. Με αυτά τα εργαλεία, οι κλασικές εμφανίσεις των ιστών μπορούν να εξεταστούν στην υγεία και την ασθένεια, επιτρέποντας σημαντική βελτίωση στην κλινική διάγνωση και πρόγνωση.

### Περιγραφή της διάδοσης του φωτός στους ιστούς

Στους ιστούς, το φως σκεδάζεται και απορροφάται και η μαθηματική περιγραφή των χαρακτηριστικών διάδοσης είναι δυνατόν να γίνει με δύο διαφορετικούς τρόπους, την αναλυτική θεωρία και τη θεωρία μεταφοράς.

Η αναλυτική θεωρία, στηρίζεται σε βασικές εξισώσεις όπως οι εξισώσεις Maxwell ή η κυματική εξίσωση, εισάγει τις ιδιότητες σκέδασης και απορρόφησης και καταλήγει σε διαφορικές ή ολοκληρωτικές εξισώσεις για στατιστικές ποσότητες όπως είναι οι διακυμάνσεις και οι συναρτήσεις συσχέτισης. Έχει αυστηρή μαθηματική δόμηση, είναι όμως πρακτικά αδύνατη η εξαγωγή μιας σχέσης που να έχει συμπεριλάβει πλήρως όλα τα φαινόμενα. Η θεωρία μεταφοράς δεν ξεκινά με τις εξισώσεις Maxwell. Περιγράφει άμεσα τη μεταφορά ισχύος δια μέσου των ιστών. Η ανάπτυξη της θεωρίας είναι ευρεστική και στερείται της αυστηρότητας της αναλυτικής θεωρίας. Η θεωρία μεταφοράς έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς και εφαρμόζεται σε μεγάλο αριθμό πρακτικών προβλημάτων.

## Θεωρία Μεταφοράς

Η θεωρία αυτή αντιμετωπίζει άμεσα το θέμα της διάδοσης της ενέργειας. Βασίζεται στην εξίσωση μεταφοράς:

$$s \nabla L(r, s) = -(\mu_a + \mu_s) L(r, s) + \mu_s \int_{4\pi} p(s, s') L(r, s') d\omega$$

Η βασική φυσική ποσότητα για τη μελέτη της διάδοσης της φωτεινής ακτινοβολίας είναι η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας  $L(r, s) (W m^{-2} sr^{-1})$ .

Το πρώτο μέλος της παραπάνω εξίσωσης περιγράφει το ρυθμό αλλαγής ροής ακτινοβολίας σε ένα σημείο που καθορίζεται από το διάνυσμα  $r$  κατά την κατεύθυνση του μοναδιαίου διανύσματος  $s$ . Η αλλαγή αυτή ισούται με την απώλεια λόγω απορρόφησης και σκέδασης συν το κέρδος από τη σκέδαση από όλες τις άλλες διευθύνσεις  $s'$  στη διεύθυνση  $s$ . Για την εξαγωγή της εξίσωσης μεταφοράς έχουν γίνει κάποιες υποθέσεις. Έτσι, απαιτείται ανεξαρτησία των σκεδαστών μεταξύ τους. Η συνάρτηση φάσης μπορεί να περιγράψει συνολικά τη διαδικασία της σκέδασης για όλους τους σκεδαστές.

Η κατανομή της ροής της ακτινοβολίας βρίσκεται στη μόνιμη κατάσταση (μια προσέγγιση αρκετά ικανοποιητική εφόσον η διάρκεια έκθεσης είναι μεγαλύτερη από λίγα nsec). Επίσης έχει γίνει η υπόθεση ότι δεν υπάρχουν στο μέσο άλλες πηγές ακτινοβολίας, σε αντίθετη περίπτωση θα πρέπει στο δεύτερο μέλος της εξίσωσης να υπάρχει και ένας όρος πηγής. Τέλος τα φωτόνια θεωρούνται μονοενεργειακά, οι σκεδάσεις ελαστικές ενώ αγνοούνται φαινόμενα πόλωσης και φθορισμού.

Δεν υπάρχει γενική αναλυτική λύση για την εξίσωση μεταφοράς. Για το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφορες προσεγγίσεις όπως η θεωρία διάχυσης καθώς και προσομοιώσεις Monte Carlo. Η επιλογή του μοντέλου είναι ισχυρά εξαρτώμενη από τις οπτικές ιδιότητες του ιστού, ιδιαίτερα από την albedo και το βαθμό ανισοτροπίας  $g$ .

Γενικότερα θα μπορούσαμε να διακρίνουμε τρεις περιοχές:

- (α) περιοχή όπου κυριαρχεί η απορρόφηση
- (β) περιοχή όπου κυριαρχεί η σκέδαση
- (γ) περιοχή όπου και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα.

### Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η απορρόφηση

Η απορρόφηση του φωτός στο υπεριώδες οφείλεται στην παρουσία πρωτεϊνών και DNA, στο ορατό και στο εγγύς υπέρυθρο καθορίζεται από τη συγκέντρωση χρωμοφόρων όπως η αιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, ενώ για μεγαλύτερα μήκη κύματος στο υπέρυθρο έντονη απορρόφηση παρουσιάζει το νερό.

Το μέγιστο απορρόφησης για τους αρωματικούς δακτυλίους των πρωτεϊνών εντοπίζεται στην περιοχή του υπεριώδους μεταξύ 260 και 280 nm. Η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης είναι ισχυρά εξαρτώμενη από το μήκος κύματος: αυξάνεται με έναν πολλαπλασιαστικό παράγοντα περίπου 5 από το ιώδες στο κίτρινο και ελαττώνεται κατά 10 και 100 φορές για μετάβαση από το κίτρινο στο κόκκινο ή στο εγγύς υπέρυθρο. Η απορρόφηση της μελανίνης παρουσιάζει μια συνεχή μείωση με το μήκος κύματος και ο αντίστοιχος συντελεστής ελαττώνεται κατά 5 περίπου φορές από το ιώδες προς το κοντινό υπέρυθρο. Στο νερό, η απορρόφηση αυξάνεται σημαντικά για μήκη κύματος μεγαλύτερα

από 1.4 μm.

Για την επιλογή της περιοχής όπου η απορρόφηση υπερτερεί έναντι της σκέδασης εφαρμόζεται το κριτήριο  $\mu_a > 10\mu_s(1-g)$ . Έτσι για μήκη κύματος  $\lambda < 250$  nm και  $\lambda > 2000$  nm το φαινόμενο της απορρόφησης κυριαρχεί. Στην περίπτωση αυτή και για δέσμη φωτεινής ακτινοβολίας που προσπίπτει κάθετα στην επιφάνεια του ιστού υπάρχει μικρή πλευρική διάχυση της ακτινοβολίας λόγω της μικρής συνεισφοράς της σκέδασης. Ο ρυθμός ενεργειακής ροής ελαττώνεται με το βάθος,  $z$ , ακολουθώντας σε αρκετά καλή προσέγγιση μια απλή εκθετική σχέση (Νόμος του Beer):

$$\psi(z) = \psi_0 e^{-\mu_a z}$$

Η ακτινοβολία διατηρεί την εμπρόσθια διεύθυνση κατά τη διάδοση της μέσα στον ιστό και με πολύ αργό ρυθμό γίνεται πιο ισότροπη λόγω σκέδασης. Επίσης και πιο σύνθετες γεωμετρίες ακτινοβολίας και μοντελοποίησης ιστού μπορούν εύκολα να μελετηθούν στην περίπτωση που κυριαρχεί το φαινόμενο της απορρόφησης.

### Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η σκέδαση

Η σκέδαση κυριαρχεί της απορρόφησης ( $\mu_s(1-g) > 10\mu_a$ ) για μήκη κύματος στην περιοχή του μακρινού ορατού και κοντινού υπέρυθρου (600-1200 nm). Η περιοχή αυτή χαρακτηρίζεται σαν οπτικό παράθυρο εύκολης διέλευσης της οπτικής ακτινοβολίας. Αυτό συμβαίνει γιατί στην περιοχή αυτή δεν υπάρχει έντονη απορρόφηση από τα βιολογικά μόρια των ιστών. Αν και ο ολικός συντελεστής εξασθένησης είναι μεγάλος για την περιοχή αυτή, η μεγάλη τιμή της albedo σε συνδυασμό με την υψηλή τιμή του βαθμού ανισοτροπίας (εμπρόσθια σκέδαση) έχει ως αποτέλεσμα σημαντικό βάθος διείσδυσης στον ιστό.

Στην περίπτωση αυτή ο ρυθμός ενεργειακής ροής δεν παρουσιάζει μια απλή εκθετική εξάρτηση συναρτήσεως του βάθους αλλά εμφανίζεται αύξηση της ενεργειακής ροής στην περιοχή κοντά στην επιφάνεια του ιστού, λόγω οπισθοσκέδασης.

Η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας  $L(r,s)$  που εμφανίζεται στην εξίσωση μεταφοράς μπορεί να γραφεί ως το άθροισμα δύο επιμέρους όρων:

$$L(r,s) = L_c(r,s) + L_d(r,s)$$

Ο πρώτος όρος,  $L_c$ , αντιπροσωπεύει τα φωτόνια που δεν έχουν αλληλεπιδράσει με τον ιστό και ακολουθεί την εκθετική μείωση που περιγράφει ο νόμος του Beer. Ο δεύτερος όρος αναφέρεται στα φωτόνια που έχουν σκεδαστεί τουλάχιστον μια φορά και μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα άθροισμα άπειρων πολυωνύμων Legendre. Στην προσέγγιση της θεωρίας διάχυσης διατηρούνται οι δύο πρώτοι όροι του αθροίσματος (ισότροπης σκέδασης και σκέδασης προς την εμπρόσθια διεύθυνση). Με βάση την προσέγγιση αυτή, προκύπτει από την εξίσωση μεταφοράς, η εξίσωση διάχυσης:

$$(\nabla^2 - k^2)\psi(r) = -Q_0(r)$$

όπου  $\psi(r) = \int_{4\pi} L_d(r,s) d\omega$  η ολική διάχυτη (σκεδαζόμενη) ενεργειακή ροή.

Ο όρος πηγής στο δεύτερο μέλος προκύπτει από τη σκέδαση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και δίνεται από τη σχέση:

$$Q_0(r) = -3\mu_s[\mu_a + \mu_s(1-g) + \mu_t g](1-r_s)F_0(r)\exp(-\mu_t z)$$

όπου  $F_0(r)$  περιγράφει το προφίλ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ενώ

$$\kappa = \sqrt{3\mu_s[\mu_a + \mu_s(1-g)]} \quad \text{ο συντελεστής διάχυσης.}$$

Η ακρίβεια της εξίσωσης διάχυσης εξαρτάται από το λόγο της σκέδασης προς την απορρόφηση, την ανισοτροπία στη σκέδαση (είναι βασική η υπόθεση ότι  $L_d$  είναι μόνο γραμμικά ανισότροπη) καθώς και από την απόσταση από πηγές φωτός και συνοριακές επιφάνειες.

Οι παραπάνω προϋποθέσεις καθώς και περιορισμοί που τίθενται ως προς την αντιμετώπιση σύνθετων γεωμετριών ιστού και ακτινοβόλησης ελαττώνουν το πεδίο εφαρμογής της θεωρίας διάχυσης.

### Περιοχή στην οποία και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα

Για μήκη κύματος που δεν εμπίπτουν στις περιοχές που αναφέρθηκαν παραπάνω τα φαινόμενα της απορρόφησης και της σκέδασης είναι ισότιμα. Σε αυτή την περίπτωση για την περιγραφή της διάδοσης του φωτός στον ιστό χρησιμοποιούνται είτε ευριστικές μέθοδοι ή υπολογιστικές μοντελοποιήσεις όπως οι τεχνικές Monte Carlo. Στο πρόβλημα της οπτικής μεταφοράς η μέθοδος Monte Carlo καταγράφει τη διαδρομή των φωτονίων καθώς αυτά σκεδάζονται ή απορροφούνται. Το βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι δεν απαιτεί επιπλέον υποθέσεις ενώ μπορεί να αντιμετωπίσει και σύνθετες μοντελοποιήσεις τόσο ως προς τη γεωμετρία του ιστού όσο και στον υπολογισμό της ενεργειακής ροής κοντά σε συνοριακές επιφάνειες και πηγές.

Όταν στον ιστό προσπίπτει ακτινοβολία, ένα μικρό ποσοστό συνήθως 5% της κάθετα προσπίπτουσας δέσμης ανακλάται από την επιφάνεια (Ανάκλαση Fresnel). Αυτό οφείλεται στους διαφορετικούς δείκτες διάθλασης του αέρα ( $n_0=1$ ) και του ιστού ( $n_0>1$ ). Το υπόλοιπο της δέσμης διαδίδεται μέσα στον ιστό, σκεδάζεται πολλαπλά και ένα μέρος απορροφάται.

## Διαδικασίες που έπονται της απορρόφησης της ακτινοβολίας από τον ιστό

### Επαγόμενη θέρμανση ιστού λόγω απορρόφησης φωτεινής ακτινοβολίας

Οι θερμικές ιδιότητες των ιστών καθορίζονται από τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς: την ικανότητα μεταφοράς θερμότητας με θερμική αγωγιμότητα, την ικανότητα αποθήκευσης θερμότητας και το ρυθμό αιματικής ροής. Η εκκίνηση της θερμικής αγωγιμότητας καθορίζεται από τις χωρικές διακυμάνσεις θερμοκρασίας και πραγματοποιείται ροή θερμότητας από περιοχές υψηλής θερμοκρασίας σε χαμηλότερες θερμοκρασιακά περιοχές. Η παράμετρος που περιγράφει το μηχανισμό της αποθήκευσης θερμότητας είναι η ειδική θερμότητα, η οποία εκφράζει την αλλαγή στην αποθηκευμένη θερμότητα ανά μονάδα μάζας ιστού για αύξηση της θερμοκρασίας κατά ένα βαθμό Κελσίου.

Η θέρμανση του ιστού πραγματοποιείται με τη μετατροπή της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας σε θερμική. Η φωτοθερμική αυτή διαδικασία συμβαίνει όταν βιομόρια που έχουν απορροφήσει κβάντα φωτός και έχουν μεταβεί σε διεγερμένη κατάσταση επιστρέφουν στη βασική κατάσταση με μη ακτινοβολητικό τρόπο, μεταφέροντας την ενέργεια στον ιστό.

Στο θερμικό τρόπο αλληλεπίδρασης η επιλογή του μήκους κύματος και του είδους του ιστού καθορίζουν το βάθος διείσδυσης της φωτεινής ακτινοβολίας. Η θερμική δράση επηρεάζεται από τη διατομή της προσπίπτουσας δέσμης, το χρόνο έκθεσης καθώς και το οπτικό βάθος διείσδυσης.

Υπάρχουν οι εξής τύποι θερμικών αποτελεσμάτων:

4. Υπερθερμία (Hyperthermia): αύξηση ορισμένων βαθμών της θερμοκρασίας του ιστού (γύρω στους 41 °C). Μπορεί να αξιοποιηθεί λόγω της διαφορετικής θερμοευαισθησίας που παρουσιάζουν υγιή και καρκινικά κύτταρα.
5. Θερμοπηξία (Photocoagulation): αντιστοιχεί σε αύξηση θερμοκρασίας από 50 - 100 °C διάρκειας ορισμένων δευτερολέπτων. Μπορεί να επάγει αποξήρανση του ιστού, συνοδευόμενη από αναδιάταξη πρωτεϊνών και κολλαγόνου. Κυρίως χρησιμοποιείται για αιμόσταση.
6. Εξάτμιση (Vaporization): αντιστοιχεί σε απώλεια της ουσίας. Τα διάφορα συστατικά του ιστού εξαχνώνονται σε θερμοκρασία ανώτερη των 100 °C, σε σύντομο χρονικό διάστημα (δέκατα του δευτερολέπτου).

### Φωτοχημικές αντιδράσεις

Φωτόνια στην περιοχή του υπεριώδους και φωτόνια με μικρό μήκος κύματος (μεγάλη ενέργεια) στην περιοχή του ορατού μπορούν να προκαλέσουν φωτοχημικές αντιδράσεις ως αποτέλεσμα της απορρόφησης τους από ενδογενή χρωμοφόρα μόρια του ιστού (5). Όταν ένα φωτόνιο απορροφηθεί από ένα χρωμοφόρο μόριο και προκαλέσει μετάβαση του μορίου σε μια διεγερμένη ενεργειακή κατάσταση, η ενέργεια του φωτονίου έχει αποθηκευτεί ως χημική ενέργεια. Η διεγερμένη κατάσταση του μορίου μπορεί να συμμετάσχει στη συνέχεια σε μια χημική αντίδραση. Μια ποικιλία φωτοχημικών αντιδράσεων μπορούν να λάβουν χώρα, όπως σπάσιμο δεσμών, σχηματισμός ελεύθερων ριζών ή φωτοκαταστροφή του χρωμοφόρου.

Μια ειδικού τύπου φωτοχημική αντίδραση είναι η φωτοδυναμική θεραπεία. Μια φωτοευαισθητοποιός ουσία εισάγεται στο σώμα και συγκεντρώνεται επιλεκτικά σε

καρκινικά κύτταρα. Ακτινοβολήση με κατάλληλου μήκους κύματος φωτεινή πηγή προκαλεί διέγερση της ουσίας.

Μάλιστα η ενεργοποίηση των εξωγενών αυτών χρωμοφόρων γίνεται συνήθως από λιγότερο ενεργητικά φωτόνια με μεγαλύτερα μήκη κύματα στην περιοχή του ορατού. Η διεγερμένη κατάσταση αντιδρά με το οξυγόνο, παράγοντας τοξικά προϊόντα όπως είναι το μονήρες οξυγόνο που καταστρέφουν τα καρκινικά κύτταρα.

### Αλληλεπιδράσεις φωτός

Το φως που αλληλεπιδρά με τους ιστούς μπορεί να υποστεί σκέδαση, ανάκλαση, μετάδοση ή ακόμη και απορρόφηση. Μάλιστα το απορροφημένο φως μπορεί να προκαλέσει θερμότητα, χημική αλλαγή, φθορισμό και φωσφορισμό. Σε πολύπλοκα υλικά όλες οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις είναι πιθανές. Η φυσική και χημική δομή του βιοϋλικού είναι που καθορίζει την κάθε αλληλεπίδραση. Η απορρόφηση υπερτερεί έναντι της σκέδασης για μήκη κύματος  $\lambda < 250$  nm και  $\lambda > 2000$  nm ενώ η σκέδαση κυριαρχεί της απορρόφησης για μήκη κύματος στην περιοχή του μακρινού ορατού και κοντινού υπέρυθρου (600-1200 nm).

Τα διάφορα μέρη του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος εμφανίζουν πολύ διαφορετικές αλληλεπιδράσεις με την ύλη. Ξεκινώντας με χαμηλής συχνότητας ραδιοκύματα, το ανθρώπινο σώμα είναι απόλυτα διαφανές. Όπως κινούμαστε προς τα πάνω από τα μικροκύματα και την υπέρυθη ακτινοβολία στο ορατό φως, το σώμα μας απορροφά όλο και πιο έντονα. Στο χαμηλότερο υπεριώδες φάσμα, όλες οι UV ακτίνες του ήλιου απορροφούνται από ένα λεπτό εξωτερικό στρώμα του δέρματος μας. Στην X-ray περιοχή του φάσματος, το σώμα μας θα γίνει διαφανές και πάλι επειδή οι περισσότεροι από τους μηχανισμούς για την απορρόφηση έχουν χαθεί. Τότε απορροφάται μόνο ένα μικρό τμήμα της ακτινοβολίας, αλλά η απορρόφηση περιλαμβάνει τις πιο βίαιες εκδηλώσεις ιονισμού. Κάθε τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος έχει κβαντικές ενέργειες κατάλληλες για την διέγερση ορισμένων τύπων φυσικών διεργασιών. Τα επίπεδα ενέργειας για το σύνολο των φυσικών διαδικασιών σε ατομικό και μοριακό επίπεδο είναι κβαντισμένα (quantized), και αν δεν υπάρχουν διαθέσιμα τέτοια κβαντισμένα (quantized) επίπεδα ενέργειας με αποστάσεις που ταιριάζουν με την κβαντική ενέργεια τυχαίας ακτινοβολίας, τότε το υλικό θα είναι διαφανές για αυτήν την ακτινοβολία, και θα διέρχεται μέσα από αυτό.

### Αλληλεπιδράσεις μικροκυμάτων

Η κβαντική ενέργεια από τα φωτόνια των μικροκυμάτων κυμαίνεται στην περιοχή μεταξύ 0,00001 και 0,001 eV που είναι στην κλίμακα των ενεργειών που χωρίζει τις κβαντικές καταστάσεις της μοριακής περιστροφής και ροπής στρέψης. Η αλληλεπίδραση των μικροκυμάτων με την ύλη εκτός των μεταλλικών αγωγών είναι να περιστρέφει τα μόρια και να παράγει θερμότητα ως αποτέλεσμα της μοριακής κίνησης. Οι αγωγοί απορροφούν έντονα τα μικροκύματα και τις τυχόν χαμηλότερες συχνότητες, διότι θα προκαλέσουν ηλεκτρικά ρεύματα που θα θερμάνουν το υλικό. Η περισσότερη ύλη, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπινου σώματος, είναι σε μεγάλο βαθμό διαφανής στα μικροκύματα.

### Αλληλεπιδράσεις υπέρυθρων

Η κβαντική ενέργεια των φωτονίων στην υπέρυθρη ζώνη κυμαίνεται στην περιοχή μεταξύ 0,001 και 1,7 eV που είναι στην κλίμακα των ενεργειών που χωρίζει τις κβαντικές καταστάσεις των μοριακών δονήσεων. Η υπέρυθρη ακτινοβολία απορροφάται πιο έντονα από ότι τα μικροκύματα, αλλά λιγότερο έντονα από ότι το ορατό φως. Το αποτέλεσμα της υπέρυθρης απορρόφησης είναι η θέρμανση των ιστών αφού αυξάνεται η μοριακή παλμική δραστηριότητα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία διεισδύει στο δέρμα περισσότερο από ότι το ορατό φως και επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για φωτογραφική απεικόνιση των υποδόριων αιμοφόρων αγγείων.

### Αλληλεπιδράσεις ορατού φωτός

Ο κύριος μηχανισμός για την απορρόφηση των φωτονίων του ορατού φωτός είναι η ανάδειξη των ηλεκτρονίων σε υψηλότερα επίπεδα ενέργειας. Υπάρχουν πολλές διαθέσιμες καταστάσεις και για αυτό το ορατό φως απορροφάται έντονα. Με μια ισχυρή πηγή φωτός το κόκκινο χρώμα μπορεί να μεταδοθεί από το χέρι ή μια πτυχή του δέρματος, δείχνοντας ότι το κόκκινο άκρο του φάσματος δεν απορροφάται τόσο έντονα όσο του ιώδους. Αν και η έκθεση σε ορατό φως προκαλεί θέρμανση, δεν προκαλεί ιονισμό και τους κινδύνους αυτού.

### Αλληλεπιδράσεις υπεριώδους ακτινοβολίας

Το εγγύς υπεριώδες απορροφάται πολύ έντονα από το επιφανειακό στρώμα του δέρματος κατά τις μεταβάσεις ηλεκτρονίων. Σε υψηλότερες ενέργειες, οι ενέργειες ιονισμού για πολλά μόρια επιτυγχάνονται και οι πιο επικίνδυνες photoionization διεργασίες λαμβάνουν χώρα. Το στρώμα του όζοντος στα ανώτερα στρώματα της ατμόσφαιρας είναι σημαντικό για την ανθρώπινη υγεία, διότι απορροφά τις περισσότερες από τις βλαβερές υπεριώδεις ακτίνες του ήλιου πριν φτάσουν στην επιφάνεια. Οι υψηλότερες συχνότητες στο υπεριώδες είναι οι ιονίζουσες ακτινοβολίες και μπορούν να παράγουν επιβλαβείς φυσιολογικές επιπτώσεις που κυμαίνονται από ηλιακά εγκαύματα ως καρκίνο του δέρματος. Ανησυχίες για την υγεία από την έκθεση σε UV είναι ως επί το πλείστον για την σειρά σε μήκος κύματος 290-330 nm, περιοχή που ονομάζεται UVB.

### Αλληλεπιδράσεις ακτίνων Χ

Δεδομένου ότι οι κβαντικές ενέργειες των φωτονίων των ακτίνων Χ είναι υπερβολικά υψηλές για να απορροφηθούν κατά τις μεταβάσεις ηλεκτρονίων μεταξύ των καταστάσεων για τα περισσότερα άτομα, μπορούν να αλληλεπιδράσουν με ένα ηλεκτρόνιο μόνο χτυπώντας το εντελώς έξω από το άτομο. Όλες οι ακτινογραφίες ορίζονται ως ιονίζουσα ακτινοβολία. Αυτό μπορεί να συμβεί, δίνοντας όλη την ενέργεια σε ένα ηλεκτρόνιο (photoionization) ή δίνοντας μέρος της ενέργειας στο ηλεκτρόνιο και το υπόλοιπο σε ένα χαμηλότερο ενεργειακό φωτόνιο (σκέδαση Compton).

## Πως μεταβάλλεται η απορρόφηση από το μήκος κύματος

Η απορρόφηση των φωτονίων από τους ιστούς είναι ιδιαίτερα σημαντική γιατί:

- 1) Προκαλεί ένα ενδεχόμενο θεραπευτικό ή καταστρεπτικό αποτέλεσμα στον ιστό. Χωρίς το φαινόμενο της απορρόφησης δεν υπάρχει μεταφορά ενέργειας στον ιστό και άρα μένει ανεπηρέαστος από το φως.
- 2) Η απορρόφηση του φωτός μπορεί να δώσει διαγνωστικές πληροφορίες δίνοντας μια περιγραφή της χημικής σύστασης του ιστού και λειτουργώντας ως μηχανισμός οπτικής αντίθεσης κατά την απεικόνιση του ιστού. Γι αυτό η απορρόφηση χρησιμοποιείται σε φασματοσκοπικές και απεικονιστικές εφαρμογές.

Τα μόρια που απορροφούν το φως ονομάζονται chromophores και κάποια παραδείγματα αυτών είναι το νερό, το αίμα (hemaglobin), η μελανίνη, τα αμινοξέα, οι πρωτεΐνες και τα κορεσμένα οξέα.

- Στο υπεριώδες, η απορρόφηση από τον ιστό είναι μεγάλη εξαιτίας των πρωτεϊνών και της απορρόφησης του DNA. Μάλιστα αυξάνεται στα μικρότερα μήκη κύματος.
- Στο ορατό, το αίμα είναι ένας ισχυρός απορροφητής σε ορισμένα μήκη κύματος (μπλε,πράσινο) Επειδή όμως ο όγκος του κλάσματος του αίματος είναι ένα μικρό ποσοστό στους ιστούς ο μέσος συντελεστής απορρόφησης που επηρεάζει την μεταφορά του αίματος είναι μέτριος. Ωστόσο όταν τα φωτόνια χτυπούν ένα αιμοφόρο αγγείο απορροφούνται πλήρως από το αίμα.
- Στο υπέρυθρο, η απορρόφηση αυξάνεται στα μεγαλύτερα μήκη κύματος λόγω της περιεκτικότητας των ιστών σε νερό.
- Στο κόκκινο και near-infrared (NIR) η απορρόφηση είναι ελάχιστη. Αυτή η περιοχή ονομάζεται διαγνωστικό και θεραπευτικό παράθυρο.

Οι ιδιότητες απορρόφησης των ιστών περιγράφονται από τον συντελεστή απορρόφησης ( $\mu_a$ ) που ορίζεται ως το αντίστροφο της μέσης απόστασης που ταξιδεύει το φωτόνιο πριν απορροφηθεί.

## Beer-Lambert Law

Στην οπτική, ο νόμος Beer-Lambert ή Beer's Law συσχετίζει την απορρόφηση του φωτός με τις ιδιότητες του υλικού μέσα στο οποίο ταξιδεύει. Πρόκειται για έναν συνδυασμό δύο νόμων που περιγράφουν την απορρόφηση μίας μονοχρωματικής ακτίνας φωτός από ένα διαφανές μέσο, μέσα από το οποίο διέρχεται:

1. Beer's Law: η ένταση του μεταδιδόμενου φωτός μειώνεται εκθετικά όσο η συγκέντρωση του μέσου αυξάνεται
2. Lambert's Law: η ένταση του μεταδιδόμενου φωτός μειώνεται εκθετικά όσο η απόσταση που διανύει η ακτίνα όσο διέρχεται το μέσο αυξάνεται.

Σύμφωνα με το νόμο υπάρχει λογαριθμική σχέση μεταξύ της μετάδοσης του φωτός μέσω ενός υλικού, της συγκέντρωσης του υλικού και τη διαδρομή που ακολούθησε το φως.

Πειραματικές μετρήσεις γίνονται συνήθως από την άποψη της διαπερατότητας (T), η οποία ορίζεται ως:

$$T = I / I_0$$

όπου I είναι η ένταση του φωτός αφού περάσει μέσα από το δείγμα και I<sub>0</sub> είναι η αρχική ένταση του φωτός. Η σχέση μεταξύ A και T είναι:

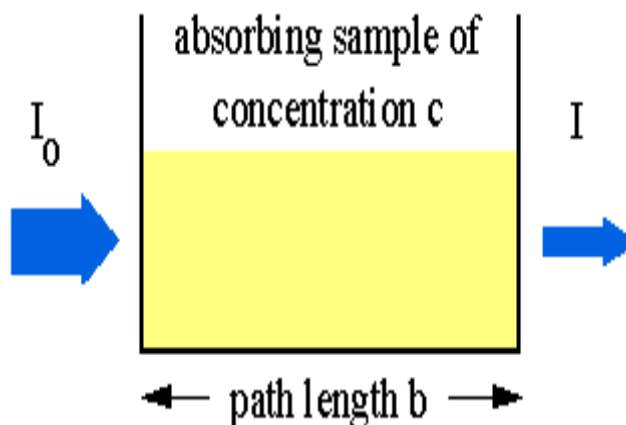
$$A = -T \log = -\log (I / I_0)$$

Σύγχρονα μέσα απορρόφησης μπορεί να εμφανίσουν συνήθως τα δεδομένα είτε ως διαπερατότητα, %-διαπερατότητα, ή απορρόφηση. Μια άγνωστη συγκέντρωση του καταλύτη μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέτρηση της ποσότητας φωτός που απορροφά ένα δείγμα και εφαρμογή του νόμου του Beer. Εάν ο συντελεστής απορρόφησης δεν είναι γνωστός, η άγνωστη συγκέντρωση μπορεί να προσδιοριστεί με τη χρήση μιας καμπύλης απορρόφησης συναρτήσεως της συγκέντρωσης που προέρχεται από τα πρότυπα.

Απλά ο νόμος υποστηρίζει ότι όταν ένα δείγμα τοποθετείται στη δέσμη ενός φασματομέτρου, υπάρχει μια άμεση και γραμμική σχέση μεταξύ του ποσού (συγκέντρωση) των συστατικών του (-ους) και της ποσότητας ενέργειας που απορροφά. Σε μαθηματικούς όρους:

$$A_\lambda = \epsilon_\lambda bc$$

όπου A<sub>λ</sub> είναι τιμή απορρόφησης του μέσου σε συγκεκριμένο μήκος κύματος (ή συχνότητα) λ, ε<sub>λ</sub> είναι ο συντελεστής απορροφητικότητας του υλικού (στοιχείου) σε αυτό το μήκος κύματος, b είναι το pathlength μέσα από το δείγμα και C είναι η συγκέντρωση. Ο συντελεστής απορροφητικότητας για κάθε υλικό είναι διαφορετικός, αλλά για μια συγκεκριμένη ένωση σε ένα επιλεγμένο μήκος κύματος του, η τιμή αυτή είναι σταθερή.



Εικόνα 74: Απορρόφηση του φωτός από ένα δείγμα.

Συνοψίζοντας ο νόμος μπορεί να εκφραστεί και ως εξής :

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} b c \quad ,$$

όπου:

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I_1}{I_0}\right)$$

και

- $A$  είναι η απορρόφηση του μέσου
  - $I_0$  είναι η ένταση του προσπίπτοντος στο μέσο φωτός
  - $I_1$  είναι η ένταση του φωτός αφού έχει περάσει μέσα από το μεσο
  - $\varepsilon$  είναι η μοριακή απορροφητικότητα του απορροφητή ,  $L \text{ g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
  - $b$  είναι η απόσταση που διανύει το φως μέσα από το υλικό,  $\text{cm}$
  - $c$  είναι η συγκέντρωση των υλικών που απορροφούν μέσα στο μέσον,  $\text{g L}^{-1}$
- 
- Απορρόφηση 0 σε κάποιο μήκος κύματος σημαίνει ότι το φως του συγκεκριμένου μήκους κύματος δεν έχει απορροφηθεί. Οι εντάσεις του δείγματος και της δέσμης αναφοράς είναι και οι δύο το ίδιο, έτσι ώστε η αναλογία  $I_0 / I_1 = 1$ .
  - Απορρόφηση 1 συμβαίνει όταν το 90% του φωτός σε αυτό το μήκος κύματος έχει απορροφηθεί - πράγμα που σημαίνει ότι η ένταση είναι 10% του τι θα ήταν διαφορετικά. Στην περίπτωση αυτή,  $I_0/I_1 = 100/10 = 10$  και  $\log_{10}$  του 10 είναι 1.

Αυτός ο νόμος τείνει να γίνει αναξιόπιστος για πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, ειδικά εάν το μέσον έχει υψηλό δείκτη σκέδασης. Επίσης εάν το φως έχει μεγάλη ένταση μπορεί να έχουμε και αποκλίσεις.

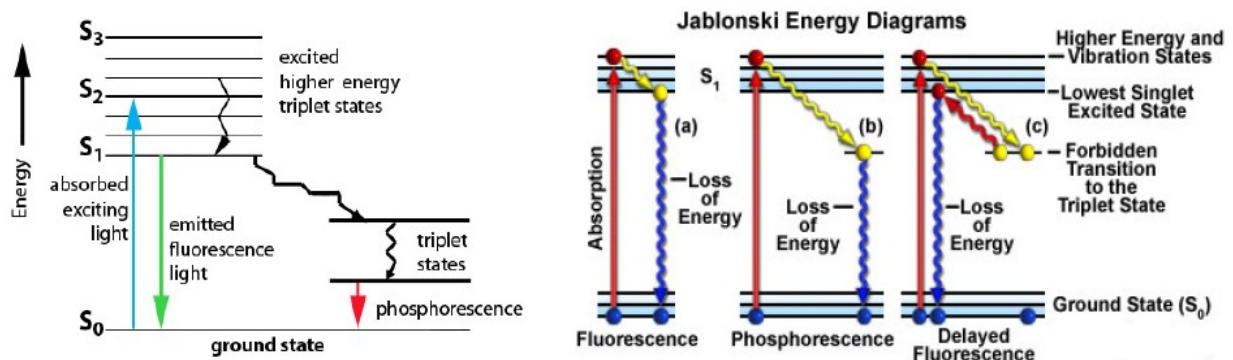
### Περιορισμοί του νόμου Beer-Lambert

Η γραμμικότητα του Beer-Lambert νόμου περιορίζεται από χημικούς και οργανικούς παράγοντες. Αιτίες της μη-γραμμικότητας (non-linearity) είναι:

- Αποκλίσεις στους συντελεστές απορροφητικότητας σε υψηλές συγκεντρώσεις ( $> 0.01M$ ), λόγω των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων σε στενή γειτνίαση
- Σκέδαση του φωτός που οφείλεται στα σωματίδια του δείγματος
- Φθορισμός ή φωσφορισμός του δείγματος
- Αλλαγές στο δείκτη διάθλασης σε υψηλή συγκέντρωση καταλύτη
- Αλλαγές στη χημική ισορροπία ως συνάρτηση της συγκέντρωσης
- Μη μονοχρωματική ακτινοβολία, οι αποκλίσεις μπορεί να ελαχιστοποιηθούν με τη χρήση ενός σχετικά επίπεδου μέρους του φάσματος απορρόφησης, όπως είναι το ανώτατο όριο της ζώνης απορρόφησης

### Φθορισμός – Φωσφορισμός

Όταν ένα εξωτερικό ηλεκτρόνιο διεγείρεται σε ένα υψηλότερο επίπεδο με απορρόφηση ακτινοβολίας, τότε αυτό μπορεί να επιστρέψει στη βασική στοιβάδα με ή χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Στην περίπτωση της εκπομπής έχουμε δύο διαφορετικές διεργασίες με διαφορετικά χαρακτηριστικά: τον φθορισμό (fluorescence) και τον φωσφορισμό (phosphorescence). Συνολικά τα δύο φαινόμενα ονομάζονται φωταύγεια (luminescence). Η βασική διαφορά μεταξύ φθορισμού και φωσφορισμού είναι ο χρόνος που διαρκεί η ακτινοβολία μετά τη διέγερση. Η ερμηνεία των δύο φαινομένων δίνεται σχηματικά με τα γνωστά ως διαγράμματα Jablonski.



Εικόνα 75: Διαγράμματα Jablonski

Κάθε μόριο κατέχει μια σειρά ενεργειακών σταθμών και μπορεί να μεταβεί από μία χαμηλότερη σε μία υψηλότερη στάθμη με την απορρόφηση κβάντου φωτεινής ακτινοβολίας, ενέργειας ίσης με τη διαφορά των δύο ενεργειακών επιπέδων. Σε κάθε ηλεκτρονιακή στάθμη αντιστοιχεί και ένα πλήθος δονητικών επιπέδων του μορίου. Η βασική στάθμη συμβολίζεται με G, η πρώτη διεγερμένη μονήρης ηλεκτρονιακή στάθμη με S\* και η πρώτη διεγερμένη τριπλή κατάσταση με T.

Η διαφορά μεταξύ μονήρους και τριπλής διεγερμένης κατάστασης σχετίζεται με το συνολικό spin των ηλεκτρονίων της στάθμης. Σε ένα πολυατομικό μόριο, η βασική κατάσταση καταλαμβάνεται από άρτιο πλήθος ηλεκτρονίων που συνδυάζονται σε ζεύγη με αντιπαράλληλα spin. Η πολλαπλότητα M μιας στάθμης, που εκφράζει την τροχιακή στροφορμή, σχετίζεται με το συνολικό spin της στάθμης μέσω της σχέσης:

$$M = 2S + 1$$

Έτσι στην περίπτωση ζευγών ηλεκτρονίων με αντιπαράλληλα spin, το συνολικό spin είναι ίσο με μηδέν ( $S = 0$ ) και η πολλαπλότητα ισούται με τη μονάδα ( $M = 1$ ). Μια τέτοια κατάσταση ονομάζεται μονήρης (single) ηλεκτρονιακή στάθμη. Όταν το spin ενός ηλεκτρονίου αντιστραφεί, τότε στην κατάσταση αυτή υπάρχουν δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με παράλληλα spin και ολικό spin  $S = 1$  και πολλαπλότητα στάθμης  $M = 3$ . Μια τέτοια ηλεκτρονιακή στάθμη καλείται τριπλή (triplet).

Η απορρόφηση ενός κβάντου φωτός συμβαίνει σε χρονικό διάστημα της τάξης του  $10^{-15}$  sec και ακολουθείται από μετάβαση σε ανώτερη διεγερμένη ηλεκτρονιακή στάθμη. Αυτή είναι η πρώτη ή η δεύτερη διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση, ανάλογα με το αν το μόριο απορροφά φωτόνιο ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας. Η διαδικασία αυτή είναι πολύ εξειδικευμένη και ακτινοβολία συγκεκριμένης ενέργειας απορροφάται από χαρακτηριστικές μοριακές δομές. Το ηλεκτρόνιο μεταβαίνει από τη βασική σε μονήρη διεγερμένη στάθμη και οι μεταβάσεις αυτές ευθύνονται για τα φάσματα απορρόφησης των μορίων στο ορατό και το υπεριώδες.

Κατά τη διάρκεια της παραμονής του μορίου στη διεγερμένη κατάσταση, η πλεονάζουσα ενέργεια σε σχέση με την ενέργεια του χαμηλότερου δονητικού επιπέδου της στάθμης διοχετεύεται μέσω συγκρούσεων σε άλλα μόρια. Με τη διαδικασία αυτή το μόριο καταλαμβάνει το χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της διεγερμένης μονήρους στάθμης.

Το ηλεκτρόνιο θα επιστρέψει στη βασική κατάσταση με έναν από τους ακόλουθους μηχανισμούς:

- Εσωτερική μετατροπή: το μόριο μπορεί από την διεγερμένη κατάσταση, να μεταπηδήσει σε ένα κοντινό, δονητικό επίπεδο της βασικής ενεργειακής κατάστασης. Η ενέργεια χάνεται χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας μέσω δονητικής αποδιέγερσης.
- Εσωτερική μετάπτωση S\* → T\*: το διεγερμένο ηλεκτρόνιο μπορεί να μεταβεί, εάν είναι ενεργειακά δυνατό, από τη μονήρη (S\*) στην πρώτη διεγερμένη τριπλή στάθμη (T\*). Η μετάβαση από τη βασική στην τριπλή διεγερμένη είναι απαγορευμένη (πολύ απίθανη). Σε αντιδιαστολή η μετάπτωση από τη μονήρη στην τριπλή διεγερμένη στάθμη είναι περισσότερο πιθανή, αφού η ενέργεια του χαμηλότερου δονητικού επιπέδου της T\* είναι μικρότερη αυτής της S\*. Στη συνέχεια, το μόριο μπορεί να επανέλθει άμεσα στη βασική κατάσταση (G), αφού η επιστροφή στη βασική μέσω της S\* προϋποθέτει την πρόσληψη ενέργειας από το

περιβάλλον (περίπτωση καθυστερημένου φθορισμού). Η άμεση επιστροφή στην βασική κατάσταση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας ή με εκπομπή ακτινοβολίας, οπότε έχουμε το φαινόμενο του φωσφορισμού.

Εφόσον η πιθανότητα αντίστροφης μετάβασης από τη διεγερμένη τριπλή στη διεγερμένη μονήρη στάθμη είναι μικρή, η διεγερμένη τριπλή στάθμη είναι συνήθως μεγάλης διάρκειας ζωής (από msec ως λεπτά). Επίσης η σχετικά μεγάλη παραμονή των μορίων σε αυτή την κατάσταση τα καθιστά πιο επιρρεπή σε διαδικασίες αποδιέγερσης χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας.

- Μεταφορά ενέργειας μέσω κρούσεων: αν το διεγερμένο μόριο συγκρουστεί με άλλο μόριο, που βρίσκεται σε χαμηλότερο ενεργειακό επίπεδο, τότε η ενέργεια μπορεί να μεταφερθεί σε αυτό το μόριο χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως απόσβεση φθορισμού.
- Μεταφορά ενέργειας μέσω συντονισμού: η ενέργεια αυτή μπορεί να μεταφερθεί σε άλλο μόριο χωρίς επαφή μέσω μιας σύζευξης διπόλου – διπόλου ανάμεσα στα μόρια. Αν και αυτή η σύζευξη μειώνεται ανάλογα με την έκτη δύναμη της απόστασης ανάμεσα στα μόρια, ικανοποιητική μεταφορά ενέργειας μπορεί να επιτευχθεί στα βιολογικά συστήματα, για αποστάσεις μέχρι και 5 nm. Το μόριο που δέχεται την ενέργεια, πρέπει να έχει και μια κατάλληλη ενεργειακή δομή. Το φαινόμενο αυτό είναι μια παραλλαγή της απόσβεσης φθορισμού.
- Φωτοχημική αντίδραση: η ενέργεια μπορεί να επάγει μια χημική αντίδραση, δηλαδή τη δημιουργία ενός νέου είδους μορίου. Η ενέργεια καταναλώνεται κατά τη δημιουργία αυτών των ενώσεων, που έχουν διαφορετικές ιδιότητες φθορισμού από τις αρχικές.
- Εκπομπή φθορισμού: το μόριο μπορεί να μεταβεί σε ένα διεγερμένο δονητικό επίπεδο στη βασική ηλεκτρονιακή κατάσταση, με εκπομπή ενός φωτονίου. Η ενέργεια του φωτονίου και άρα το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, καθορίζεται από την ενεργειακή διαφορά μεταξύ της διεγερμένης και του δονητικού επιπέδου της βασικής ηλεκτρονιακής κατάστασης. Η διάρκεια ζωής του φθορισμού είναι της τάξης των nsec. Κατόπιν μέσω απόσβεσης και χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας, το μόριο επιστρέφει στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της βασικής κατάστασης. Εξαιτίας της απώλειας ενέργειας κατά την παραμονή του μορίου στη διεγερμένη κατάσταση η εκπεμπόμενη ενέργεια (φθορισμός) είναι μεγαλύτερου μήκους κύματος σε σχέση με την απορροφηθείσα ενέργεια. Το φάσμα φθορισμού (η κατανομή της έντασης της ακτινοβολίας φθορισμού για κάθε μήκος κύματος), εκφράζει τις διαφορετικές πιθανές μεταβάσεις από την μονήρη διεγερμένη κατάσταση στα διάφορα δονητικό επίπεδα της βασικής ηλεκτρονιακής κατάστασης. Η σχετική πιθανότητα να συμβεί κάποια από τις πιθανές διαδρομές διαφέρει από μόριο σε μόριο και εξαρτάται, όχι μόνο από τη δομή του, αλλά και από το τοπικό του περιβάλλον.

## Διαδικασίες εκπομπής και τύποι φθορισμού

Ο φθορισμός Stokes, που συνήθως παρατηρείται στις περιπτώσεις διαλυμάτων, είναι η επανεκπομπή φωτονίων με μεγαλύτερο μήκος κύματος (μικρότερη συχνότητα) σε σχέση με τα φωτόνια που απορροφώνται.

Εάν δοθεί θερμική ενέργεια σε μια διεγερμένη κατάσταση ή αν ένα υλικό έχει πολλά ενεργειακά επίπεδα υψηλής συγκέντρωσης, εκπομπή σε χαμηλότερα μήκη κύματος, από αυτά της απορρόφησης, μπορεί να συμβεί. Η διαδικασία αυτή καλείται φθορισμός anti-Stokes, και εμφανίζεται συχνά σε περιπτώσεις αραιών αερίων σε υψηλές θερμοκρασίες. Ο φθορισμός συντονισμού, επανεκπομπή φωτονίων με την ίδια ενέργεια και επομένως και με το ίδιο μήκος κύματος όπως αυτά που απορροφήθηκαν, δεν παρατηρείται σε διαλύματα, αν και συμβαίνει σε άλλες περιπτώσεις, όπως σε αέρια και σε κρυστάλλους.

Αν ένα ηλεκτρόνιο διεγείρεται με την απορρόφηση ενός φωτονίου σε υψηλότερο δονητικό επίπεδο χωρίς να μεταβεί σε ανώτερη ηλεκτρονιακή στάθμη, τότε η ενέργεια διατηρείται και ένα φωτόνιο της ίδιας ενέργειας επανεκπέμπεται μέσα σε  $10^{-15}$  sec και το ηλεκτρόνιο μεταπίπτει στην αρχική του κατάσταση. Στην περίπτωση αυτή η εκπεμπόμενη ακτινοβολία έχει το ίδιο μήκος κύματος με την απορροφηθείσα και αναφέρεται ως σκέδαση Rayleigh. Παρατηρείται σε όλα τα μήκη κύματος, η ένταση της όμως μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με την τέταρτη δύναμη του μήκους κύματος. Μπορεί να αποτελέσει πρόβλημα σε περιπτώσεις που η ένταση του φθορισμού είναι μικρή σε σύγκριση με τη διεγείρουσα ακτινοβολία καθώς και όταν τα φάσματα απορρόφησης και φθορισμού μιας ουσίας είναι πολύ κοντά μεταξύ τους.

Μια άλλη μορφή σκέδασης που σχετίζεται με τη σκέδαση Rayleigh είναι η εκπομπή Raman, η οποία εμφανίζεται στα φάσματα φθορισμού σε μικρότερα και μεγαλύτερα (πιο συνηθισμένη περίπτωση) μήκη κύματος από ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στη σκέδαση Rayleigh. Παρατηρείται σε όλα τα μήκη κύματος, η ένταση της όμως μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με την τέταρτη δύναμη του μήκους κύματος. Μπορεί να αποτελέσει πρόβλημα σε περιπτώσεις που η ένταση του φθορισμού είναι μικρή σε σύγκριση με τη διεγείρουσα ακτινοβολία καθώς και όταν τα φάσματα απορρόφησης και φθορισμού μιας ουσίας είναι πολύ κοντά μεταξύ τους.

Αυτές οι ζώνες οφείλονται σε δονητική ενέργεια που προστίθεται ή αφαιρείται από το διεγείρουσαν φωτόνιο και είναι πολύ πιο ασθενείς από την κορυφή Rayleigh. Μπορούν να αποτελέσουν όμως πρόβλημα στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται πηγές ακτινοβολίας υψηλής έντασης. Κάθε φθορίζον μόριο έχει δύο χαρακτηριστικά φάσματα: το φάσμα διέγερσης και το φάσμα εκπομπής.

## Φάσμα διέγερσης

Εκφράζει τη σχετική απόδοση των διαφόρων μηκών κύματος της διεγείρουσας ακτινοβολίας στο να επάγουν φθορισμό.

Το φάσμα διέγερσης, που λαμβάνεται με ένα φθορίμετρο, πρέπει να συμπίπτει με το φάσμα απορρόφησης του μορίου, που λαμβάνεται με ένα φασματοφωτόμετρο. Αυτό σπάνια συμβαίνει και οι διαφορές οφείλονται σε κατασκευαστικούς λόγους. Το φάσμα διέγερσης, που λαμβάνεται με ένα φθορίμετρο, είναι φάσμα «μονής-δέσμης» και δεν έχουν γίνει διορθώσεις για παράγοντες όπως είναι οι αλλαγές στην απόκριση του φωτοπολλαπλασιαστή και οι αλλαγές στο εύρος ζώνης του μονοχρωμάτορα ή στη

φωτεινή πηγή. Για να πάρουμε το διορθωμένο φάσμα μιας ουσίας η φασματική καμπύλη πρέπει να διορθώνεται με βάση αυτούς τους παράγοντες. Η εξέταση του φάσματος διέγερσης μιας ουσίας, δείχνει τις θέσεις του φάσματος απορρόφησης, που μπορούν να επάγουν εκπομπή φθορισμού.

### Φάσμα εκπομπής

Εκφράζει την κατανομή της έντασης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας στα διάφορα μήκη κύματος εκπομπής, που επάγεται για ένα μήκος κύματος διέγερσης.

Το φάσμα εκπομπής οφείλεται στην επανεκπομπή της ακτινοβολίας, που απορροφήθηκε από το μόριο. Η κβαντική απόδοση και το σχήμα του φάσματος εκπομπής, είναι ανεξάρτητα του μήκους κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης. Μόνο η ένταση φθορισμού εξαρτάται από το μήκος κύματος διέγερσης. Αν η ακτινοβολία διέγερσης είναι σε μήκος κύματος, που διαφέρει από το μέγιστο της κορυφής απορρόφησης λιγότερη ενέργεια θα απορροφάται και επομένως λιγότερη θα εκπέμπεται. Δηλαδή κάθε μήκος κύματος από το φάσμα απορρόφησης μπορεί να επάγει φθορισμό. Η κορυφή του φθορισμού, θα είναι σε κάθε περίπτωση στο ίδιο μήκος κύματος, ενώ η ένταση του θα διαφέρει ανάλογα με τη σχετική ένταση απορρόφησης.

Κάθε ζώνη απορρόφησης στην πρώτη ηλεκτρονιακή στάθμη έχει μια αντίστοιχη ζώνη εκπομπής φθορισμού. Αυτές οι ζώνες είναι κατοπτρικά είδωλα η μια της άλλης. Κορυφές φθορισμού που δεν αντιστοιχούν στα κατοπτρικά είδωλα του φάσματος απορρόφησης υποδεικνύουν σκέδαση ή την ύπαρξη προσμίξεων. Σκέδαση Rayleigh μπορεί να παρατηρηθεί στο φάσμα εκπομπής στο ίδιο μήκος κύματος με αυτό της διέγερσης καθώς και για τη διπλάσια τιμή ( $2 \lambda_{exc}$ ). Σε πολύ αραιά διαλύματα μπορεί να παρατηρηθεί και σκέδαση Raman.

Μια φυσική ποσότητα, χαρακτηριστική των φθοριζουσών ουσιών, είναι η διαφορά μεταξύ των μηκών κύματος των μεγίστων διέγερσης και εκπομπής. Αυτή η σταθερά λέγεται μετατόπιση του Stokes και υποδηλώνει την ενέργεια, που διασκορπίζεται κατά τη διάρκεια παραμονής του μορίου στη διεγερμένη κατάσταση, πριν επιστρέψει στην βασική.

Δίνεται από τη σχέση :

$$\text{μετατόπιση Stokes} = 10^{-7} (1/\lambda_{ex} - 1/\lambda_{em})$$

όπου  $\lambda_{ex}$  και  $\lambda_{em}$  είναι τα διορθωμένα μέγιστα μήκη για διέγερση και εκπομπή και εκφράζονται σε nm.

### Κβαντική απόδοση φθορισμού

Η κβαντική απόδοση φθορισμού  $\phi$  εκφράζει το λόγο της ολικής ενέργειας που εκπέμπεται από ένα μόριο ανά κβάντο απορροφώμενης ενέργειας:

$$\phi = \frac{\text{πλήθος κβάντων που εκπέμπονται}}{\text{πλήθος κβάντων που απορροφώνται}}$$

Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της  $\phi$ , τόσο μεγαλύτερος είναι ο εκπεμπόμενος φθορισμός της ουσίας. Ένα μη φθορίζον μόριο έχει κβαντική απόδοση φθορισμού ίση με μηδέν, ή πάρα πολύ κοντά στο μηδέν ώστε να είναι μη μετρήσιμο το σήμα φθορισμού. Η  $\phi$  εξαρτάται από το μήκος κύματος διέγερσης και τη θερμοκρασία.

### Ιδιότητες διεγερμένης κατάστασης

Πρέπει να τονιστεί, ότι η διεγερμένη κατάσταση ενός μορίου διαφέρει από τη βασική του κατάσταση σε φυσικές και χημικές ιδιότητες. Η διεγερμένη κατάσταση έχει διαφορετική γεωμετρία με διαφορετικές διατομικές αποστάσεις και διαφορετική διπολική ροπή. Χημικά, μεγάλες αλλαγές στην οξύτητα συμβαίνουν πηγαίνοντας, από τη βασική στη διεγερμένη κατάσταση. Για παράδειγμα έχουμε μεγάλες αλλαγές στο pH, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το φθορισμό μιας ουσίας, Έτσι, αυτός ο παράγοντας γίνεται πολύ σημαντικός στη μέτρηση της ακτινοβολίας. Τέλος μεταβολές στη χημική κατασκευή μπορεί να προκληθούν, από τη φωτεινή διέγερση του μορίου.

### Διάρκεια ζωής φθορισμού

Η διάρκεια ζωής φθορισμού  $\tau$ , αναφέρεται στο μέσο χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης δηλαδή την πιθανότητα να βρεθεί ένα συγκεκριμένο μόριο, το οποίο έχει διεγερθεί, ακόμα στη διεγερμένη κατάσταση μετά από χρόνο  $t$ , που είναι  $e^{-t/\tau}$ . Η σχέση ανάμεσα στην ένταση φθορισμού  $I$  και στη διάρκεια ζωής  $\tau$  είναι:

$$I = I_0 e^{-t/\tau}$$

όπου  $I$  είναι η ένταση φθορισμού τη στιγμή  $t$ ,  $I_0$  είναι η μέγιστη ένταση φθορισμού κατά τη διάρκεια της διέγερσης,  $t$  είναι ο χρόνος μετά τη διακοπή της ακτινοβολίας διέγερσης και  $\tau$  είναι η μέση διάρκεια ζωής της διεγερμένης κατάστασης.

### Παράγοντες που επηρεάζουν την ένταση του φθορισμού

Η σχέση ανάμεσα σε συγκέντρωση και φθορισμό είναι:

$$F = \phi I_0 (1 - e^{-\epsilon bc})$$

όπου  $\phi$  είναι η κβαντική απόδοση,  $I_0$  είναι η προσπίπτουσα φωτεινή ισχύς,  $\epsilon$  είναι ο συντελεστής μοριακής εξασθένησης,  $b$  είναι το μήκος του οπτικού δρόμου και  $c$  είναι η μοριακή συγκέντρωση. Από την παραπάνω εξίσωση φαίνεται ότι η ένταση του φθορισμού επηρεάζεται από τρεις βασικούς παράγοντες (πέρα από τη συγκέντρωση):

1. Την κβαντική απόδοση  $\phi$ : Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της  $\phi$  τόσο μεγαλύτερος θα είναι ο εκπεμπόμενος φθορισμός, όπως έχουμε ήδη συζητήσει.
2. Την ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας  $I_0$ : Θεωρητικά, όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση ακτινοβολίας τόσο μεγαλύτερος θα είναι ο φθορισμός. Στην πράξη, πολύ δυνατή ακτινοβολία διέγερσης μπορεί να προκαλέσει φωτολεύκανση του δείγματος. Εδώ πολύ χρήσιμα είναι τα laser, ως πηγές ακτινοβολίας και ειδικότερα τα παλμικά. Ενώ και πηγές ακτινοβολίας χαμηλότερης έντασης (όπως οι λάμπες υδραργύρου ή

ξένου) χρησιμοποιούνται συχνά.

3. Το συντελεστή μοριακής απορρόφησης  $\epsilon$ : Απαραίτητη προϋπόθεση για την εκπομπή φθορισμού είναι η διαδικασία της απορρόφησης. Έτσι όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής μοριακής εξασθένησης τόσο μεγαλύτερη θα είναι η ένταση φθορισμού της ουσίας.

Για πολύ αραιά διαλύματα ( $\epsilon bc < 0.05$ ) η προηγούμενη σχέση παίρνει τη μορφή, που ακολουθεί και είναι παρόμοια με το νόμο του Beer:

$$F = K\phi I_0 \epsilon bc$$

έτσι η καμπύλη του φθορισμού συναρτήσει της συγκέντρωσης, θα είναι γραμμική στις χαμηλές συγκεντρώσεις και θα φθάνει σε ένα μέγιστο για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις η απόσβεση γίνεται τόσο έντονη, με αποτέλεσμα η ένταση να μειώνεται. Η γραμμικότητα της έντασης ως προς τη συγκέντρωση ισχύει για μια ευρεία περιοχή τιμών συγκέντρωσης. Γενικότερα η γραμμικότητα θα διατηρείται μέχρι η συγκέντρωση των φθορίζουσών ουσιών να είναι αρκετά μεγάλη, ώστε να απορροφούν σημαντικές ποσότητες φωτός. Στις περιοχές που έχουμε γραμμικότητα, η απαραίτητη ενέργεια για φθορισμό θα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη στο διάλυμα. Έτσι αν το  $\epsilon$  παίρνει την τιμή  $10^2$  (που είναι αντιπροσωπευτική) και  $b=1$  cm η μέγιστη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση πρέπει να είναι  $5 \cdot 10^{-4}$  M. Η συγκέντρωση αυτή μπορεί να αυξηθεί μειώνοντας το μέγεθος της κυψελίδας που περιέχει το δείγμα.

### Περιορισμοί του φθορισμού

Το σημαντικότερο μειονέκτημα αναλυτικών τεχνικών φθορισμού είναι η μεγάλη εξάρτηση που έχει από περιβαλλοντικούς παράγοντες (όπως η θερμοκρασία, το pH κ.α.).

### Πλεονεκτήματα αναλυτικών τεχνικών φθορισμού

Τα πλεονεκτήματα της μοριακής εκπομπής (φθορισμός και φωσφορισμός) είναι:

- (α) πολύ μεγάλη ευαισθησία
- (β) καλή εξειδίκευση
- (γ) ευρεία γραμμική περιοχή

Τεχνικές φθορισμού μπορούν να ανιχνεύσουν ουσίες σε συγκεντρώσεις ακόμα και ενός μέρους σε 10 δισεκατομμύρια, μια ευαισθησία 1000 φορές μεγαλύτερη από ότι οι περισσότερες φασματοσκοπικές τεχνικές. Η μετατόπιση είναι θεμελιώδους σημασίας για την ευαισθησία των τεχνικών φθορισμού επειδή επιτρέπει την άμεση ανίχνευση των εκπεμπόμενων φωτονίων σε ένα χαμηλό υπόβαθρο, διαχωρίζοντας τα από τα φωτόνια διέγερσης. Αντίθετα σε φασματοσκοπικές τεχνικές απορρόφησης η μέτρηση είναι έμμεση, η διαφορά μεταξύ προσπίπτουσας και διαδιδόμενης δέσμης, γεγονός που μειώνει σημαντικά την ευαισθησία.

Η εξειδίκευση του φθορισμού είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού δύο βασικών λόγων:

(α) υπάρχουν λιγότερες φθορίζουσες ουσίες σε σχέση με τις ουσίες που απορροφούν. Πράγματι μόνο το 10% των ουσιών που απορροφούν εκπέμπουν φωτεινή ακτινοβολία.

(β) Δυο μήκη κύματος αξιοποιούνται στις μετρήσεις φθορισμού (διέγερσης και εκπομπής). Έτσι δύο ουσίες που απορροφούν στην ίδια φασματική περιοχή το πιο πιθανό είναι να εκπέμπουν σε διαφορετικά μήκη κύματος. Αντίστοιχα ουσίες που εκπέμπουν στο ίδιο μήκος κύματος έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να απορροφούν ακτινοβολία σε διαφορετικά μήκη κύματος.

## Εφαρμογές φασματοσκοπίας σε διάφορες περιοχές

### Μέθοδος φασματοσκοπίας επαγόμενου φθορισμού

Οι οπτικές τεχνικές επαγόμενου φθορισμού μπορούν να αξιοποιηθούν για τη διάγνωση σε βιολογικούς ιστούς. Παρέχουν τη δυνατότητα μιας μη παρεμβατικής και άμεσης (σε πραγματικό χρόνο) διάγνωσης. Το σήμα φθορισμού από προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις παρουσιάζει διαφοροποιήσεις από το συλλεγόμενο σήμα από υγιείς περιοχές. Επιπρόσθετα μπορούν να χρησιμοποιηθούν, εξωγενείς φθορίζουσες ουσίες για τη βελτίωση της διαφοροποίησης.

Ως προς τη διαγνωστική τους συνεισφορά οι οπτικές τεχνικές επαγόμενου φθορισμού βρίσκουν εφαρμογή για τη διερεύνηση αλλοιώσεων του δέρματος καθώς και επιθηλιακών στρωμάτων εσωτερικών οργάνων, όπου είναι δυνατή η ενδοσκοπική πρόσβαση. Αυτές αποτελούν και τις περιοχές αυξανόμενης πιθανότητας εμφάνισης καρκινικών αλλοιώσεων. Οι τεχνικές «οπτικής βιοψίας» παρουσιάζουν το πλεονέκτημα της διασύνδεσης βιοχημικών με μορφολογικά χαρακτηριστικά του ιστού, επιτρέποντας τη διαδοχική σάρωση μεγαλύτερης περιοχής σε μικρότερο χρονικό διάστημα χωρίς την αφαίρεση ιστού.

Η συνεισφορά από τις οπτικές τεχνικές φθορισμού θα μπορούσε ακόμη να αξιοποιηθεί και κατά τη συμβατική ενδοσκοπική εξέταση για την επιλογή των περιοχών λήψης βιοψίας ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που είτε η εναλλακτική διαδικασία είναι η τυχαία λήψη δειγμάτων, είτε σε περιπτώσεις που η αφαίρεση ιστού είναι περιορισμένη.

Οι οπτικές διαγνωστικές τεχνικές επαγόμενου φθορισμού μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: τις τεχνικές ελέγχου σημείου (point monitoring techniques) και τις απεικονιστικές τεχνικές (imaging techniques). Οι πρώτες παρέχουν φασματική ανάλυση μιας συγκεκριμένης περιοχής του ιστού, συνήθως με την καταγραφή του φάσματος εκπομπής φθορισμού. Η φασματική αυτή πληροφορία (φασματική καμπύλη και ένταση φθορισμού) συσχετίζεται με την ιστολογική κατάσταση και μπορεί να αξιοποιηθεί διαγνωστικά. Η κατηγορία των απεικονιστικών τεχνικών επιτρέπει τη σύγχρονη εξέταση μεγαλύτερης περιοχής ιστού, καταγράφοντας όμως συνήθως ένα μικρό μέρος φασματικής πληροφορίας σε σχέση με τις μη απεικονιστικές μεθόδους.

Τα πιο συνηθισμένα χαρακτηριστικά φθορισμού που εξετάζονται είναι η ένταση φθορισμού, η φασματική κατανομή στα διάφορα μήκη κύματος και ο χρόνος ζωής. Με βάση τα παραπάνω χαρακτηριστικά αναπτύσσονται διατάξεις για την παρατήρηση και καταγραφή τους.

Η φασματική κατανομή μπορεί να μελετηθεί με διάφορους τρόπους. Τα φάσματα διέγερσης λαμβάνονται με τη μεταβολή του μήκους κύματος διέγερσης για σταθερό μήκος κύματος εκπομπής. Οι διαφοροποιήσεις στα φάσματα διέγερσης μεταξύ υγιών και παθολογικών δειγμάτων μπορούν να αξιοποιηθούν διαγνωστικά. Πιο συνήθως πάντως είναι η καταγραφή φασμάτων εκπομπής, όπου διατηρείται σταθερό το μήκος κύματος διέγερσης και ανιχνεύεται η εκπομπή στα διάφορα μήκη κύματος. Για την καταγραφή μεταβολών στο χρόνο ζωής φθορισμού απαιτείται η χρήση ανιχνευτών πολύ γρήγορης απόκρισης για τη μέτρηση της έντασης φθορισμού συναρτήσει του χρόνου.

Τα βασικά στοιχεία από τα οποία αποτελείται γενικά μια διάταξη για τη συλλογή φθορισμού από ιστό είναι: μια πηγή φωτός, ένα σύστημα οπτικών ινών για τη μετάδοση της διέγερσης και τη λήψη του φθορισμού, ένα στοιχείο φασματικού διαχωρισμού του εκπεμπόμενου φθορισμού και ένας ανιχνευτής για την καταγραφή του σήματος.

### Επισκόπηση απεικονιστικών συστημάτων φθορισμού

Αρκετές ερευνητικές ομάδες έχουν ασχοληθεί με το σχεδιασμό και την ανάπτυξη απεικονιστικών συστημάτων φθορισμού, είτε στα πλαίσια ενός ενδοσκοπικού συστήματος είτε σε μη ενδοσκοπικές εφαρμογές.

Μια απεικονιστική ενδοσκοπική διάταξη φθορισμού που σχεδιάστηκε αρχικά από τους Palcic et al. για βρογχοσκόπηση φθορισμού έχει οδηγήσει στην παραγωγή ενός εμπορικού προϊόντος, της διάταξης LIFE (Light-Induced Fluorescence Endoscopy) που χρησιμοποιείται για την απεικόνιση φθορισμού σχετικά μεγάλων περιοχών ιστού (λίγων cm σε διάμετρο). Η διάταξη αποτελείται από μια πολυχρωματική πηγή και μια έγχρωμη CCD κάμερα, για τη λήψη των εικόνων παρατήρησης λευκού φωτός, ένα laser He-Cd και δύο ευαίσθητες CCD κάμερες με τα απαραίτητα φίλτρα για τη συλλογή των εικόνων φθορισμού στην πράσινη και ερυθρή περιοχή, σύστημα οπτικών ινών για ενδοσκοπική παρατήρηση και ηλεκτρονικό υπολογιστή. Η διεγείρουσα ακτινοβολία από το laser είναι στα 442 nm, ενώ ο επαγόμενος φθορισμός συλλέγεται από τη δέσμη οπτικών ινών και αφού διαχωριστεί φασματικά (πράσινη περιοχή 480-520 nm και ερυθρή >630 nm) καταλήγει σε δύο κάμερες με εντατικοποιητή εικόνας (image intensifier).

Οι εικόνες φθορισμού ψηφιοποιούνται και με κατάλληλη επεξεργασία συνδυάζονται σε μια εικόνα ψευδοχρωμάτων, η οποία απεικονίζεται σε συνθήκες πραγματικού χρόνου στην οθόνη παρατήρησης. Οι υγιείς ιστοί εμφανίζονται με πράσινο χρώμα σε αντίθεση με το καφέ-κόκκινο χρώμα των νεοπλαστικών αλλοιώσεων. Η συγκεκριμένη διάταξη έχει χρησιμοποιηθεί εκτός από το βρογχοαναπνευστικό σύστημα και για την εξέταση αλλοιώσεων σε άλλα όργανα όπως στον αυχένα και το κεφάλι, στο λάρυγγα, στη χοληδόχο κύστη και στο γαστρεντερικό σύστημα.

Επίσης οι Zeng et al. διερεύνησαν τη χρήση απεικονιστικής ενδοσκοπικής διάταξης φθορισμού για την εξέταση του γαστρεντερικού συστήματος. Η διάταξη τους αποτελείται από μια λυχνία υδραργύρου, δύο CCD κάμερες με εντατικοποιητή εικόνας, ένα εύκαμπτο ενδοσκόπιο οπτικών ινών και μια κονσόλα ελέγχου με ηλεκτρονικό υπολογιστή. Το σύστημα μπορεί να λειτουργεί με τρεις διαφορετικούς τρόπους: τρόπος λευκού φωτισμού και συμβατικής παρατήρησης, απεικόνιση επαγόμενου φωτισμού σε δύο φασματικές περιοχές (πράσινη και ερυθρή) καθώς και συνδυασμός φθορισμού και απεικόνισης ανάκλασης στην περιοχή του κοντινού υπέρυθρου.

Συστήματα που ανιχνεύουν χρόνους ζωής φθορισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε απεικονιστικές διατάξεις. Οι Cubeddu et al. έχουν αναπτύξει ένα τέτοιο σύστημα, αν και δεν έχει ακόμα προσαρμοστεί για ενδοσκοπική χρήση. Η διαγνωστική συνεισφορά του συστήματος βασίζεται στις διαφοροποιήσεις στο χρόνο ζωής φθορισμού φωτοευαίσθητοποιών ουσιών και ενδογενών χρωμοφώρων φθορισμού του ιστού καθώς και στην επίδραση που έχει στο χρόνο ζωής το μικρο-περιβάλλον.

### Κλινικές εφαρμογές

Μια από τις εφαρμογές της φασματοσκοπίας φθορισμού που έχει ευρύτατα διερευνηθεί είναι η ενδοσκοπική ανίχνευση καρκινικών καθώς και προκαρκινικών αλλοιώσεων. Τα βασικά πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής είναι η ικανότητα εξέτασης επιφανειών του ιστού καθώς και η δυνατότητα προσαρμογής της σε ενδοσκοπικές διατάξεις. Μετρήσεις φθορισμού από μικρές χωρικά περιοχές ιστού (μικρότερες σε διάμετρο από λίγα χιλιοστά) καθώς και εικόνες φθορισμού από μεγαλύτερες περιοχές (λίγα εκατοστά σε διάμετρο) έχουν καταγραφεί. Σε μικρότερο βαθμό έχουν διερευνηθεί και χρονικές μετρήσεις του σήματος του εκπεμπόμενου φθορισμού. Ενώ έχουν εξεταστεί τόσο ο φθορισμός από ενδογενή όσο και από εξωγενή χρωμοφόρα.

Το πλεονέκτημα από τη χρήση εξωγενών χρωμοφώρων φθορισμού είναι η εκ των προτέρων γνώση και επιλογή των φωτοφυσικών και φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων. Επιπρόσθετα τα εξωγενή χρωμοφόρα παρουσιάζουν μεγαλύτερη κβαντική απόδοση σε φθορισμό έναντι των ενδογενών, μειονεκτούν όμως έναντι των τελευταίων όσον αφορά θέματα τοξικότητας και παρενεργειών που θα πρέπει να διερευνηθούν.

Οι Anderson-Engels et al. έχουν εξετάσει την πιθανή εφαρμογή της φασματοσκοπίας φθορισμού για τον χαρακτηρισμό της ιστολογικής κατάστασης, τόσο καρκινικών όσο και αθηροσκληρωτικών αλλοιώσεων. Επίσης έχουν εξετάσει τα επιστημονικά, τεχνικά αλλά και πρακτικά θέματα που σχετίζονται με τη χρήση της φασματοσκοπίας φθορισμού σε κλινικές ογκολογικές εφαρμογές.

Αρκετές μελέτες έχουν συνοψίσει θέματα που αφορούν την εφαρμογή οπτικών διαγνωστικών τεχνικών που βασίζονται σε φασματοσκοπικές και απεικονιστικές τεχνικές φθορισμού. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στον καθορισμό της γεωμετρίας και των παραμέτρων διέγερσης και συλλογής του φθορισμού, σε θέματα ποσοτικοποίησης της φασματοσκοπίας φθορισμού καθώς και στην κλινική εμπειρία για την εφαρμογή σε *in vivo* συνθήκες.

### CCD κάμερα

Έχει χρησιμοποιηθεί μια έγχρωμη CCD κάμερα, 1/2 inch (6.4 mm x 4.8 mm) (KP-C571, Hitachi) με οριζόντια διακριτική ικανότητα 470 οριζόντιες TV γραμμές (ή 48.8 lp/mm, που αντιστοιχεί σε 20.5 μm), σε ένα πίνακα από 795X596 pixels, σε σύστημα PAL (phase alteration by line) και με ενδογραμμική αρχιτεκτονική ανάγνωσης (interline readout architecture). Η κάμερα αυτή, έχει υψηλή ευαισθησία λόγω της δυνατότητας ολοκλήρωσης των συλλεγόμενων πεδίων εικόνας (fields), που παρέχει ο έλεγχος του χρόνου έκθεσης και της ενσωματωμένης μνήμης αποθήκευσης.

Η ολοκλήρωση προϋποθέτει την έκθεση για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο αυτού που αντιστοιχεί σε ένα πεδίο. Η έκθεση όμως για μεγαλύτερο διάστημα μπορεί να έχει επίδραση στην ποιότητα της εικόνας λόγω θερμικού θορύβου (θερμικά παραγόμενα

ηλεκτρόνια, dark current). Η δυνατότητα θερμοηλεκτρικής ψύξης (peltier effect) της κάμερας περιορίζει σημαντικά το θερμικό θόρυβο επιτρέποντας τη συλλογή περισσότερου φωτός. Έτσι η ευαισθησία μπορεί να αυξηθεί κατά περίπου 30 φορές σε σχέση με την κανονική τιμή. Ο ελάχιστος φωτισμός για συνθήκες μέγιστης ευαισθησίας είναι 0.05 lux (f/1.2), ενώ η δυναμική περιοχή φωτισμού κυμαίνεται από 0.05 έως 100000 lux (που αντιστοιχεί από τις συνθήκες φωτισμού μιας νύκτας με ημισέληνο έως τις συνθήκες που αντιστοιχούν σε μια ηλιόλουστη ημέρα). Επίσης η ύπαρξη της μνήμης εξασφαλίζει τη δυνατότητα πραγματικού χρόνου προεπισκόπησης (real time preview).

Μεταξύ του προσοφθάλμιου συστήματος και της CCD κάμερας, τοποθετήθηκε κατάλληλος φακός, με σκοπό την κάλυψη της ενεργής επιφάνειας απεικόνισης της κάμερας. Η προσαρμογή ενός υψιπερατού φίλτρου στη CCD κάμερα διαχώρισε το συλλεγόμενο φθορισμό από τη σκεδαζόμενη και ανακλώμενη διεγείρουσα ακτινοβολία καθώς και από τον αυτοφθορισμό του ιστού, η ένταση του οποίου παρουσιάζει σημαντική πτώση με την αύξηση του μήκους κύματος.

### Νέα μέθοδος για την διάγνωση προκαρκινικών καταστάσεων μήτρας

Ο καρκίνος της μήτρας είναι η πιο κοινά εκδηλωμένη μορφή καρκίνου για τις γυναίκες ηλικίας κάτω των 35 χρόνων και η δεύτερη πιο συχνή μορφή καρκίνου για όλες τις ηλικίες για αυτό η έγκαιρη διάγνωση αυτής της μορφής καρκίνου έγινε αντικείμενο έρευνας από πολλούς επιστήμονες. Η δομή της συγκεκριμένης περιοχής της μήτρας δημιούργησε πολλά προβλήματα στους ερευνητές, καθώς είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και μια ενδεχόμενη παρέμβαση μπορεί να δημιουργήσει ποικίλες ανωμαλίες στην λειτουργία του συγκεκριμένου, αλλά και των γύρω οργάνων.

Πολλοί ερευνητές μελέτησαν τα φασματικά χαρακτηριστικά της περιοχής της μήτρας κάνοντας έτσι βήματα στην εύρεση μη επεμβατικών μεθόδων διάγνωσης χωρίς όμως να μπορέσουν να φτάσουν τις περισσότερες φορές σε συγκρίσιμα με τις παραδοσιακές μεθόδους βιοψίας αποτελέσματα.

Οι έρευνες αυτές τα τελευταία χρόνια επεκτάθηκαν ακόμη περισσότερο και πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες εκμετάλλευσης της φασματοσκοπίας των υπό εξέταση ιστών με την βοήθεια απεικονιστικών συστημάτων. Έτσι έγινε δυνατή η ανίχνευση και η διαφοροποίηση (φασματικά και χωρικά) διαφορετικών περιοχών ίδιου χρώματος βασιζόμενοι στις φασματικές διαφορές σε στενές φασματικές ζώνες στην περιοχή του ορατού και όχι μόνο φάσματος. Το νέο αυτό πεδίο ονομάστηκε φασματική απεικόνιση (spectral imaging), η χρήση του οποίου είναι ευρύτατη την τελευταία δεκαετία.

Στο ινστιτούτο έρευνας και τεχνολογίας (I.T.E.) επινοήθηκε μία νέα προσέγγιση του προβλήματος της διάγνωσης και ανίχνευσης της επιθηλιακής δυσπλασίας και κακοηθών όγκων. Η μέθοδος βασίζεται στην in-vivo ποσοτική αποτίμηση της φασματικής, χωρικής και χρονικής μεταβολής των ιδιοτήτων του σκεδαζόμενου φωτός ακολουθώντας τοπική εφαρμογή 3% διαλύματος οξικού οξέος. Πριν την εφαρμογή του διαλύματος οξικού οξέος οι φυσιολογικοί και οι μη φυσιολογικοί ιστοί ήταν διαφανείς. Μετά την εφαρμογή του οξικού οξέος το κακόηθες επιθηλιακό στρώμα γίνεται αδιαφανές και σκεδάζει όλα τα τυχαία μήκη κύματος ομοιόμορφα, προοδευτικά τροποποιώντας την ένταση και τα φασματικά χαρακτηριστικά της οπίσθιας σκέδασης του φωτός. Αυτές οι τροποποιήσεις προβάλλουν ένα μέσο για ποσοτική αποτίμηση του φαινομένου. Αυτό μπορεί να παρατηρηθεί μετρώντας την ένταση του όπισθεν σκεδαζόμενου φωτός (intensity of back scattered light, IBSL) ως συνάρτηση του χρόνου και του μήκους κύματος σε κάθε χωρικό

σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος.

Η τοπική εφαρμογή διαλύματος οξικού οξέος 3% προκαλεί μια προσωρινή επιλεκτική λεύκανση της παθολογικής περιοχής, η οποία διαρκεί από μερικά sec μέχρι το πολύ 10-min. Ο ακριβής φυσικοχημικός μηχανισμός που επηρεάζει την διαδικασία της λεύκανσης του ιστού παραμένει ακόμα και σήμερα άγνωστος παρότι έχουν γίνει πολλές μελέτες τα τελευταία χρόνια. In vitro μελέτες έδειξαν ότι η λεύκανση που προκαλεί το οξικό οξύ και η διόγκωση του ανώμαλου επιθηλίου σχετίζονται με την ποσότητα cytokeratine-10 στα επιθηλιακά κύτταρα, η οποία αλλάζει κατά την διάρκεια της προόδου της ασθένειας. Η ερμηνεία του φαινομένου βασίστηκε στο γεγονός ότι η τοπική εφαρμογή του οξικού οξέος προκαλεί μείωση του ενδοκυτταρικού pH το οποίο στην συνέχεια επανέρχεται στην αρχική του τιμή μέσω κάποιων μηχανισμών άντλησης που ενεργοποιούνται.

Πιο συγκεκριμένα, τα παθολογικά κύτταρα μια πιθανή χρονική καθυστέρηση στην επαναφορά του pH στην αρχική του τιμή θα μπορούσε να επιτρέψει την αλληλεπίδραση μεταξύ ενός μεγάλου αριθμού ιόντων με ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες, όπως οι cytokeratines. Αυτή η αλληλεπίδραση θα μπορούσε να προκαλέσει μία αντιστρέψιμη αλλαγή της χωρικής διαμόρφωσης των τελευταίων, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε μία παροδική μεταβολή των οπτικών ιδιοτήτων του ιστού. Τα στοιχεία της συγκεκριμένης αλληλεπίδρασης μεταξύ του οξικού οξέος και των ανωμαλιών των κυττάρων, σε συνδυασμό με τη μακροχρόνια κλινική εμπειρία, προτείνουν το συσχετισμό μεταξύ των χαρακτηριστικών της λεύκανσης του ιστού (έκταση, βαθμός, και διάρκεια) και τη νεοπλασία ή το βαθμό κακοήθειας. Η οπτική εκτίμηση αυτών των χαρακτηριστικών δεν μπορεί να είναι αποτελεσματική, όσο ο βαθμός που λεκιάζει ο ιστός αλλάζει με το χρόνο.

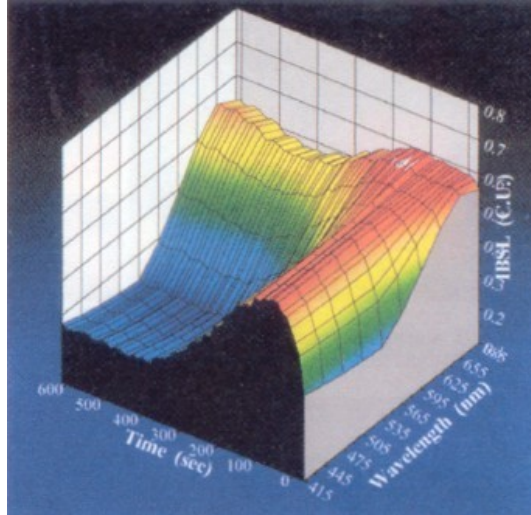
Αυτό περισσότερο προφέρεται στα αρχικά στάδια όπου ο ιστός λευκαίνει, γίνεται λιγότερο έντονος και διαρκεί μερικά δευτερόλεπτα, και παρεμποδίζεται από την έντονη ανάκλαση της επιφάνειας της τραχήλου. Επιπλέον, η διαγνωστική απόδοση εξαρτάται από την εμπειρία και την οπτική οξύτητα του εξεταστή και επηρεάζεται τυχαία από διάφορους παράγοντες, όπως οι συνθήκες φωτισμού και απεικόνισης Γι' αυτούς τους λόγους, αυτή η διαγνωστική διαδικασία συμβάλλει βασικά στον εντοπισμό των ανώμαλων περιοχών προκειμένου να ληφθούν τα δείγματα βιοψιών. Με βάση τα παραπάνω λογικά εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αύξηση αντίθεσης μεταξύ των περιοχών που υπεισέρχονται λεύκανση και του κανονικού ιστού και η ποσοτική αξιολόγηση των δεικτών αλληλεπίδρασης του ιστού θα μπορούσαν ουσιαστικά να βελτιώσουν την in vivo διαγνωστική ευαισθησία και την ακρίβεια βαθμολόγησης της αλλοίωσης.

Φασματικές αναλύσεις των φυσιολογικών και των μη φυσιολογικών περιοχών ιστών είναι απαραίτητες έτσι ώστε να καθοριστούν οι φασματικές ζώνες στις οποίες καταγράφεται η μέγιστη διαφοροποίηση στα χαρακτηριστικά του σκεδαζόμενου φωτός.

Χρονικές και φασματικές μετρήσεις εκτελέστηκαν in-vivo από ένα σύγχρονο απεικονιστικό σύστημα. Το σύστημα βαθμονομήθηκε πριν τις μετρήσεις και λειτούργησε με την βοήθεια συγχρονισμένων μεταβαλλόμενων φίλτρων και ενός μηχανισμού απεικόνισης στιγμιότυπων στην περιοχή ενδιαφέροντος.

Στην παρακάτω εικόνα αναπαριστάται η IBSL σε σχέση με το μήκος κύματος και το χρόνο που παρατηρήθηκε σε ασθενή που είχε επιθηλιακή δυσπλαστική αλλοίωση. Στον συγκεκριμένο ασθενή η μέγιστη τιμή IBSL παρατηρήθηκε 153 seconds μετά την εφαρμογή οξικού οξέος. Μπορεί εύκολα να παρατηρηθεί ότι η μέγιστη διαφοροποίηση μεταξύ της μέγιστης και της ελάχιστης IBSL καταγράφεται για μήκη κύματος μικρότερα των 540 nm.

Αυτό αποδίδεται στην απορρόφηση του φωτός από το αγγειακό πλέγμα η οποία είναι μεγαλύτερη σε αυτήν την περιοχή, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της ανάκλασης των ιστών. Έτσι λογικά επιλέχθηκε μια περιοχή μηκών κύματος  $525\pm 15$  nm που ήταν η ευνοϊκότερη ζώνη φασματικής απεικόνισης στην οποία παρατηρούνταν οι μέγιστες διαγνωστικές πληροφορίες για την ανίχνευση των υπό εξέταση αλλοιώσεων.



Εικόνα 76: Η IBSL σε σχέση με το μήκος κύματος και το χρόνο που παρατηρήθηκε σε ασθενή που είχε επιθηλιακή δυσπλαστική αλλοίωση

## Επισκόπηση μεθόδων ψηφιακής κολποσκόπησης [24]

Οι στόχοι της παρακάτω έρευνας είναι να συνοψιστούν οι διάφορες μέθοδοι ψηφιακής κολποσκόπησης και να παρουσιαστεί μια επισκόπηση της αποτελεσματικότητάς τους.

### Εισαγωγή

Το 1925 ο Dr Hinselmann ήταν ο πρώτος που εφάρμοσε την κολποσκοπική εξέταση του τραχήλου της μήτρας. Σήμερα η κολποσκόπηση εφαρμόζεται στη γυναικολογία για τον κυτταρολογικό διαχωρισμό και την ανίχνευση αλλοιώσεων του τραχήλου. Η οπτική εξέταση του τραχήλου από γυναικολόγο έχει στόχο τη διάγνωση των μακροσκοπικών αλλαγών των ιστολογικών χαρακτηριστικών όπως το χρώμα και η μορφολογία τους. Η σύγκριση αυτών των χαρακτηριστικών με εδραιωμένα πρότυπα αλλοιώσεων είναι το δεύτερο βήμα της κατηγοριοποίησης της αλλοίωσης. Η διαγνωστική εφαρμογή από τον εξεταστή εξαρτάται από τις οπτικές του ικανότητες στη διάγνωση πρόωρων σημάδιων της ασθένειας και ουσιαστικά εξαρτάται από την εκπαίδευσή του, την εμπειρία του και την ικανότητά του στην επεξεργασία και σύγκριση του αντιληπτού προτύπου με τα εδραιωμένα χαρακτηριστικά μια αλλοίωσης. Ωστόσο η υψηλή ποικιλομορφία της κολποσκοπικής εφαρμογής έχει καταγραφεί. Η ευαισθησία της κολποσκόπησης στο διαχωρισμό των φυσιολογικών από τα μη φυσιολογικά κύτταρα είναι υψηλή, αλλά ο διαχωρισμός LG αλλοιώσεων από HG αλλοιώσεις και καρκινικές αλλοιώσεις έχουν καταγράψει μια ευαισθησία περίπου 56%. Αυτό το χαμηλό ποσοστό αποδεικνύει ότι ένας σημαντικός αριθμός γυναικών έχουν θεραπευτεί αλλά και ότι ένας σημαντικός αριθμός HG αλλοιώσεων δεν αναγνωρίστηκαν κατά την κολποσκόπηση.

Άρα η καθιέρωση ενός θεμελιώδους τρόπου κολποσκόπησης θα μείωνε την ποικιλομορφία διάγνωσης που οφείλεται στον κολποσκόπο. Δεδομένου ότι η ιστολογία είναι η χρυσή τομή για ανίχνευση HG αλλοιώσεων, οι οπτικές εντυπώσεις της κολποσκόπησης επιβεβαιώνονται μέσω βιοψίας. Αυτή η δειγματοληψία βέβαια είναι συχνά αγχωτική και επώδυνη για μια γυναίκα και δε δίνει άμεσα αποτελέσματα. Συνεπώς ένα μηχάνημα κολποσκόπησης που θα παρείχε τη δυνατότητα οπτικής βιοψίας θα έδινε τη δυνατότητα για εξέταση με ακρίβεια χωρίς δειγματοληψία. Ένα άλλο ενδιαφέρον θέμα είναι η ποσοτική μέτρηση του μεγέθους της τραχηλικής αλλοίωσης. Για παράδειγμα, όταν εξετάζεται η επίδραση του HPV, θα ήταν ενδιαφέρον να ξέρουμε κατά πόσον το μέγεθος της προσβεβλημένης τραχηλικής περιοχής σχετίζεται με τη διάρκεια μόλυνσης από τον ιό HPV. Μια σωστή και ακριβής μέτρηση από κολποσκόπηση ή από ψηφιακή απεικόνιση είναι πολύ δύσκολη και παρεμποδίζεται από την ασυμφωνία ανάμεσα στο 3-διαστάσεων σχήμα του τραχήλου και το 2-διαστάσεων σχήμα της εικόνας. Συσκευές κολποσκόπησης με δυνατότητα ψηφιακής απεικόνισης σε συνδυασμό με εξελιγμένο λογισμικό μπορούν να ξεπεράσουν την ασυμφωνία και να χρησιμοποιηθούν για ποσοτική μέτρηση των τραχηλικών αλλοιώσεων.

## Ψηφιακή απεικόνιση και τηλε-κολποσκοπηση (telecolposcopy)

Τα πρώτα βήματα της ψηφιακής κολποσκοπησης έγιναν φωτογραφίζοντας τον τράχηλο της μήτρας κατά τη διάρκεια κολποσκοπικής εξέτασης και επακόλουθα ψηφιοποιώντας την εικόνα. Αυτός ο συνδυασμός της υπολογιστικής επεξεργασίας εικόνας και της κολποσκοπησης ονομάζεται ψηφιακή απεικόνιση κολποσκοπησης. Οι τεχνικές ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας επιτρέπουν την ενίσχυση χαρακτηριστικών αντίθεσης όπως άσπρο επιθήλιο και μη φυσιολογικά αγγεία, και μπορούν με αυτό τον τρόπο να επιβοηθήσουν τον κολποσκοπό να αναγνωρίζει και να βαθμονομεί μια αλλοίωση. Η σύγχρονη ψηφιακή απεικόνιση και οι τεχνικές απεικόνισης έχουν εξελιχθεί και το 1981 ο Staffl εισήγαγε το τραχηλοσκόπιο (cervicoscope).

Το τραχηλοσκόπιο είναι μια κάμερα στην οποία έχει εφαρμοστεί ένα τηλεφωτογραφικός φακός που λαμβάνει φωτογραφίες του τραχήλου, το αποκαλούμενο τραχηλογράφημα. Το τραχηλογράφημα προβάλλεται σε μια οθόνη ώστε η εικόνα να είναι προσεγγιστικά ισοδύναμη μιας κολποσκοπικής μεγέθυνσης X16. Η προβαλλόμενη εικόνα αξιολογείται μέσα σε ένα πλήρως σκοτεινό δωμάτιο. Το πλεονέκτημα του τραχηλογραφήματος είναι η απλότητά του, για παράδειγμα οι νοσοκόμες μπορούν να εφαρμόσουν αυτή τη διαδικασία στην ασθενή και ο εξεταστής να ασχοληθεί μόνο με την αξιολόγηση της εικόνας. Άρα μπορεί να εφαρμοσθεί και ως διαγνωστική μέθοδος σε αναπτυσσόμενες χώρες που διαθέτουν λιγότερους ειδικούς. Τα περισσότερα τραχηλογραφήματα γίνονται με ψηφιακές κάμερες και ακόμη και τραχηλογράφημα εξ αποστάσεως είναι εφικτό. Πολλές έρευνες έχουν γίνει για την αποτελεσματικότητα του τραχηλογραφήματος που η ευαισθησία του είναι γενικά χαμηλότερη από αυτή του Pap test και η ειδικότητά του γενικά υψηλότερη. Προοδευτικά, το παραδοσιακό διοπτρικό κολποσκόπιο αντικαθίσταται από το (ψηφιακό) κολποσκόπιο. Η ανάγκη για προβολή των εικόνων ωστόσο εξαφανίζεται αφού ο εξεταστής μπορεί εύκολα να μεγεθύνει την εικόνα στον υπολογιστή του. Η αξιοπιστία των τραχηλικών εξετάσεων με ψηφιακό κολποσκόπιο συγκρινόμενη με την κλασική κολποσκοπηση είναι καλή.

Ο Schadel et al δε βρήκε καμιά σπουδαία διαφορά όσο αφορά την υποτίμηση ή την υπερεκτίμηση των αλλοιώσεων όταν κατέγραφε τις εικόνες από το ψηφιακό κολποσκόπιο. Επιπλέον η συμμόρφωση των γυναικών για παρακολούθηση μετά την κολποσκοπηση φαίνεται να είναι ελαφρώς καλύτερη όταν μπορούν να παρακολουθούν την κολποσκοπική και μπορούν να δουν τον τράχηλο τους. Τελικά, η αποθήκευση των ψηφιακών εικόνων έδωσε τη δυνατότητα για περαιτέρω ψηφιακή ανάλυση των εικόνων. Η εισαγωγή του ίντερνετ και του e-mail δίνει τη δυνατότητα οι ψηφιακές εικόνες να μπορούν να καταγραφούν-εξεταστούν και εκτός του δωματίου εξέτασης. Συνεπώς, η ψηφιακή κολποσκοπηση μπορεί να λάβει ένα κεντρικό ρόλο στην τηλεϊατρική, η ηλεκτρονική μετάδοση πληροφοριών για την επίτευξη ποιότητας κλινικής υγείας από απόσταση. Υπάρχουν δύο τύποι τηλεκολποσκοπησης: η διαδικτυακή τηλεκολποσκοπηση και η υπολογιστικά βασισμένη τηλεκολποσκοπηση. Η διαδικτυακή τηλεκολποσκοπηση χρησιμοποιεί μια υπάρχουσα υποδομή τεχνολογικά αναβαθμισμένου υλικού (hardware), γρήγορες γραμμές τηλεπικοινωνίας και εκπαιδευόμενο προσωπικό. Συνήθως παρέχεται μια real-time συσκευή ή τηλεόραση ή βίντεο. Στην υπολογιστικά βασισμένη τηλεκολποσκοπηση, οι εικόνες πρώτα αποθηκεύονται στον υπολογιστή χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό και μετά προωθούνται. Και οι δυο μέθοδοι περιορίζονται από την ύπαρξη μόνο στατικών εικόνων βίντεο. Παρόλα αυτά το τραχηλογράφημα έχει αναπτυχθεί ως μέσο απεικόνισης επιβοηθητικό της τραχηλικής κυτταρολογίας. Η ψηφιακή απεικόνιση επίσης χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση γυναικών με μη φυσιολογικά Pap test.

## Φασματοσκοπία

Η φασματοσκοπία είναι μια μη επεμβατική μέθοδος στην οποία φως ή ηλεκτρικό ρεύμα χρησιμοποιείται για να μελετήσει τη βιοχημική σύνθεση και τα μεταβολικά και δομικά χαρακτηριστικά του ιστού. Οι συνιστώσες του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που σχετίζονται με τη διαγνωστική φασματοσκοπία περιλαμβάνουν το υπεριώδες εύρος (315-400nm), το ορατό εύρος φωτός (400-700nm) και το υπέρυθρο εύρος (700-900nm). Όταν το φως προσπίπτει στον ιστό, απορροφάται με ή χωρίς επανεκπομπή του φωτός ή σκεδάζεται από αλληλεπιδράσεις με την επιφάνεια. Με την φθορίζουσα φασματοσκοπία, είναι δυνατόν να μετρηθεί ένα μεγάλο εύρος οπτικών χαρακτηριστικών του τραχηλικού ιστού, που είναι ευαίσθητος σε δομικές και μοριακές αλλαγές που συνοδεύουν την ανάπτυξη δυσπλασίας. Για παράδειγμα, το δινουκλεοτίδιο νικοτιναμίδιο αδενίνης (NADH) και το δινουκλεοτίδιο flavin-adenine (FAD) είναι δυο φθορίζοντα μόρια στα μιτοχόνδρια των ανθρώπινων κυττάρων που παίζουν σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό μεταβολισμό. Μια αύξηση στο φθορισμό των NADH και FAD στα δυσπλαστικά κύτταρα συνδέεται με αυξημένη κυτταρική, μεταβολική δραστηριότητα.

Άλλα οπτικά φαινόμενα επίσης επηρεάζονται από την εξέλιξη της δυσπλασίας. Για παράδειγμα η πυρηνική ατυπία σε μη φυσιολογικά κύτταρα οδηγεί σε αυξημένη σκέδαση φωτός και εφόσον η αιμοσφαιρίνη είναι μια σημαντική πηγή απορρόφησης φωτός στον ιστό, ένα υψηλότερο επίπεδο απορρόφησης φωτός παρατηρείται στην περίπτωση νεοαγγείωσης. Το 1999, ο Mitchel et al παρουσίασε μια έρευνα που κατέληγε στο ότι το να διαγνωστούν πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις, η φθορίζουσα φασματοσκοπία ξεπερνάει όχι μόνο την κολποσκόπηση αλλά έχει καλύτερα αποτελέσματα και από το τραχηλογράφημα, την κυτταρολογία και το HPV test. Η οπτική φασματοσκοπία έχει παρόμοια λειτουργία με την κολποσκόπηση και βοηθά στον εντοπισμό αλλοιώσεων και μπορεί να αποτελέσει ένα αποτελεσματικό επιβοήθημα της κολποσκόπησης. Το 2001 έγινε μια μελέτη με μια συσκευή υπερφασματικής απεικόνισης (SpectRx, Multimodal Hyperspectral Imaging). Αυτή η συσκευή συλλέγει, μη επεμβατικά, και αναλύει το φθορίζον και το ανακλώμενο φάσμα από τον τράχηλο, in vivo. Συγκεντρώθηκαν δεδομένα από 111 γυναίκες. Με τη χρήση της ROC ανάλυσης η ευαισθησία για HG αλλοιώσεις βρέθηκε περίπου στο 95% και η ειδικότητα στο 83%. Ο DeSantis et al δημοσίευσε τα αποτελέσματα μιας μελέτης που αξιολογεί την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της φασματοσκοπίας ιστού, για τη διάγνωση τραχηλικού καρκίνου. Αυτή η μελέτη σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει την ευαισθησία και την ειδικότητα της φασματοσκοπίας φθορισμού-ανάκλασης για γυναίκες που υποβλήθηκαν σε κολποσκόπηση. Αξιολογήθηκαν στοιχεία από 572 γυναίκες. Υπολογίστηκε ευαισθησία 95% για ανίχνευση μεγαλύτερη ή ίση CIN2 αλλοίωσης και ειδικότητα 55%. Ένα από τα μειονεκτήματα ήταν ότι δεν είχε ληφθεί βιοψία από κολποσκοπικά φυσιολογικές γυναίκες με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν διαθέσιμα ιστολογικά στοιχεία για 149 (60%) από τις 250 γυναίκες με τελική διάγνωση μη ύπαρξης CIN. Τον Ιούλιο του 2006 η Διοίκηση Φαγητών και Φαρμάκων ενέκρινε το σύστημα τραχηλικής απεικόνισης LUMA. Αυτό το σύστημα οπτικής ανίχνευσης (ODS) συνδυάζει το φθορισμό, τη φασματοσκοπία του οπισθοσκεδασμένου λευκού φωτός και την τηλεοπτική απεικόνιση ακτινοβολώντας με φως τον τράχηλο της μήτρας και αναλύοντας πως διαφορετικές περιοχές του τράχηλου ανταποκρίνονται σε αυτό το φως. Το σύστημα ODS διαιρεί τον τράχηλο σε 4.000.099 κομμάτια εμβαδού 1mm<sup>2</sup> και σημειώνει ένα αποτέλεσμα (score) σε όλες τις διαφορετικές περιοχές.

Αυτό το score αντιστοιχεί σε διαφορετικά χρώματα σε ένα χάρτη χρωμάτων (colour map) που υποδεικνύει ποιες περιοχές μπορεί να περιέχουν HG αλλοιώσεις. Σκοπός της μεθόδου είναι να χρησιμοποιείται επιπρόσθετα με την οπτική κολποσκόπηση. Η προσθήκη της μεθόδου ODS στην κολποσκόπηση από την εφαρμογή της κολποσκόπησης μόνη της παρουσίασε αύξηση τουλάχιστον κατά 25% στις true positive βιοψίες για

γυναίκες με εξέταση τραχηλική κυτταρολογίας, ως αποτέλεσμα διαχωρισμού με περιπτώσεις ήπιας δυσκαρίωσης, με ένα κόστος 4% αύξησης στις false positive διαγνώσεις. Μια μελέτη περιγράφει την ανάπτυξη αλγορίθμου κατηγοριοποίησης, με ευαισθησία για HG αλλοιώσεις 92% και ειδικότητα 50%. Σε μια άλλη μελέτη με 193 εξεταζόμενους ασθενείς, η μέθοδος ODS αύξησε την ανίχνευση HG αλλοιώσεων κατά 22% για όλα τα μη φυσιολογικά Pap test και την ανίχνευση HG αλλοιώσεων για ήπια δυσκαρίωση κατά 25%.

Το σύστημα DySIS είναι ένα κολποσκόπιο που μετράει την AW επίδραση κάθε pixel της εικόνας του τραχήλου με την εφαρμογή οξικού οξέος. Στόχο έχει να αντικαταστήσει τη συμβατική κολποσκόπηση. Για να διατηρηθεί περίπου το ίδιο πεδίο παρατήρησης καθ' όλη τη διάρκεια της κολποσκοπικής εξέτασης, η οπτική κεφαλή απεικόνισης συνδέεται με το μητροσκόπιο. Ο αισθητήρας που χρησιμοποιείται έχει μια τέτοια χωρική ανάλυση που η ένταση του οπισθοσκεδασμένου φωτός που καταγράφεται από ένα δεδομένο pixel αντιστοιχεί περίπου στην περιοχή που καταλαμβάνει ένα κύτταρο (35μm). Μια δεύτερη φάση εφαρμόστηκε σε 447 γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση. Η ποσοτική συγκέντρωση επίδρασης AW πέτυχε να διαχωρίσει αντικειμενικά LG από HG αλλοιώσεις με ευαισθησία 79% και ειδικότητα 76%. Στην ίδια μελέτη η συμβατική κολποσκόπηση έχει ευαισθησία 49% και ειδικότητα 89%. Τρεις διαφορετικές φασματοσκοπικές τεχνικές (εγγενής φθορισμός, διάχυτη ανάκλαση και σκέδαση φωτός: τριμερής φασματοσκοπία) συνδυάστηκαν και εκδόθηκαν στη μελέτη του Georgakoudi et al το 2002. Οι τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας αποφασίστηκαν με σύγκριση της φασματοσκοπικής κατηγοριοποίησης με την ιστοπαθολογία 44 γυναικών που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση. Σε αυτή τη μελέτη η ευαισθησία της τριμερούς φασματοσκοπίας στην ανίχνευση ανωμαλιών (HG και LG) έναντι της ιστοπαθολογίας που αποδεικνύει φυσιολογικό τράχηλο ήταν 92% και η ειδικότητα 71%.

Ένας άλλος τύπος φασματοσκοπικής εξέτασης του τραχήλου είναι η φασματοσκοπία με ένα καθετήρα επαφής (contrast probe). Μια real-time συσκευή χρησιμοποιείται ως εργαλείο απεικόνισης (με το όνομα Truscreen). Αυτός ο καθετήρας επαφής χρησιμοποιεί συνδυασμό βιοαισθητήρων συμπεριλαμβανομένων του ανακλώμενου φωτός, του οπισθοσκεδασμένου φωτός και ηλεκτρική καμπύλη αποσύνθεσης (electrical decay curve) για κατηγοριοποίηση του τραχηλικού ιστού. Η συσκευή αποτελείται από μια φορητή κονσόλα που συνδέεται με έναν ακροδέκτη. Το άνω άκρο του ακροδέκτη καλύπτεται με έναν στοιχειώδη αισθητήρα διαμέτρου 5mm που έρχεται σε επαφή με τον τράχηλο της μήτρας. Μια μελέτη 651 εξεταζόμενων γυναικών παρουσίασε ευαισθησία 70% και ευαισθησία συνδυασμού της παραπάνω μεθόδου με το Pap test 93% για ανίχνευση HG αλλοιώσεων. Στη μελέτη το 75% των γυναικών ήταν υγιείς εθελόντριες και το 25% ήταν κλινικά ασθενείς. Δε λήφθηκε βιοψία από γυναίκες με φυσιολογική κολποσκόπηση άρα ιστοπαθολογικά δεδομένα διατίθενται μόνο για το 18% των γυναικών.

Η φασματοσκοπία αντίστασης (impedance spectroscopy) είναι ένας άλλος τύπος φασματοσκοπίας με καθετήρα επαφής. Το Royal Hallamshire Hospital στο Sheffield UK έχει αναπτύξει ένα καθετήρα αντίστασης (impedance probe), 4-ηλεκτροδίων, διαμέτρου 5,5mm με δύο ηλεκτρόδια να μετρούν το φάσμα αντίστασης (impedance spectrum). Μόλις το ηλεκτρικό ρεύμα εφαρμοστεί στον ανθρώπινο ιστό, το στιγμιότυπο του απορρέοντος ηλεκτρικού ρεύματος, προσδιορίζεται από τις μορφές, τις ρυθμίσεις και την εσωτερική δομή των κυττάρων του ιστού. Μια υψηλότερη συχνότητα μπορεί να διεισδύσει στην κυτταρική μεμβράνη και να προσχωρήσει διαμέσου τόσο ενδοκυτταρικών όσο και εξωκυτταρικών χώρων. Το ρεύμα μπορεί επίσης να προσδιοριστεί από τον ενδοκυτταρικό

όγκο και το μέγεθος του πυρήνα. Όταν τα στιγμιότυπα του ηλεκτρικού ρεύματος μετρηθούν πάνω σε ένα εύρος συχνοτήτων, μπορούν να υπολογιστούν και ηλεκτρικές μεταβλητές που περιγράφουν τη δομή του ιστού. Σε δύο δοκιμές 176 και 87 γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση λόγω μη φυσιολογικού Pap test, η ευαισθησία για αλλοιώσεις μεγαλύτερες ή ίσες του CIN1 αυτής της μεθόδου κυμαινόταν μεταξύ 75 και 89% και η ειδικότητα ανάμεσα σε 15 και 43%. Η ευαισθησία και η ειδικότητα για ανίχνευση αλλοιώσεων μεγαλύτερων ή ίσων του CIN2 υπολογίστηκε ως 74 και 53% αντίστοιχα.



Εικόνα 77:

Παραδείγματα ιατρικών συσκευών ψηφιακής κολποσκόπησης: (Α) Βιντεο-κολποσκόπιο (Olympus, Tokyo, Japan), (Β) Πολυτροπική, υπερφασματική συσκευή απεικόνισης (SpectRX), (D) Truscreen (Polartechnics)

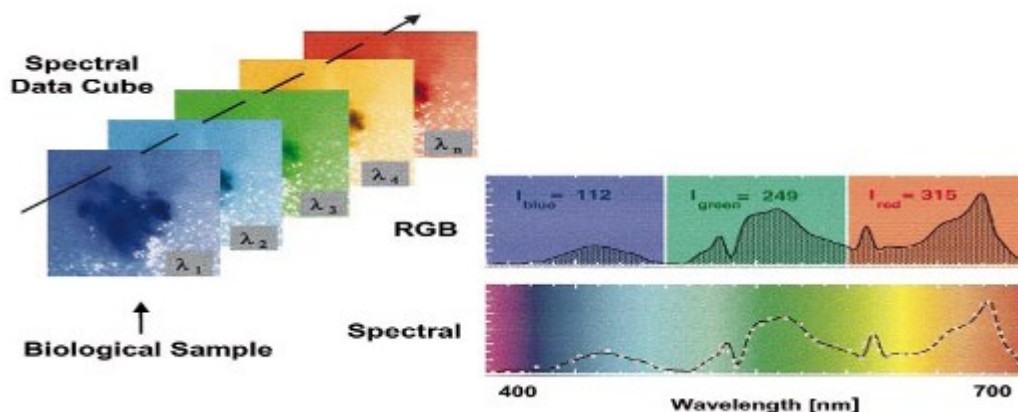
## Υπερφασματική απεικόνιση και αλγόριθμοι ταξινόμησης

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται κάποιες βασικές έννοιες που αφορούν την φασματική απεικόνιση και συγκεκριμένα την υπερφασματική απεικόνιση, τα μέσα που χρησιμοποιήσαμε κατά την πειραματική διαδικασία καθώς και οι αλγόριθμοι ταξινόμησης φασμάτων που υλοποιήθηκαν προκειμένου να προσδιοριστεί με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη αντικειμενικότητα το ποσοστό του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας των δειγμάτων εξέτασης που είχαμε στην διάθεση μας για την συγκεκριμένη έρευνα.

### Φασματική απεικόνιση

Η φασματική απεικόνιση είναι ο συνδυασμός φασματοσκοπίας και απεικόνισης προκειμένου να πάρουμε πληροφορία. Η φασματοσκοπία μελετά την αλληλεπίδραση του φωτός με την ύλη και παρέχει μεγάλη φασματική αλλά όχι χωρική πληροφορία. Ενώ η απεικόνιση, μας δίνει την ένταση του φωτός σε κάθε pixel της οθόνης παρέχοντας μεγάλη χωρική πληροφορία αλλά όχι φασματική. Επομένως η φασματική απεικόνιση μας εξασφαλίζει τόσο φασματική όσο και χωρική πληροφόρηση και βρίσκει ολοένα και περισσότερες εφαρμογές σε πολλές επιστήμες:

- 3) Στην ιατρική χρησιμοποιείται για την διάγνωση και την θεραπεία κάποιων ασθενειών και βοηθάει σημαντικά σε διάφορες χειρουργικές επεμβάσεις
- 4) Στην αναλυτική χημεία χρησιμοποιείται για την στοιχειωμέτρηση κάποιων λύσεων
- 5) Στη βιοχημεία χρησιμοποιείται για την ποσοτική και ποιοτική ανάλυση των πρωτεϊνών
- 6) Στη βιομηχανία χρησιμοποιείται για την ποιοτική ανάλυση των προϊόντων που χρησιμοποιούνται από αυτήν
- 7) Σε διαγνωστικές τεχνικές χρησιμοποιείται για την in-vitro ανάλυση. Συγκεκριμένα χρησιμοποιείται σε in-vivo εφαρμογές για την χαρτογράφηση των λειτουργιών του εγκεφάλου, την οπτική βιοψία, την οφθαλμολογία, αλλεργίες και πληγές του δέρματος. Επίσης σε ex-vivo εφαρμογές που περιλαμβάνουν την ανάπτυξη ανθρώπινων όγκων σε ζώα
- 8) Σε περιβαλλοντικά θέματα όπως την μέτρηση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης και την χαρτογράφηση του εδάφους



Εικόνα 78: Η διαδικασία φασματικής απεικόνισης. Σε κάθε σημείο της εικόνας, pixel αντιστοιχεί ένα χαρακτηριστικό φάσμα

Η φασματική απεικόνιση είναι ένας τρόπος ανάλυσης της εικόνας που επιτρέπει το διαχωρισμό του μεταδιδόμενου φωτισμού σε αυθαίρετα μεγάλο αριθμό ζωνών μήκους κύματος και παράγει υψηλής ανάλυσης φάσμα της έντασης του φωτός ως συνάρτηση του μήκους κύματος για κάθε pixel εικόνας.

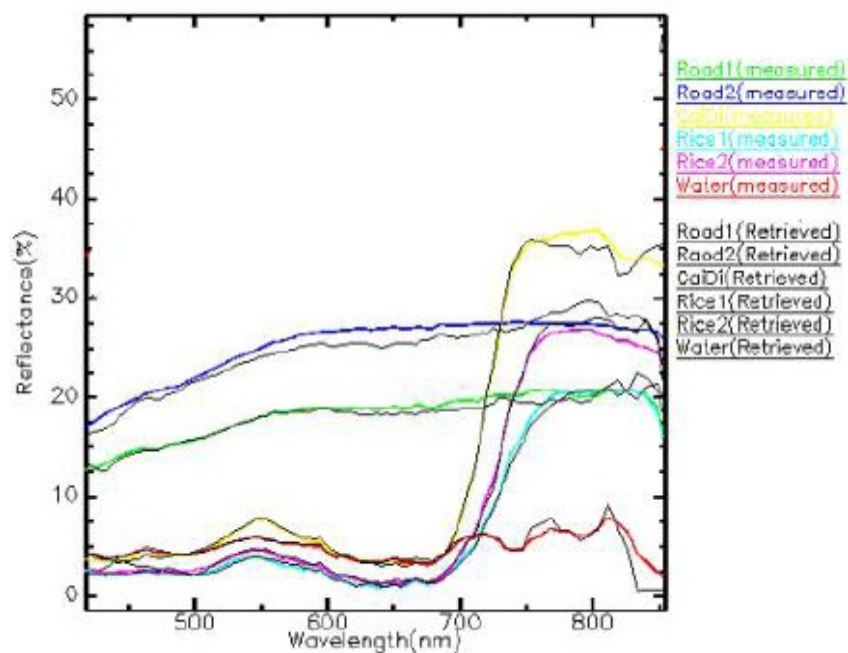
Η εφαρμογή των γονιδίων και πρωτεϊνών για την ανάλυση των ομογενοποιημένων δειγμάτων και για την φαινοτυπική απομόνωση κυττάρων, έχει οδηγήσει σε μια καλύτερη κατανόηση του ρόλου και των αλληλεπιδράσεων των πολλαπλών μοριακών ειδών σε κανονικούς και προσβεβλημένους ιστούς. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις, είναι σημαντικό να μην μετρούνται μόνο τα συνολικά επίπεδα έκφρασης των ειδικών μορίων, αλλά και να προσδιορίζεται η χωρική κατανομή τους σε κύτταρα και ιστούς. Συνήθως, οι πρωτεΐνες και άλλα μόρια του ενδιαφέροντος μπορεί να είναι παρόντα σε ίδια ή χωρικά επικαλυπτόμενα κυτταρικά μέρη. Αυτή η συνύπαρξη (η οποία δεν συνεπάγεται απαραίτητα βιοχημική αλληλεπίδραση) περιπλέκει τις μεθόδους απεικόνισης για πολυπλεγμένη (multiplexing) ανίχνευση και ποσοτικό προσδιορισμό, ειδικά όταν υπάρχει φασματική επικάλυψη χρωστικών. Ωστόσο, μια τεχνική που συνδυάζει απεικόνιση και φασματοσκοπία, η φασματική απεικόνιση, μπορεί να αντιμετωπίσει σε μεγάλο βαθμό αυτές τις προκλήσεις με την επίλυση της επικάλυψης χρωστικών ή ετικετών φθορισμού, δημιουργώντας έτσι ποσοτικές εικόνες των επιμέρους δεικτών. Επίσης, μέσω της ικανότητάς της να διαχωρίζει τις ενδείξεις των εξωγενών ετικετών φθορισμού από το ενίοτε ενδογενή φόντο αυτοφθορισμού, μπορεί σε μεγάλο βαθμό να βελτιώσει την ευαισθησία και την ποσοτική ακρίβεια. Η επιτυχία για τον διαχωρισμό παρόμοιων φασματικών ειδών μέσω τη φασματικής απεικόνισης εξαρτάται από τον αριθμό των ειδών που πρέπει να διακριθούν, την απόλυτη και σχετική φωτεινότητα, το δυναμικό εύρος της κάμερας, και την παρουσία ή απουσία θορύβου ή άλλους παράγοντες όπως αυτοφθορισμός, καθώς και αν τα είδη αυτά είναι φυσικά διαχωρισμένα ή συνυπάρχουν στα ίδια pixels.

### Κατηγορίες φασματικής απεικόνισης

- Multi-Spectral (πολυφασματική απεικόνιση): περιλαμβάνει μετρήσεις σε ευρείς, ξεχωριστές και διαχωρισμένες ζώνες μήκους κύματος. Αυτή η κατηγορία μας δίνει μέτρια φασματική ανάλυση καθώς δεν παράγει το φάσμα ενός αντικειμένου. Μια πολυφασματική εικόνα είναι μια συλλογή πολλών μονόχρωμων εικόνων της ίδιας σκηνης, κάθε μία από αυτές λαμβανόμενη από διαφορετικό αισθητήρα. Κάθε εικόνα αναφέρεται ως μια μπάντα. Μια γνωστή Multi-Spectral (ή πολλαπλών ζωνών) εικόνα είναι μια RGB χρωματική εικόνα, που αποτελείται από μια κόκκινη, μια πράσινη και μια μπλε εικόνα, κάθε μία από αυτές λαμβανόμενη από έναν αισθητήρα ευαίσθητο σε διαφορετικό μήκος κύματος.
- Hyper-Spectral (υπερφασματική απεικόνιση): ήταν η πιο επαναστατική πρόοδος στον τομέα της τηλεπισκόπησης (remote sensing) και αρχικά αναπτύχθηκε με σκοπό την ανίχνευση και ταυτοποίηση βλάστησης, ορυκτών πόρων και θαλάσσιου φυσικού περιβάλλοντος. Η υπάρχουσα τεχνολογία συστημάτων υπερφασματικής απεικόνισης συνίσταται ουσιαστικά σε ειδικά φίλτρα τα οποία συζευγνύονται οπτικά με απεικονιστικούς ανιχνευτές, οι οποίοι καταγράφουν τις διερχόμενες από το φίλτρο στενές φασματικά εικόνες. Περιλαμβάνει μετρήσεις σε πολλές συνεχείς και στενές μπάντες. Αυτή η κατηγορία μας δίνει υψηλή φασματική πληροφορία καθώς παράγει το φάσμα ενός αντικειμένου. Τα παραπάνω φίλτρα έχουν την ιδιότητα να αλλάζουν τη φασματική περιοχή στην οποία είναι διαπερατά, κάτω από την επίδραση μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου. Έτσι αντί της χωρικής

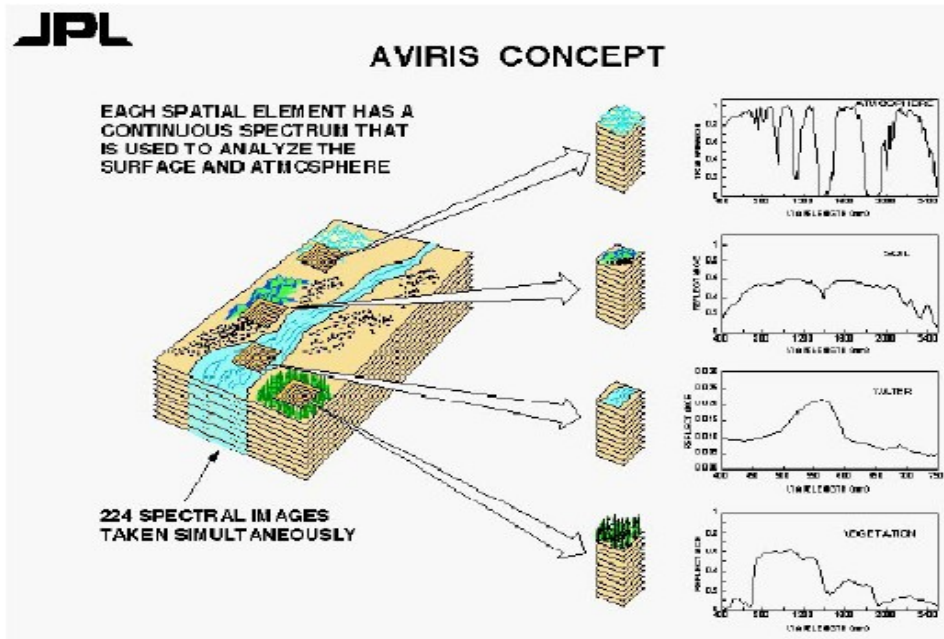
σάρωσης η τεχνολογία αυτή βασίζεται στη φασματική σάρωση, η οποία επιτρέπει την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο και την καταγραφή στενών φασματικά εικόνων με τη δυνατότητα άμεσης επιλογής του μήκους κύματος απεικόνισης. Ακόμη παρέχεται η δυνατότητα αποθήκευσης διαδοχικών εικόνων κατά μήκος του φάσματος με αρκετά μεγάλη ταχύτητα και δυνητικά ο μετέπειτα υπολογισμός των φασμάτων σε διάφορα χωρικά σημεία από τις καταχωρημένες εικόνες.

Η Hyper-spectral απεικόνιση συλλέγει και επεξεργάζεται πληροφορίες από ολόκληρο το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα. Η διάκριση μεταξύ Hyper-spectral και Multi-Spectral απεικόνισης ορίζεται στον αριθμό των ζωνών φάσματος. Η Multi-Spectral απεικόνιση περιέχει δεδομένα από δεκάδες έως εκατοντάδες μπάντες ενώ η Hyper-spectral εκατοντάδες έως χιλιάδες μπάντες. Η χωρική και φασματική πληροφορία που προκύπτει κατά την υπερφασματική απεικόνιση αναπαριστάται με τη μορφή ενός κύβου (spectra cube), με χωρική πληροφορία στη x και y διάσταση και φασματική στην z. Τα υπερφασματικά δεδομένα είναι ένα σύνολο από συνεχόμενες ζώνες (συνήθως από έναν αισθητήρα) ενώ τα πολυφασματικά είναι ένα σύνολο από βέλτιστα επιλεγμένες ζώνες φάσματος που συνήθως δεν είναι συνεχόμενες και μπορούν να συλλέγονται από πολλούς αισθητήρες.



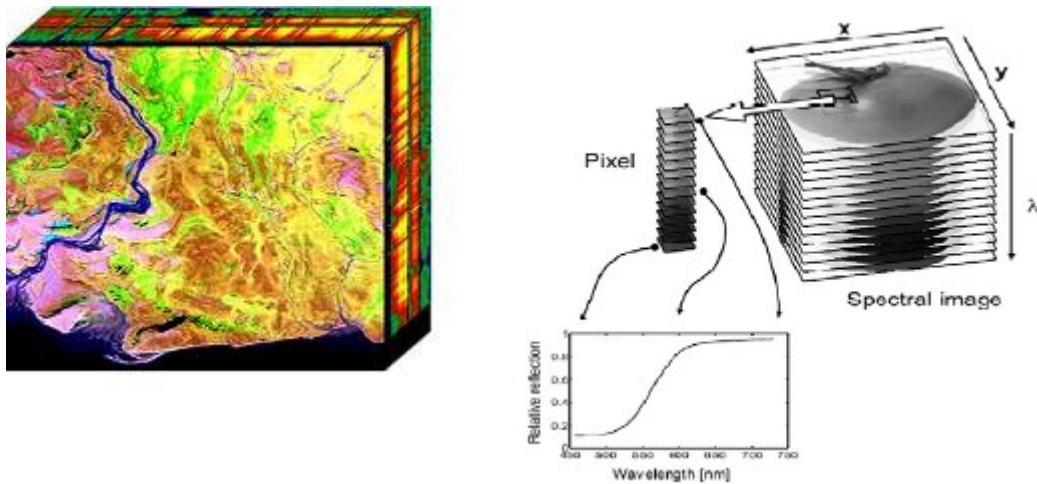
Εικόνα 79: Φασματικές υπογραφές διαφόρων υλικών

Διαφορετικά υλικά έχουν διαφορετική μοριακή δομή και συνεπώς η αλληλεπίδραση τους με το φως καταλήγει σε διαφορετικά φάσματα για κάθε υλικό. Έτσι είναι ίσως πιθανό (έχοντας τον απαραίτητο εξοπλισμό) να αποκτήσουμε διαφορετικές φασματικές αποκρίσεις για κάθε είδος υλικών. Τα φάσματα αυτά αποτελούν τις φασματικές υπογραφές (spectral signature) για γνωστά υλικά, όπως το χώμα, το νερό, η βλάστηση.



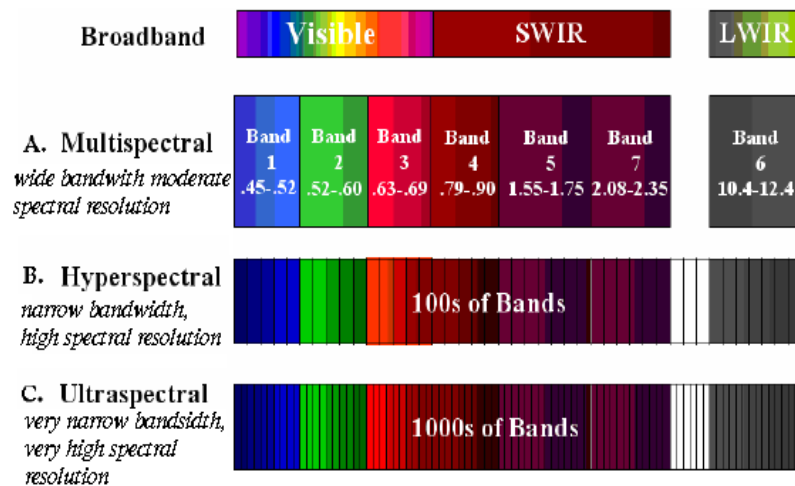
Εικόνα 80: Φασματικός κύβος και φάσματα ανάκλασης για κάθε pixel

Η υπερφασματική απεικόνιση βρίσκει εφαρμογές σε τομείς όπως την γεωργία, μεταλλουργία, φυσική και σε εφαρμογές επιτήρησης και παρακολούθησης.



Εικόνα 81: Ένας υπερφασματικός (Hyper-spectral) κύβος

- **Ultra-Spectral:** περιλαμβάνει μετρήσεις σε πολύ λεπτές λωρίδες. Αυτή η κατηγορία μας δίνει πολύ υψηλή φασματική πληροφορία και περιέχει μεγάλο αριθμό δεδομένων. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της Ultra-Spectral έναντι της Hyperspectral είναι μια σημαντική μείωση του ρυθμού δεδομένων και του όγκου. Η Ultra-Spectral απεικόνιση αποσπρά και αποθηκεύει μόνο την πληροφορία που είναι στο διάλυμα δεδομένων.



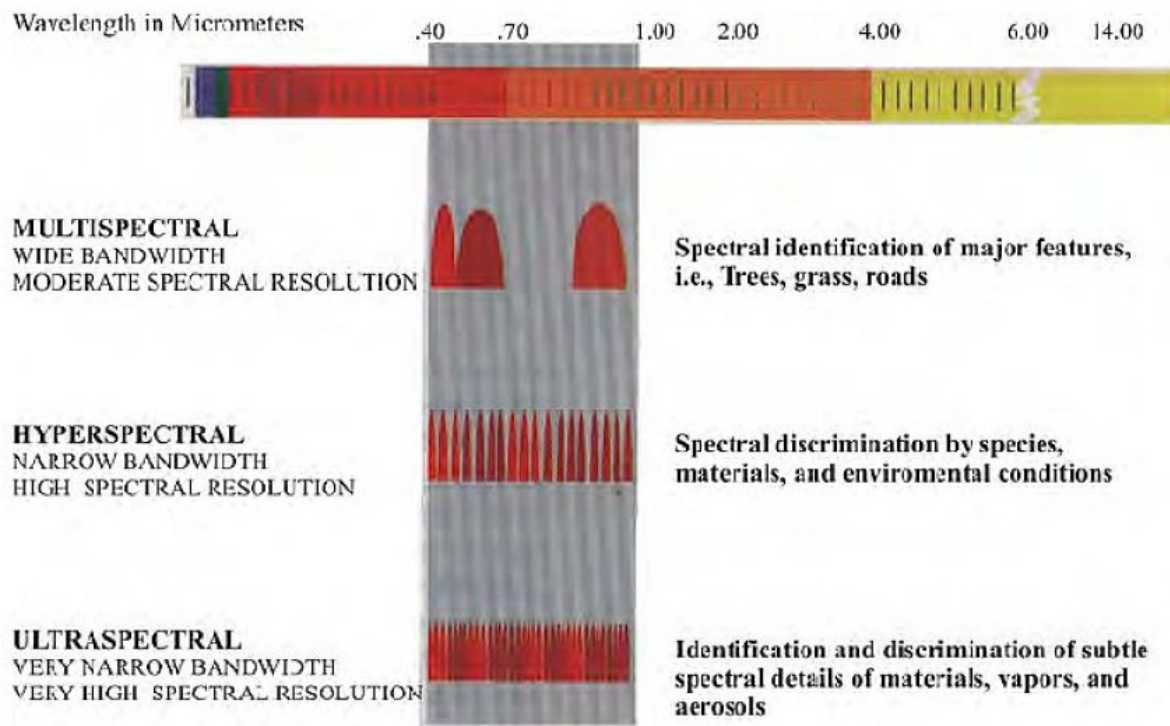
Εικόνα 82: Οι κατηγορίες φασματικής απεικόνισης

Οι φασματικές εικόνες κύβων είναι παρόμοιες με το σύνολο των εικόνων ενός αντικειμένου, όπου κάθε εικόνα αποκτάται σε μία στενή φασματική ζώνη (μπάντα). Κάθε ρίxel στους κύβους εικόνων απεικονίζει το φάσμα σε εκείνο το σημείο. Διαφορετικά υλικά έχουν διαφορετική μοριακή δομή και συνεπώς διαφορετικά φάσματα. Έτσι, μπορούμε να αποκτήσουμε διαφορετικές φασματικές αποκρίσεις για κάθε είδος υλικού. Τα φάσματα αυτά αποτελούν τις φασματικές υπογραφές (spectral signature) για γνωστά υλικά, όπως το χρώμα, το νερό, η βλάστηση κ.τ.λ.

Τα φασματόμετρα απεικόνισης (imaging spectrometers) ή υπερφασματικοί αισθητήρες (hyperspectral sensors), είναι τηλεσκοπικά αισθητήρια όργανα τα οποία συνδυάζουν τη χωρική απεικόνιση ενός αισθητήρα απεικόνισης (imaging sensor) με τις αναλυτικές ικανότητες ενός φασματόμετρου. Μπορούν να έχουν έως και εκατοντάδες, πολύ στενές φασματικές ζώνες, με φασματική ανάλυση της τάξης των 10nm ή και μικρότερη. Τα φασματόμετρα απεικόνισης παράγουν ένα πλήρες, συνεχές φάσμα για κάθε ρίxel της εικόνας. Το αποτέλεσμα αυτής τη υψηλής φασματικής ανάλυσης των φασματομέτρων απεικόνισης είναι η δυνατότητα της ταυτοποίησης υλικών, ενώ με τους ευρείας ζώνης πολυφασματικούς αισθητήρες μπορούμε να κάνουμε διακρίσεις μεταξύ υλικών.

Τα συστήματα υπερφασματικής απεικόνισης απαιτούν υψηλή χωρική και φασματική ανάλυση. Επίσης, μπορούμε να διακρίνουμε τον αριθμό των ζωνών από τις οποίες αποτελείται ένας κύβος. Λιγότερες ζώνες οδηγούν σε πολυφασματικά συστήματα που έχουν φίλτρα περιορισμένων ζωνών, με μεγαλύτερο εύρος φάσματος συγκριτικά με της υπερφασματικής απεικόνισης, προκαλώντας μικρότερη φασματική ανάλυση. Η υπερφασματική απεικόνιση χρησιμοποιεί στενό εύρος φάσματος, εξασφαλίζοντας υψηλή φασματική ανάλυση. Συγκεκριμένα, στα συστήματα πολυφασματικής απεικόνισης, οι απεικονιστικοί μονοχρωμάτορες είναι σχετικά απλές διατάξεις και επιτρέπουν τη λήψη εικόνων σε δέκα ή λιγότερες διαφορετικές περιοχές του οπτικού φάσματος.

Αντίθετα, στην περίπτωση της υπερφασματικής απεικόνισης οι μονοχρωμάτορες επιτρέπουν τη λήψη διαδοχικών εικόνων σε 30-100 διαφορετικές περιοχές του οπτικού φάσματος και η τεχνολογία τους είναι πολύ υψηλού επιπέδου.



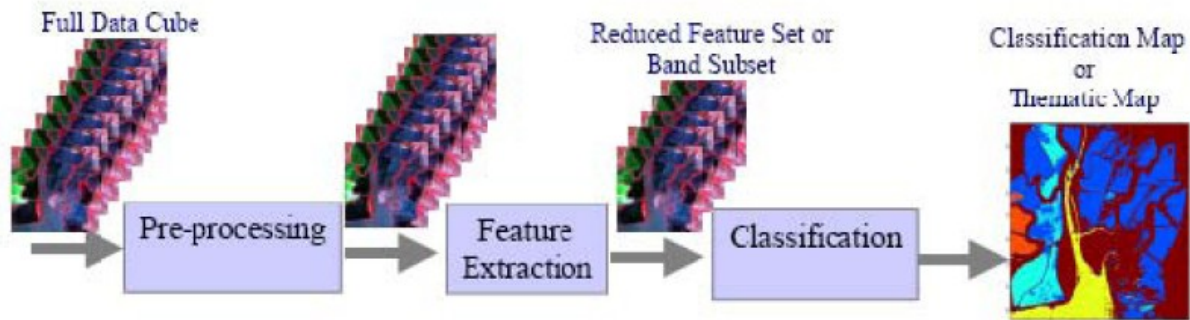
Εικόνα 83: Περιληπτικά οι διαφορές των διαφορετικών τύπων φασματικής απεικόνισης

### Επεξεργασία υπερφασματικών δεδομένων

Η πληροφορία που μπορούμε να πάρουμε κατά την επεξεργασία των υπερφασματικών δεδομένων είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον προσδιορισμό και διαχωρισμό των επιμέρους στοιχείων που εξετάζονται κάθε φορά. Αρχικά απαιτείται η απόκτηση και συγκέντρωση των φασματικών κύβων που αντιστοιχούν σε κάθε εμπλεκόμενο υλικό αφού οι κύβοι αυτοί είναι χαρακτηριστικοί για το καθένα. Στην συνέχεια γίνεται η εξαγωγή των χαρακτηριστικών (feature extraction) που περιλαμβάνει τον διαχωρισμό της χρήσιμης πληροφορίας από τον θόρυβο ή την περιττή πληροφορία και την μείωση της διάστασης των δεδομένων αφού πολλές από τις μετρούμενες μεταβλητές δεν είναι χρήσιμες. Με μαθηματική έννοια, το πρόβλημα της μείωσης της διάστασης μπορεί να εκφραστεί ως εξής: δοθέντος μιας  $M$ -διάστατης τυχαίας μεταβλητής  $x = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_M]$ , βρίσκουμε μια αναπαράσταση μικρότερης διάστασης  $y = [y_1 \ y_2 \ \dots \ y_K]$  με  $K < M$  που περιέχει την πληροφορία που μας ενδιαφέρει από τα αρχικά μας δεδομένα σύμφωνα με κάποιο κριτήριο προκειμένου να απλοποιήσουμε τους υπολογισμούς που απαιτούνται. Τέλος εφαρμόζουμε μια μέθοδο ταξινόμησης για την παραγωγή ενός ψευδοχρωματικού χάρτη που θα μας δώσει οπτικά την πληροφορία που αναζητούμε.

Γενικά λοιπόν υπάρχουν 4 βασικά βήματα που ακολουθούμε όταν θέλουμε να αποκτήσουμε πληροφορίες χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υπερφασματικής απεικόνισης:

1. η απόκτηση του φασματικού κύβου (acquiring the spectral cube)
2. η προεπεξεργασία των δεδομένων (pre-processing)
3. η εξαγωγή των χαρακτηριστικών (feature extraction)
4. η ταξινόμηση (classification)



Εικόνα 84: Απαιτούμενα βήματα από την απόκτηση του φασματικού κύβου έως την απεικόνιση ουσιαδούς πληροφορίας

### Προεπεξεργασία δεδομένων

Η διαδικασία της απόκτησης μιας εικόνας σε ένα περιβάλλον τηλεπισκόπησης περιλαμβάνει τη συμμετοχή διαφόρων παραγόντων, που συνεπάγεται θόρυβο, μη ευθυγράμμιση του φασματικού κύκλου κ.τ.λ. Έτσι, πριν χρησιμοποιήσουμε το φασματικό κύβο στο περιβάλλον της ανάλυσης, πρέπει να περιορίσουμε, να αφαιρέσουμε ή να εμπλουτίσουμε κάποιες όψεις των κύβων, ώστε να αφαιρέσουμε τις ατέλειες που επιβάλλονται κατά τη διάρκεια των μετρήσεων. Αυτό περιλαμβάνει προεπεξεργασία του φασματικού κύβου. Ορισμένες μέθοδοι που εφαρμόζονται είναι η Ατμοσφαιρική Διόρθωση (Atmospheric Correction), η Ραδιομετρική βαθμονόμηση (Radiometric Calibration) και το Image Registration. Στη δική μας μελέτη γίνεται Image Registration από την πολυφασματική κάμερα DySIS. Η ανάγκη αυτή δημιουργήθηκε από τη σχετική κίνηση ανάμεσα στο μηχανισμό μέτρησης και το στόχο αλλά και τις οπτικές ιδιότητες των οπτικών εξαρτημάτων, που καταλήγουν σε λανθασμένη τοποθέτηση των εικόνων στη στοίβα του φασματικού κύκλου. Ευθυγραμμίζοντας τις εικόνες του φασματικού κύβου ευθυγραμμίζουμε τα pixels, έτσι ώστε η επιλογή ενός pixel να καταλήγει στο ίδιο pixel για κάθε φέτα του φασματικού κύβου.

## Ταξινόμηση υπερφασματικών δεδομένων (classification) [18]

Η ταξινόμηση των υπερφασματικών δεδομένων είναι μια μέθοδος ταυτοποίησης και καταχώρησης κάθε pixel του φασματικού κύβου σε μια συγκεκριμένη τάξη, σύμφωνα με κάποια στατιστικά χαρακτηριστικά των τιμών των εντάσεων, που αναπαρίστανται από τα φάσματα του pixel αυτού. Υπάρχουν διάφορα κριτήρια και αλγόριθμοι που υπολογίζουν για διάφορες στατιστικές ιδιότητες ή άλλα διαθέσιμα χαρακτηριστικά γνωρίσματα και είναι πολύ καλά όσο αφορά την ικανότητα ταξινόμησης. Η ικανότητα ταξινόμησης καθορίζεται στην πράξη και ίσως χρησιμοποιήσουμε ένα σύνολο δειγμάτων εκπαίδευσης (training data), ώστε να εξασφαλίσουμε μια βασική ιδέα. Η ταξινόμηση αποτελεί τμήμα ενός ευρύτερου επιστημονικού πεδίου, της αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition).

Η διαδικασία ταξινόμησης περιλαμβάνει την αντιστοίχιση (απόδοση) κάθε εικονοστοιχείου (pixel) της εικόνας σε μία από την λίστα κλάσεων. Έτσι θα πρέπει να δημιουργείται μια ικανοποιητικά μεγάλη λίστα από κλάσεις προκειμένου να περιλαμβάνεται μια κλάση στην οποία θα μπορεί να αντιστοιχίζεται το κάθε δεδομένο. Συνεπώς οι κλάσεις θα πρέπει να έχουν τα εξής χαρακτηριστικά:

1. να έχουν πληροφοριακή αξία, η λίστα των κλάσεων δηλαδή να περιέχει όλες τις κλάσεις ενδιαφέροντος,
2. να είναι διεξοδικές, επιπλέον των επιθυμητών κλάσεων από τον χρήστη που τις επιλέγει να υπάρχουν και άλλες κλάσεις,
3. να είναι διασπασίμες, θα πρέπει δηλαδή οι κλάσεις να μπορούν να διαχωρίζονται ανάλογα με τα διαθέσιμα φασματικά χαρακτηριστικά

Επιπλέον οι κλάσεις θα πρέπει να χαρακτηρίζονται από πληρότητα και ακρίβεια. Η ταξινόμηση περιλαμβάνει δυο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, προσδιορίζεται ο αριθμός και η φύση των κλάσεων ενώ στο δεύτερο κάθε άγνωστο ή μη εμφανές στοιχείο αποδίδεται σε μια από αυτές τις κλάσεις σύμφωνα με το επίπεδο ομοιότητας που παρουσιάζουν. Αυτά τα στάδια ονομάζονται αναγνώριση (identification) και ταξινόμηση (classification) αντίστοιχα. Σκοπός της ταξινόμησης είναι η δημιουργία ενός αυτοματοποιημένου συστήματος που ταξινομεί τα δεδομένα μας, καταλήγοντας σε έναν ψευδοχρωματικό χάρτη (pseudo-colormap) όπου κάθε χρώμα αντιπροσωπεύει pixel με όμοια φασματικά χαρακτηριστικά. Ο βαθμός ομοιότητας προσδιορίζεται από τον αλγόριθμο ταξινόμησης και την συνάρτηση απόφασης που χρησιμοποιείται.

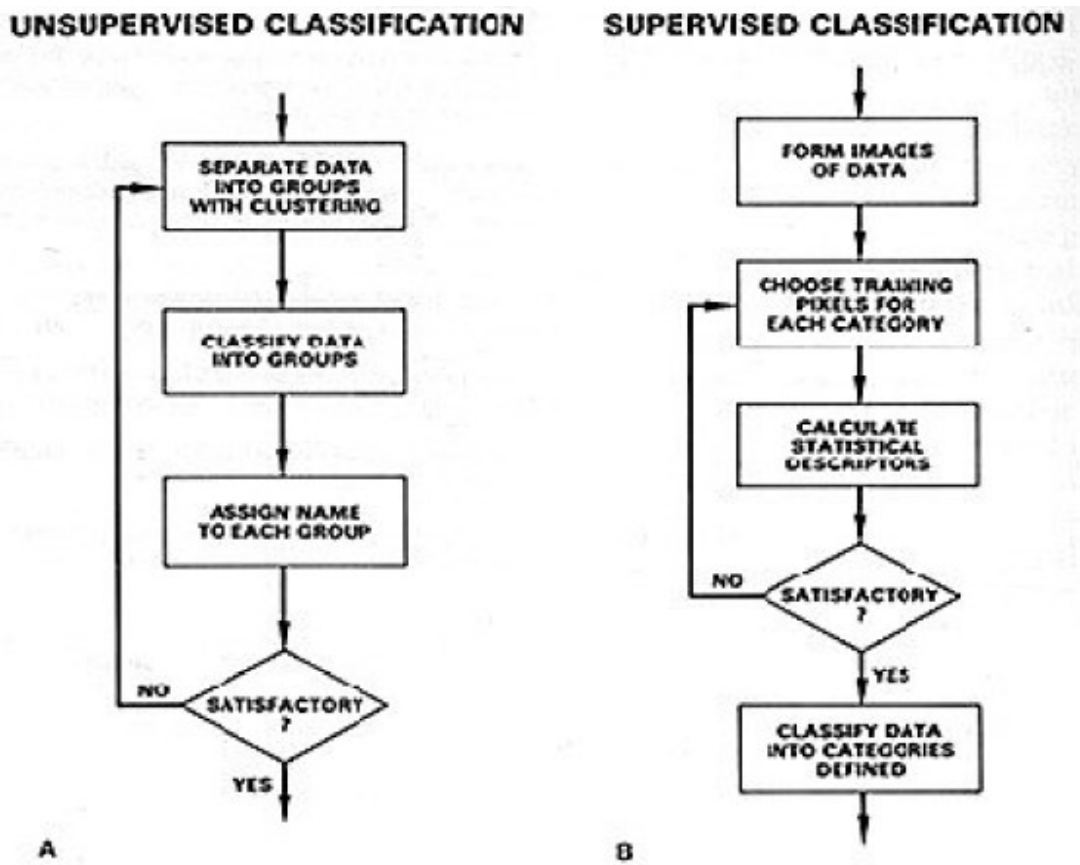
Ξεκινώντας από το χώρο χαρακτηριστικών, δηλώνουμε κάθε αντικείμενο με ένα διάνυσμα  $[x(1), x(2), \dots, x(N)]$ , όπου το  $x(i)$ , ( $i=1$  έως  $N$ ), δηλώνει ένα χαρακτηριστικό από το σύνολο  $N$ . Στην περίπτωση των φασματικών κύβων, ο χώρος χαρακτηριστικών είναι μια συλλογή διδιάστατων διανυσμάτων. Κάθε pixel του φασματικού κύβου πρέπει να ταξινομηθεί. Έτσι, κάθε pixel-διάνυσμα  $x(i,j)$  αναπαριστά τις διαφορετικές τιμές των εντάσεων, σε κάθε φασματική ζώνη, του κύβου στη θέση  $(i,j)$ . Το τελικό αποτέλεσμα της διαδικασίας είναι η ταξινόμηση του pixel-διανύσματος  $x(i,j)$  σε μια τάξη  $\omega_j$ , όπου  $j=1$  έως  $K$ , με το συνολικό αριθμό των τάξεων. Κάθε pixel-διάνυσμα του χώρου χαρακτηριστικών συγκρίνεται με ένα διάνυσμα αναφοράς (ή με τα αντικείμενα  $x(i)$ ).

$$\text{refvec}=[\text{ref}(1), \text{ref}(2), \dots, \text{ref}(K)],$$

όπου  $K$  είναι ο αριθμός των τάξεων, χρησιμοποιώντας μια συνάρτηση απόφασης (decision function)  $f(x)$ , τέτοια ώστε  $f(x)=\omega_j$ ,  $j=1$  έως  $K$ .

Οι τεχνικές ταξινόμησης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε επεμβατικές (supervised) και μη-επεμβατικές (unsupervised) ανάλογα με το αν επεμβαίνει ή όχι ο χρήστης στην διαδικασία ταξινόμησης. Η supervised μέθοδος είναι η πιο κατάλληλη όταν τα αποτελέσματα των δεδομένων που ο χρήστης θέλει να προβλέψει είναι γνωστά εκ των προτέρων. Η supervised ταξινόμηση μπορεί να οριστεί ως η διαδικασία αναγνώρισης και προσδιορισμού αγνώστων αντικειμένων χρησιμοποιώντας τη φασματική πληροφορία που προκύπτει από τα δείγματα εκπαίδευσης που έχει ορίσει ο ίδιος ο χρήστης. Με αυτήν την μέθοδο δηλαδή εκμεταλλευόμαστε την εκ των προτέρων γνώση των φασματικών χαρακτηριστικών από ορισμένα αντικείμενα και χρησιμοποιούμε την πληροφορία αυτή σαν σύνολο εκπαίδευσης για το σύστημά μας. Οι επιδόσεις ενός τέτοιου ταξινομητή μετρούνται από την ακρίβεια στο να δοθεί η σωστή κλάση στις γνωστές εισόδους που δεν χρησιμοποιήθηκαν στην εκπαίδευση. Πολλά διαφορετικά είδη ταξινομητών υπάρχουν, συμπεριλαμβανομένων των γραμμικών ταξινομητών, δέντρων αποφάσεων, k-πλησιέστερου γείτονα ταξινομητών, νευρωνικά δίκτυα και support vector machines (SVM).

Από την άλλη, η unsupervised μέθοδος είναι πιο χρήσιμη όταν ο χρήστης δεν γνωρίζει τις υποδιαιρέσεις στις οποίες τα δεδομένα μπορούν να διαιρεθούν. Η διαίρεση μπορεί να μην είναι προφανής επειδή το πρόβλημα είναι καινούργιο και ο χρήστης δεν έχει προηγούμενη εμπειρία. Ουσιαστικά, η μέθοδος αυτή ψάχνει για φυσικές κλάσεις που ονομάζονται clusters και προσδιορίζονται από τις σχετικές θέσεις των pixels στο χώρο. Έτσι τα pixels της εικόνας με παρόμοια στατιστικά και φασματικά χαρακτηριστικά (μέσες τιμές, τυπικές αποκλίσεις, πίνακες συμμεταβλητότητας) αυτόματα ομαδοποιούνται σε αυτές τις μοναδικές ομάδες (clusters) σύμφωνα με στατιστικά καθορισμένα κριτήρια. Η βασική διαφορά των δυο μεθόδων είναι ότι η supervised ταξινόμηση απαιτεί τη χρήση δειγμάτων εκπαίδευσης.



Εικόνα 85: Βήματα για μεθόδους Supervised και Unsupervised ταξινόμησης

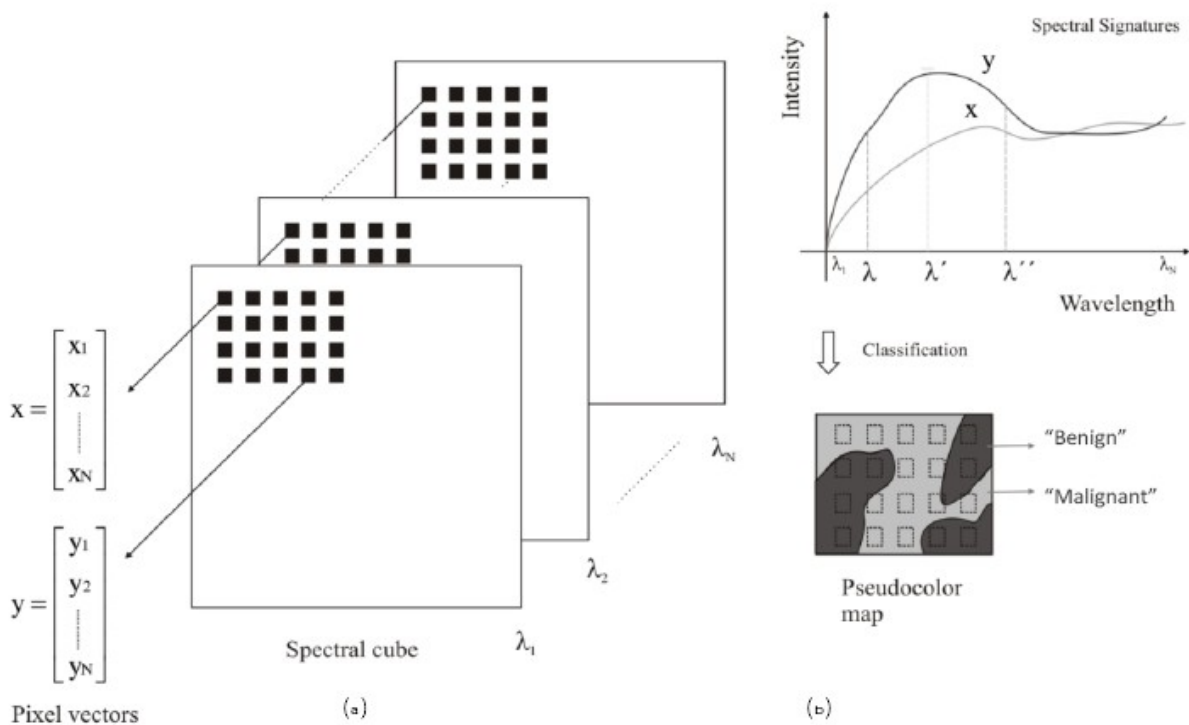
Οι μέθοδοι υποδιαιρούνται επιπλέον σε παραμετρικές (parametric) και μη-παραμετρικές (non-parametric). Στην παραμετρική ταξινόμηση τα γνωρίσματα της κάθε τάξης ορίζονται από την PDF (συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας) της τάξης, οπότε οι παράμετροί της πρέπει να είναι γνωστοί ή να προσδιορίζονται στη διαδικασία της εκπαίδευσης. Ένα παράδειγμα μιας PDF είναι η πολυδιάστατη Gaussian κατανομή, με κάθε διάσταση να αντιστοιχεί σε μία φασματική ζώνη και με παραμέτρους το μέσο διάνυσμα (mean vector) και τον πίνακα συμμεταβλητότητας (covariance matrix). Οι παραμετρικές μέθοδοι είναι γενικά πιο δραστικές από τις μη παραμετρικές και οδηγούν σε μεγαλύτερη συνολικά ακρίβεια ταξινόμησης αν τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται ικανοποιούν το παραμετρικοποιημένο μοντέλο.

Αντίθετα στην μη παραμετρική ταξινόμηση, η PDF της κάθε τάξης δεν μας ενδιαφέρει. Οι πιο απλές μορφές ταξινομητή βασίζονται σε μη παραμετρικές μεθόδους επειδή αυτοί οι αλγόριθμοι δεν κάνουν υποθέσεις σχετικά με την πιθανότητα κατανομής των δεδομένων και συχνά θεωρούνται εύρωστοι αφού μπορούν να δουλέψουν ικανοποιητικά για μια μεγάλη ποικιλία κλάσεων. Οι μη παραμετρικές μέθοδοι περιλαμβάνουν την ταξινόμηση ελάχιστης απόστασης, μη στατιστικές μεθόδους όπως neural network, support vector machines, decision trees.

## Αλγόριθμοι ταξινόμησης

Υπάρχουν πολλές διαφορετικές μέθοδοι που οδηγούν σε ταξινόμηση των pixels μιας φασματικής εικόνας. Τα pixels ταξινομούνται σύμφωνα με ποιο φάσμα αναφοράς μοιάζουν και μπορούν να ψευδοχρωματιστούν ώστε να υποδείξουν τα αποτελέσματα της ταξινόμησης. Η απόφαση ποια φάσματα να χρησιμοποιηθούν για τη διαδικασία της ταξινόμησης δεν είναι πάντα άμεση και ακριβής. Σε απλές περιπτώσεις τα φάσματα αναφοράς μπορούν να επιλεγούν από προφανείς δομές της εικόνας ή από φασματικές βιβλιοθήκες. Εναλλακτικά, πληροφοριακά φάσματα μπορούν να αποσπαστούν, χρησιμοποιώντας μεθόδους στατιστικής ανάλυσης, όπως Principal Component Analysis (PCA).

Οι σύγχρονες τεχνολογίες επεξεργασίας εικόνας επιτρέπουν τη συγκέντρωση εικόνων από ολόκληρο το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα μετατρέποντας το RGB color space σε ένα υψηλών διαστάσεων χρωματικό χώρο τιμών έντασης που αντιστοιχούν σε διαφορετικά μήκη κύματος. Η υπερφασματική απεικόνιση από είτε μακροσκοπικές ή μικροσκοπικές εικόνες αναπαριστάται με ένα φασματικό κύβο, ένα καταγεγραμμένο σύνολο εικόνων, χαρακτηρίζοντας ένα φασματικό, δύο διαστάσεων χώρο ως συντεταγμένες από pixels. Κάθε pixel σχετίζεται με ένα φάσμα που μπορεί να αποκαλύψει σημαντικά, διαγνωστικά κριτήρια για τη μελέτη διαφόρων κλινικών καταστάσεων. Ωστόσο, η ερμηνεία των δεδομένων που συγκεντρώνονται είναι περίπλοκη διαδικασία, και εμπεριέχει pattern recognition, επεξεργασία εικόνας, στατιστική ανάλυση κ.α. Για παράδειγμα, ένας φασματικός κύβος για καρκινικές εικόνες παρουσιάζει δύο διαφορετικούς τύπους ιστών: τον καλοήγη και τον κακοήγη. Προσδιορίζοντας ποια και πόσα pixels ανήκουν σε αυτές τις δύο διαφορετικές κατηγορίες αποκτάμε σημαντική πληροφορία για την εξέλιξη της κατάστασης του ασθενή.



Εικόνα 86: Ο φασματικός κύβος αποτελείται από ένα σύνολο εικόνων που αποκτήθηκαν σε N διαφορετικά μήκη κύματος, οι φασματικές υπογραφές αποτελούν μια συλλογή από pixel που αντιπροσωπεύουν τις κατηγορίες των υλικών με διαφορετική δομή και χημική σύνθεση. Ένας χάρτης ψευδοχρώματος αποδίδει ένα χρώμα σε ένα pixel οπτικοποιώντας την ομοιότητα με τις φασματικές υπογραφές.

Ένα πρώτο βήμα, επίσης χρήσιμο για τη μελέτη των μετρούμενων φασμάτων, είναι η υλοποίηση ενός απλού συστήματος κατηγοριοποίησης. Για να απλοποιηθεί αυτό το πρόβλημα, δύο pixels επιλέγονται ως τα πιο αντιπροσωπευτικά (φασματικές υπογραφές) για τον καλοήθη και τον κακοήθη ιστό ( $y=(y_1, y_2, \dots, y_N)$  και  $x=(x_1, x_2, \dots, x_N)$  αντίστοιχα, όπου  $y_1, x_1$  είναι οι μετρούμενες εντάσεις στο  $\lambda_1$  μήκος κύματος,  $y_2, x_2$  είναι οι μετρούμενες εντάσεις στο  $\lambda_2$  μήκος κύματος κ.ο.κ. Παρατηρώντας τις κυματομορφές, τα μήκη κύματος με την περισσότερη πληροφορία βρίσκονται μέσα στο διάστημα  $[\lambda, \lambda']$  όπου τα δύο φάσματα διαφέρουν σημαντικά. Μια συνάρτηση διακρίσεων (discriminant function)  $D$  μπορεί να ξεχωρίσει τα pixels του φασματικού κύβου σε δύο κατηγορίες με την εφαρμογή μια απλής αφαίρεσης. Συγκρίνοντας τη φασματική απόκριση κάθε pixel  $p=(p_1, p_2, \dots, p_N)$  σε  $\lambda'$  μήκος κύματος θεσπίζεται ένας απλός κανόνας κατηγοριοποίησης:

$$\text{if } D(\mathbf{p}_{\lambda'}, \mathbf{y}_{\lambda'}) < D(\mathbf{p}_{\lambda'}, \mathbf{x}_{\lambda'}) \text{ then } \mathbf{p} \rightarrow \text{"benign"}$$

$$\text{or if } |\mathbf{p}_{\lambda'} - \mathbf{y}_{\lambda'}| < |\mathbf{p}_{\lambda'} - \mathbf{x}_{\lambda'}| \text{ then } \mathbf{p} \rightarrow \text{"benign"}$$

Όπως στις πραγματικές εφαρμογές που περισσότερες από δύο κλάσεις εμπλέκονται, χρησιμοποιώντας ένα απλό χαρακτηριστικό ή πληροφορία, μια τιμή έντασης που αντιστοιχεί μόνο σε ένα μήκος κύματος, είναι αρκετή. Μια συνάρτηση διακρίσεων που υλοποιεί την Ευκλείδεια απόσταση βελτιώνει τον κατηγοριοποιητή, και λαμβάνει υπόψιν της πληροφορία από κάθε φασματική ζώνη στο διάστημα  $[\lambda, \lambda']$ :

$$\text{if } \sqrt{\sum_{i=\lambda}^{\lambda'} (p_i - y_i)^2} < \sqrt{\sum_{i=\lambda}^{\lambda'} (p_i - x_i)^2} \text{ then } \mathbf{p} \rightarrow \text{"benign"}$$

Επιπλέον η υπόθεση μια κλάσης που αντιπροσωπεύονται από μόνο ένα φάσμα δε λαμβάνει υπόψιν ούτε τις διακυμάνσεις εντός της κλάσης ούτε τη σημαντική ποικιλομορφία του θορύβου που προέρχεται από τα όργανα εξέτασης. Συνήθως ένα σύνολο εκπαίδευσης (training set) από φάσματα κάθε κλάσης συγκεντρώνεται, όπου το μέγεθος του εξαρτάται από την πολυπλοκότητα της εφαρμογής. Συγκεκριμένα, οι κλάσεις πρέπει να είναι εξαντλητικές (exhaustive) και διαχωρίσιμες (separable) από αξία πληροφορίας και μοντελοποιούνται με επαρκή πληρότητα και ακρίβεια. Βελτιώνοντας τον απλό κατηγοριοποιητή, ένας μεγάλος αριθμός από δείγματα συγκεντρώνεται, ενώ η Ευκλείδεια απόσταση ανάμεσα στα pixels και το μέσο φάσμα για κάθε κλάση υπολογίζεται:

$$\text{if } \sqrt{\sum_{i=\lambda}^{\lambda'} (p_i - \bar{y}_i)^2} < \sqrt{\sum_{i=\lambda}^{\lambda'} (p_i - \bar{x}_i)^2} \text{ then } \mathbf{p} \rightarrow \text{"benign"}$$

, where  $\bar{\mathbf{x}} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_N)$  and  $\bar{\mathbf{y}} = (\bar{y}_1, \bar{y}_2, \dots, \bar{y}_N)$

Επιπρόσθετα, παρόμοια τεστ μπορούν να πραγματοποιηθούν για κάθε μέλος των δύο κλάσεων μεμονωμένα, βελτιώνοντας την ικανότητα του κατηγοριοποιητή να προβλέπει. Ένα σύνολο εκπαίδευσης  $T$  από  $S$  δείγματα θα απαιτούσε τον υπολογισμό της ελάχιστης (minimum) Ευκλείδειας απόστασης ανάμεσα στο pixel  $p$  και κάθε μέλος  $t=(t_1, t_2, \dots, t_N)$  του συνόλου εκπαίδευσης  $T$ :

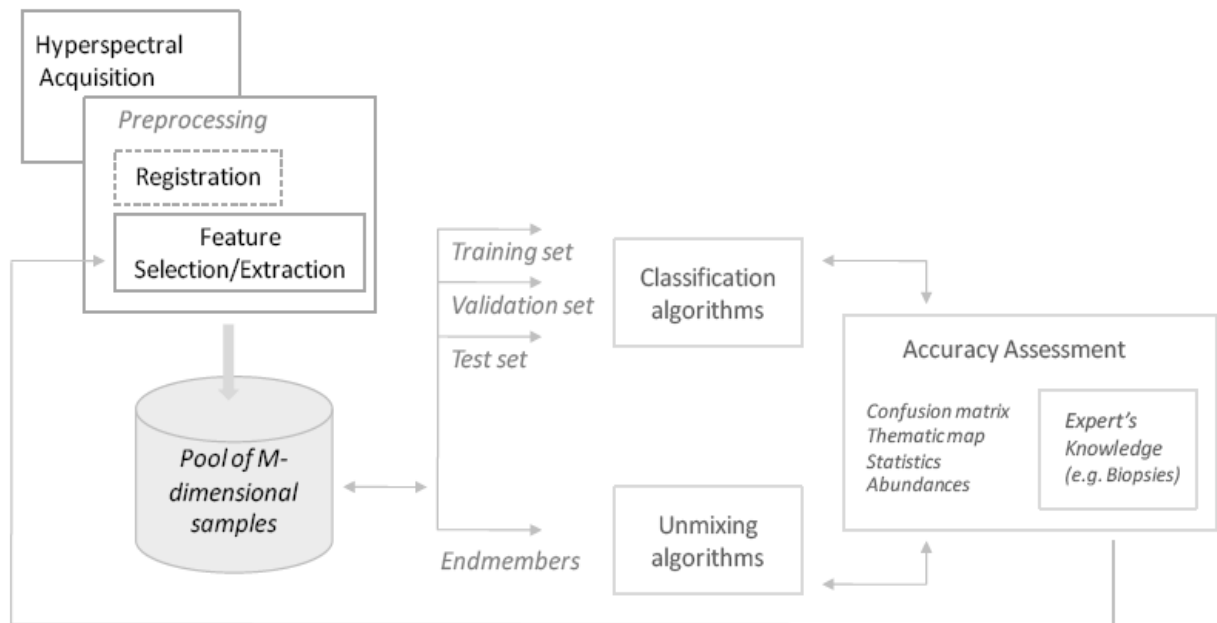
$$if j = \underset{\substack{1 \leq j \leq S \\ t \in T}}{\operatorname{argmin}} \sqrt{\sum_{i=1}^{\lambda''} (p_i - t_{ij})^2} \quad then p \rightarrow class(j)$$

Ένα άλλο πλεονέκτημα της συγκέντρωσης φασματικής πληροφορίας από μια ακολουθία εικόνων είναι η δημιουργία θεματικών χαρτών (thematic maps). Αυτοί οι θεματικοί χάρτες αντιστοιχίζουν κατευθείαν πάνω σε κάθε pixel το αποτέλεσμα της κατηγοριοποίησης. Στο παράδειγμά μας, δύο διαφορετικά χρώματα χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ψευδοχρωματικής αναπαράστασης, απεικονίζοντας τη χωρική διανομή των κλάσεων στον ιστό. Στην περίπτωση της κατηγοριοποίησης βιοϊατρικών εικόνων, εκτός από την κατηγοριοποίηση των εικόνων σε γνωστές κατηγορίες ενδιαφέροντος, ένας μελλοντικός στόχος είναι να φθάσουμε σε μια διαγνωστική απόφαση σύμφωνα με την κατάσταση του ασθενή. Συνήθως αυτό το τελευταίο βήμα απαιτεί γνώση ειδικού επιστήμονα. Ιδανικά, το σύστημα πρέπει να είναι ικανό να αποφασίζει για την κατάσταση του ασθενή χωρίς τη συν-αξιολόγηση από τον υποκειμενικό ανθρώπινο παράγοντα.

Σχεδιάζοντας ένα σύστημα ικανό να κατηγοριοποιήσει υπερφασματικά δεδομένα, απαιτείται η εξέταση πολλών προδιαγραφών. Ακόμη και αν βελτιστοποιημένοι υπερφασματικοί αισθητήρες έχουν ενσωματωθεί σε ιατρικά όργανα παρέχοντας ένα μεγάλο αριθμό από συνεχόμενες φασματικές μπάντες, η απαίτηση για πραγματικού χρόνου (real-time) επεξεργασία, συνήθως με εξελιγμένους αλγορίθμους, είναι συντριπτική στα πλαίσια της υπολογιστικής προσπάθειας.

Η προεπεξεργασία των φασματοσκοπικών εικόνων, η επιλογή για τα κατάλληλα δείγματα εκπαίδευσης, η επιλογή χαρακτηριστικών (επιλογή μήκους κύματος), η εξαγωγή χαρακτηριστικών και η ακρίβεια των στρατηγικών αξιολόγησης είναι σημαντικοί παράγοντες κατά το σχεδιασμό τέτοιων συστημάτων. Ανάλογα με τις απαιτήσεις της ιατρικής εφαρμογής, ένας αριθμός παραμέτρων συμπεριλαμβανομένης της χωρικής, φασματικής και χρονικής ανάλυσης των δεδομένων πρέπει να ρυθμιστεί. Ο σχεδιαστής του παραπάνω συστήματος πρέπει να λάβει υπόψιν του τη συμβατότητα με προηγούμενη εργασία που έχει γίνει πάνω σε αυτό τον τομέα, τη διαθεσιμότητα επεξεργασίας εικόνας και τους αλγόριθμους κατηγοριοποίησης και κυρίως τους χρονικούς περιορισμούς (real-time επεξεργασία ή όχι) που επίσης εμπλέκονται στις προδιαγραφές του υλικού (hardware).

Μια λεπτομερής διαδικασία κατηγοριοποίησης υπερφασματικών pixels φαίνεται παρακάτω: μετά τη συγκέντρωση ενός συνόλου  $N$  εικόνων, τα  $M$  πιο πληροφοριακά μήκη κύματος επιλέγονται στην προεπεξεργασία για να αναπαραστήσουν το φάσμα κάθε κλάσης-κατηγορίας. Μετά ένα σύνολο δειγμάτων ανά κλάση είναι διαθέσιμο για αξιολόγηση της λειτουργίας διαφορετικών αλγορίθμων κατηγοριοποίησης, βασισμένο σε διάφορες στρατηγικές αξιολόγησης ακρίβειας.



Εικόνα 87: Ταξινόμηση / unmixing διαδικασία υπερφασματικών σύνολων δεδομένων. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται όσες φορές απαιτείται, με διαφορετικές επιλογές ή συνδυασμούς συνόλων εκπαίδευσης, αλγόριθμοι για την ταξινόμηση, unmixing, επιλογή χαρακτηριστικών, κλπ.

Η επίδοση της κατηγοριοποίησης αξιολογείται από τον confusion matrix, διαιρώντας το συνολικό αριθμό των σωστά κατηγοριοποιημένων pixels (άθροισμα των μέγιστων διαγώνιων τιμών του confusion matrix) με το συνολικό αριθμό των pixels. Ωστόσο, μια μοναδική μέτρηση ακρίβειας δεν αναπαριστά τη λειτουργία του κατηγοριοποιητή για κάθε μεμονωμένη κλάση. Ένας κατηγοριοποιητής μπορεί να λειτουργεί καλά για μια κλάση που υπολογίζει ένα μεγάλο ποσό δεδομένων δημιουργώντας μια θετικό (positive) προδιάθεση στη συνολική ακρίβεια, παρ' όλη τη χαμηλή ακρίβεια που παρουσιάζει για άλλες κλάσεις. Αποφεύγοντας μια τέτοια προδιάθεση, οι μεμονωμένες ακρίβειες κλάσεων συχνά εξετάζονται. Η μεμονωμένη ακρίβεια μιας κλάσης αποκτάται διαιρώντας τον αριθμό των σωστά κατηγοριοποιημένων pixels μιας κλάσης (τα pixels που ανήκουν στην κύρια διαγώνιο), με το συνολικό αριθμό των pixels που κατηγοριοποιούνται σε αυτή την κλάση (το άθροισμα των pixels που ανήκουν στην ίδια στήλη). Αυτό ονομάζεται ευαισθησία (sensitivity). Ένα σφάλμα κατηγοριοποίησης δεν είναι μόνο μια παράλειψη από τη σωστή κλάση αλλά και μια προμήθεια σε μια άλλη κλάση. Η ακρίβεια του χρήστη ή αλλιώς η ειδικότητα (specificity) αποκτάται διαιρώντας το συνολικό αριθμό σωστά κατηγοριοποιημένων pixels μιας κλάσης, με το συνολικό αριθμό των pixels αυτής της κλάσης που παραπέμφθηκαν σε άλλες κλάσεις, το άθροισμα των pixels που ανήκουν στην ίδια γραμμή. Εκτός από αυτά τα ποσοστά άλλες μετρήσεις που χρησιμοποιούνται για την επίδοση της κατηγοριοποίησης είναι η ROC (receiver operating curve), η συσχέτιση (correlation), η εντροπία (entropy), η αμοιβαία πληροφορία (mutual information), η στατιστική  $k$  (kappa statistics) και τα t-tests.

<b>Classes</b>	Class 1	Class 2	Class 3	Class 4	Class 5	Class 6	<b>Users (%)</b>
Class 1	4075	849	0	5	0	0	<b>82,67</b>
Class 2	2256	1791	0	0	0	0	<b>44,25</b>
Class 3	0	0	5617	201	3	0	<b>96,50</b>
Class 4	0	0	6	5680	0	0	<b>99,89</b>
Class 5	0	0	0	0	5195	0	<b>100</b>
Class 6	0	0	0	25	2	4931	<b>99,45</b>
<b>Producers (%)</b>	<b>64,36</b>	<b>67,84</b>	<b>99,89</b>	<b>96,09</b>	<b>99,90</b>	<b>100</b>	<b>89,09</b>

Εικόνα 88: Ένα παράδειγμα confusion matrix για 6 κατηγορίες με 30630 συνολικά δείγματα. Η συνολική απόδοση είναι 89,09, ενώ επιμέρους ακρίβειες για κάθε κατηγορία παρέχονται επίσης.

Το παραπάνω παράδειγμα δείχνει έναν confusion matrix για 6 κλάσεις με 30630 δείγματα. Η συνολική επίδοση (performance) είναι 89.09 ενώ δίνονται επίσης οι μεμονωμένες ακρίβειες για κάθε κλάση.

Οι προαναφερθείσες μετρήσεις είναι χρήσιμες για την αξιολόγηση της επίδοσης της μεθόδου, αλλά η εκτίμηση των ικανοτήτων ενός μοντέλου κατηγοριοποίησης για άγνωστα δείγματα είναι επίσης κάτι σημαντικό. Η επίδοση της κατηγοριοποίησης για pixels που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί για εκπαίδευση μπορεί να είναι σημαντικά κατώτερη, λόγω overfitting. Ένα μοντέλο κατηγοριοποίησης θεωρείται εκπαιδευμένο, αν είναι ικανό να προβλέψει το σωστό αποτέλεσμα για μια συλλογή από pixels γνωστών κλάσεων. Ωστόσο, αν το σύνολο εκπαίδευσης είναι μικρό, το μοντέλο μπορεί να προσαρμοστεί στο συγκεκριμένο πρότυπο (pattern) των δεδομένων εκπαίδευσης και έτσι να μην μπορεί να γενικεύσει για τύπους δειγμάτων που δεν παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια εκπαίδευσης. Άλλες μορφές overfitting συμβαίνουν επιλέγοντας τις παραμέτρους ενός πολύπλοκου αλγορίθμου εκπαίδευσης μόνο βασισμένος στο σύνολο εκπαίδευσης ή όταν η εκπαίδευση πραγματοποιείται για αρκετό χρόνο – overtraining (συνήθης κατάσταση για νευρωνικά δίκτυα).

Η μέθοδος cross validation είναι μια συνηθισμένη μέθοδος αξιολόγησης του σφάλματος γενίκευσης παρεμποδίζοντας την εκπαίδευση (training) του συνόλου δεδομένων, την επικύρωση (validation), και τα σύνολα εξέτασης (test sets). Η βασική ιδέα είναι να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τρόποι διανομής των δειγμάτων (επαναδειγματοληπτώντας το ίδιο σύνολο δεδομένων) με κόστος περισσότερους υπολογισμούς (εξαιτίας επαναλαμβανόμενης κατηγοριοποίησης με επαναδειγματοληψία). Οι τυπικές στρατηγικές περιλαμβάνουν

α) τυχαία υποδειγματοληψία (random subsampling), όπου το σύνολο των διαθέσιμων pixels διαιρείται τυχαία σε ένα σταθερό αριθμό δειγμάτων για το σύνολο εκπαίδευσης (training set) και το σύνολο επικύρωσης (validation set)

β) K-fold cross validation (CV), όπου η διαδικασία κατηγοριοποίησης πραγματοποιείται K φορές, το σύνολο των διαθέσιμων pixels διαιρείται σε K folds, περιέχοντας ίσο αριθμό από pixels. Για κάθε πείραμα K-1 folds χρησιμοποιούνται για εκπαίδευση και τα εναπομείναντα folds χρησιμοποιούνται για επικύρωση (validation). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι να εφαρμοστεί σε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς των διαφορετικών folds για τα σύνολα training/validation, ενώ ολόκληρη η επίδοση μπορεί

να αποκτηθεί με τον υπολογισμό του μέσου όρου του ρυθμού σφάλματος κατηγοριοποίησης για κάθε πείραμα.

γ) Leave one out cross validation (LOOCV), όπου η διαδικασία κατηγοριοποίησης εφαρμόζεται τόσες φορές όσος ο αριθμός των διαθέσιμων δειγμάτων. Για παράδειγμα, σε ένα σύνολο δεδομένων από  $N$  δείγματα, για κάθε πείραμα,  $N-1$  pixels χρησιμοποιούνται για εκπαίδευση και το εναπομένον pixel για validation. Το βασικό πλεονέκτημα του  $K$ -fold cross validation είναι ότι όλα τα pixels σε ένα σύνολο δεδομένων χρησιμοποιούνται τελικά τόσο για εκπαίδευση όσο και για επικύρωση (κάθε pixel χρησιμοποιείται για validation ακριβώς μια φορά), ενώ η μέθοδος LOOCV δεν μπορεί να αναπαραχθεί. Μιά 10-fold CV μέθοδος χρησιμοποιείται συχνά (συνήθως χρησιμοποιείται μαζί με ένα t-test) αλλά για μεγάλα σύνολα δεδομένων, ακόμα και μια μέθοδος 3-fold CV μπορεί να είναι αρκετά ακριβής.

### Data Reduction – Feature selection/extraction

Η τηλεπισκόπηση ήταν μια από τις πρώτες επιτυχημένες προσαρμογές της πολυ-υπερφασματικής τεχνολογίας. Συνεπώς, η έρευνα στην ανάλυση των υπερφασματικών δεδομένων εφαρμόστηκε περισσότερο σε βάσεις δεδομένων που συνέλεξαν δείγματα εδαφοκάλυψης. Ωστόσο, η προεπεξεργασία εικόνας για την τηλεπισκόπηση περιλαμβάνει γεωμετρική διόρθωση, ραδιομετρική βαθμονόμηση κ.α άλλες μέθοδοι για επιλογή/εξαγωγή χαρακτηριστικών είναι συνήθεις για βιοϊατρική απεικόνιση. Στις περισσότερες βάσεις δεδομένων δεν είναι όλες οι μετρούμενες εντάσεις σε κάθε μήκος κύματος σημαντικές για την κατανόηση των υποκείμενων φαινομένων ενδιαφέροντος. Επειδή, η επεξεργασία ολόκληρου του συγκεντρωμένου φάσματος μπορεί να είναι επίπονη στα πλαίσια της υπολογιστικής προσπάθειας, είναι ουσιώδης σημασίας η μετατροπή του συνόλου εικόνων σε μια δομή περιορισμένων διαστάσεων. Αυτό επιτυγχάνεται επιλέγοντας ή εξάγοντας χαρακτηριστικά από μήκη κύματος και μειώνοντας το αρχική διάσταση του φάσματος ενώ διατηρείται όσο περισσότερη πληροφορία είναι δυνατόν. Επίσης, απλοποιώντας τους υπολογισμούς που υλοποιούνται από τον κατηγοριοποιητή και αυξάνοντας την ικανότητά του να προβλέπει, αποφεύγεται το γνωστό πρόβλημα κατηγοριοποίησης “κατάρρα διαστάσεων” (curse of dimensionality).

Τα ουσιώδη χαρακτηριστικά για την κατηγοριοποίηση εικόνας εξάγονται από τις φασματικές υπογραφές (spectral signatures), τις μετασχηματισμένες εικόνες (transformed images), την πληροφορία υψής, τις εικόνες που προέρχονται από πολλές χρονικές ακολουθίες κ.α. Παρατηρώντας τις φασματικές κυματομορφές του συνόλου των εικόνων είναι δυνατόν να απομονωθούν οι ζώνες με την περισσότερη πληροφορία ή τα πιο αντιπροσωπευτικά φάσματα για ένα σύνολο εκπαίδευσης, ωστόσο περισσότερο πολύπλοκες προσεγγίσεις χρησιμοποιούνται συχνά. Ενδεικτικά, η Principal Components Analysis (PCA) είναι η καλύτερη, γραμμική τεχνική μείωσης διαστάσεων. Η PCA προσπαθεί να μειώσει τις διαστάσεις των δεδομένων βρίσκοντας μερικούς ορθογώνιους γραμμικούς συνδυασμούς (τα Pcs) των αρχικών φασματικών ζωνών με τη μεγαλύτερη διακύμανση. Με άλλα λόγια, ο στόχος της PCA μεθόδου είναι να υπολογίζει την πιο ορθοκανονική βάση για να επαναεκφράσει ένα θορυβώδες σύνολο δεδομένων (noisy data set). Η ελπίδα είναι αυτή η νέα βάση να μπορεί να φιλτράρει το θόρυβο και να αποκαλύπτει την κρυμμένη δομή. Η καλύτερη χαμηλών διαστάσεων βάση μπορεί να οριστεί από τα καλύτερα ιδιοδιανύσματα του πίνακα συνδιακύμανσης (covariance matrix) των αρχικών δεδομένων. Η εφαρμογή της μεθόδου PCA είναι σχετικά απλή στην πράξη οργανώνοντας το σύνολο δεδομένων ως ένα  $m \times n$  πίνακα  $X$ , όπου  $m$  είναι ο αριθμός των φασματικών ζωνών και  $n$  είναι ο αριθμός των pixels, αφαιρώντας τη μέση τιμή κάθε γραμμής και υπολογίζοντας τον πίνακα

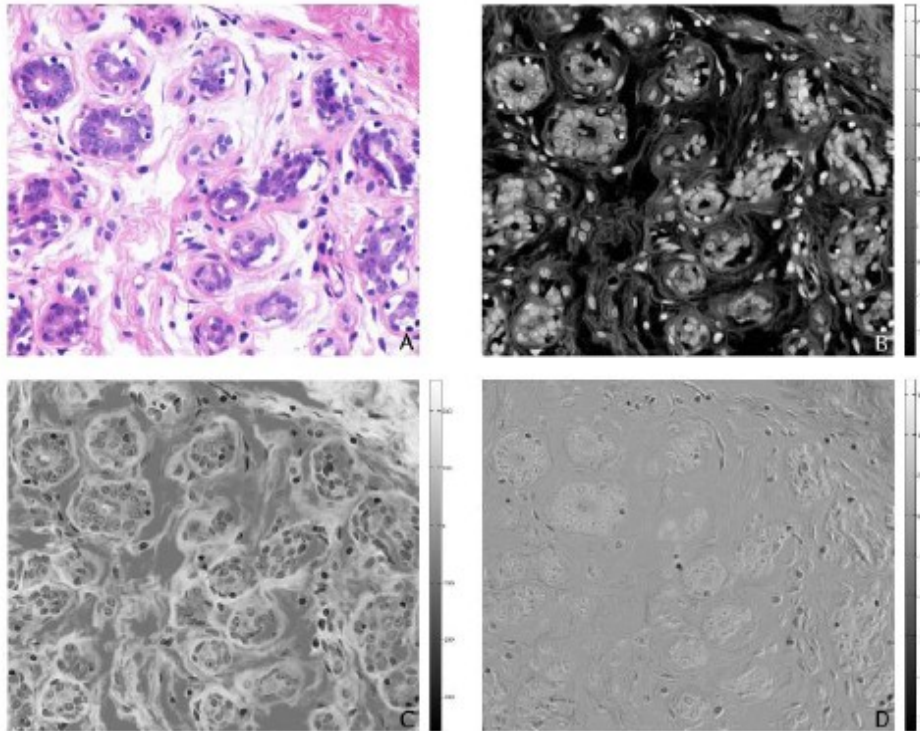
συνδιακύμανσης:

$$\Sigma_{m \times m} = \frac{1}{n-1} \mathbf{X}\mathbf{X}^T$$

Σημειώνουμε ότι  $\mathbf{X}\mathbf{X}^T$  είναι ένας συμμετρικός πίνακας όπου μπορεί να διαγωνοποιηθεί από τα ορθοκανονικά του ιδιοδιανύσματα. Έτσι,  $\mathbf{X}\mathbf{X}^T = \mathbf{U}\mathbf{\Lambda}\mathbf{U}^T$ , όπου  $\mathbf{\Lambda} = \text{diag}[\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m]$  είναι ο διαγώνιος πίνακας των διατεταγμένων ιδιοτιμών  $\lambda_1 < \lambda_2 < \dots < \lambda_m$  και  $\mathbf{U}$  είναι ένα  $m \times m$  ορθογώνιος πίνακας που περιέχει τα ιδιοδιανύσματα. Αφού ο  $\Sigma_{m \times m}$  πίνακας είναι συμμετρικός, τα  $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m$  σχηματίζουν μια βάση που καθιστά δυνατό κάθε διάνυσμα pixel  $\mathbf{p}$  να εκφράζεται ως ένας γραμμικός συνδυασμός των ιδιοδιανυσμάτων:

$$\mathbf{p} = \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ \vdots \\ p_m \end{bmatrix} \xrightarrow{PCA} \begin{bmatrix} p_{pc1} \\ p_{pc2} \\ \vdots \\ p_{pcm} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} U_{11}p_1 + U_{12}p_2 + \dots + U_{1m}p_m \\ U_{21}p_1 + U_{22}p_2 + \dots + U_{2m}p_m \\ \vdots \\ U_{m1}p_1 + U_{m2}p_2 + \dots + U_{mm}p_m \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^m U_{1i}p_i \\ \sum_{i=1}^m U_{2i}p_i \\ \vdots \\ \sum_{i=1}^m U_{mi}p_i \end{bmatrix}$$

Ο υποχώρος (subspace) που βαθμονομείται από τα πρώτα  $k$  ιδιοδιανύσματα έχει το μικρότερο μέση τετραγωνική απόκλιση από τον πίνακα  $\mathbf{X}$  ανάμεσα σε όλους τους υποχώρους της διάστασης  $k$ . Εξετάζοντας τις διακυμάνσεις που σχετίζονται με στις συνιστώσες αρχές (principal components) συχνά βρίσκουμε μεγάλες διακυμάνσεις που σχετίζονται με τις πρώτες  $k$  συνιστώσες αρχές, και μετά μια απότομη πτώση (precipitous drop-off). Η παράμετρος μπορεί να επιλεγεί από το χρήστη ανάλογα με την εφαρμογή (μια μικρή τιμή  $k$  σημαίνει μεγάλη μείωση διαστάσεων αλλά πιθανή απώλεια πληροφορίας). Η ερμηνεία των PCs μπορεί να είναι δύσκολη κάποιες φορές. Ωστόσο, είναι μη συσχετισμένες μεταβλητές που δομούνται ως γραμμικοί συνδυασμοί των αρχικών μεταβλητών, και έχουν κάποιες επιθυμητές ιδιότητες, δεν αντιστοιχούν απαραίτητα σε σημαντικές φυσικές ποσότητες. Σε κάποιες περιπτώσεις, μια τέτοια απώλεια ερμηνείας δεν είναι σημαντική στον τομέα των επιστημών. Σε μια κατηγοριοποίηση πυρήνων επιπέδου pixel εφαρμόζεται μια ρουτίνα H&E (Hematoxylin-Eosin) όπου χρωματισμένες ιστοπαθολογικές εικόνες συγκεντρώνονται από ένα πολυφασματικό, φωτεινού πεδίου μικροσκόπιο. Ωστόσο, τα σύνολα δεδομένων αποτελούνται από 29 φασματικές ζώνες, εύρους 10nm εντός του οπτικού πεδίου των 420-700nm και τα αποτελέσματα της κατηγοριοποίησης δεν αποδεικνύουν σημαντικό κέρδος έναντι της κλασσικής RGB απεικόνισης. Η μέθοδος PCA τονίζει τις διαφορετικές κυτταρικές δομές που είναι παρούσες στα δείγματα των ιστών. Η πρώτη προβολή φαίνεται να τονίζει τις πυρηνικές περιοχές (π.χ την αιμοσφαιρίνη), η δεύτερη προβολή τονίζει το συνδετικό ιστό και το κυτταρόπλασμα (π.χ την ηωσίνη) και η τρίτη και επόμενες προβολές δεν έχουν εμφανή αντιστοιχία με το χρωματισμό των ιστών.



Εικόνα 89: Η αρχική εικόνα RGB (πάνω αριστερά), που ακολουθείται από τις πρώτες 3 κύριες συνιστώσες. Η πρώτη συνιστώσα, από τη μεγαλύτερη ιδιοτιμή, περιέχει την περισσότερη πληροφορία και τη μέγιστη αντίθεση

Επίσης, οι PCA παραλλαγές (π.χ ανεξάρτητη ανάλυση συνιστωσών (independent component analysis, ICA), επιλεκτική PCA (selective PCA), kernel PCA) ή μετασχηματισμός κυμάτων (wavelet transform) έχουν υλοποιηθεί επιτυχώς στην τηλεπισκόπηση. Μέθοδοι φιλτραρίσματος και wrapper μέθοδοι όσο και συνδυασμός τους έχουν υλοποιηθεί για να επιλέγουν το καλύτερο υποσύνολο των φασματικών ζωνών για ιδανική κατηγοριοποίηση.

### Εισαγωγή στους ταξινομητές

Η ευκολία με την οποία αντιλαμβανόμαστε ένα πρόσωπο, διακρίνουμε τους χαρακτήρες, ξεχωρίζουμε τα κλειδιά μας μόνο με την αφή και αποφασίζουμε αν ένα φρούτο είναι ώριμο από τη μυρωδιά του, είναι διαδικασίες αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition). Ο άνθρωπος επιλύει τα προβλήματά αυτά με την εκπαίδευση που έχουν υποστεί τα δισεκατομμύρια κύτταρα του εγκεφάλου του. Στην περιοχή της ψηφιακής επεξεργασίας εικόνων, το πρόβλημα της αναγνώρισης προτύπων ανάγεται στην ταξινόμηση (clustering) ενός συνόλου κατάλληλων και ισχυρών χαρακτηριστικών σε κλάσεις (classes) με τη βοήθεια κατάλληλων ταξινομητών (classifiers). Το διάλυμα των χαρακτηριστικών που χρησιμοποιείται σε ένα σύστημα ταξινόμησης καλείται πρότυπο (pattern). Οι ταξινομητές είναι ουσιαστικά αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται για να επιτύχουμε την ταξινόμηση των προτύπων σε κατά το δυνατόν ομοιογενείς, από άποψη χαρακτηριστικών, κλάσεις.

Στην ψηφιακή επεξεργασία εικόνων χρησιμοποιούμε ταξινομητές που κύρια ανήκουν σε μια από τις ακόλουθες κατηγορίες:

- Στατιστικούς ταξινομητές
- Νευρωνικούς ταξινομητές
- Ταξινομητές που βασίζονται σε ένα ιεραρχικό αλγόριθμο (hierarchical clustering)
- Τους ταξινομητές που χρησιμοποιούν σαφή (crisp) δεδομένα και σε αυτούς που βασίζονται σε ασαφή λογική (fuzzy logic) και οι οποίοι καλούνται ασαφείς ταξινομητές
- Ο συνδυασμός νευρωνικών δικτύων και ασαφούς λογικής οδηγεί σε υβριδικούς ταξινομητές, τους καλούμενους νευρο-ασαφείς ταξινομητές (neuro-fuzzy classifiers)
- Μια άλλη κατηγοριοποίηση αφορά τους αυτο-οργανούμενους (self-organized) ή μη ταξινομητές
- Τέλος, μπορούμε να διακρίνουμε τους ταξινομητές στους οποίους είναι δεδομένος από την αρχή ο αριθμός των κλάσεων και σε αυτούς που έχουν τη δυνατότητα προσδιορισμού του βέλτιστου αριθμού των κλάσεων κατά τη διαδικασία ταξινόμησης

Η επιλογή του κατάλληλου ταξινομητή σχετίζεται άμεσα με το είδος των χαρακτηριστικών καθώς και το είδος της εφαρμογής όπου θα χρησιμοποιηθεί. Συνεπώς, κατά το σχεδιασμό μιας εφαρμογής, η επιλογή των κατάλληλων χαρακτηριστικών και του κατάλληλου ταξινομητή πρέπει να γίνεται ταυτόχρονα. Παρόλα αυτά, υπάρχουν περιπτώσεις όπου οι ταξινομητές, μετά την αρχική τους χρησιμοποίηση, μπορούν να μας βοηθήσουν να συμπεράνουμε για το πόσο ισχυρά ή μη είναι ορισμένα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν.

### Μέθοδοι κατηγοριοποίησης

Μετά τον ορισμό του αριθμού και της φύσης των κατηγοριών, το επόμενο βήμα είναι προσδιοριστεί κάθε άγνωστο και αφανές στοιχείο σε μια από τις κατηγορίες σύμφωνα με το επίπεδο ομοιότητας ως προς το βασικό πρότυπο. Γενικά, το μοντέλο κατηγοριοποίησης εξαρτάται από την εφαρμογή απαιτώντας εκτενή έρευνα για την επιλογή του κατάλληλου αλγόριθμου τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων του.

Υπάρχουν αρκετοί αλγόριθμοι κατηγοριοποίησης για την ανίχνευση των φασματικών κλίσεων των pixels. Για παράδειγμα κάποιες διαδικασίες επαναλαμβάνουν σε ένα (τοπικό) ελάχιστο μιας μέσης απόστασης από κάθε pixel προς τις κοντινότερες μέσες τιμές μιας κλάσης. Όταν εκεί δεν υπάρχει προηγούμενη γνώση για την ακριβή τοποθεσία των δειγμάτων που αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία, η unsupervised κατηγοριοποίηση παρέχει μια επισκόπηση των διαφορετικών ομάδων που υπάρχουν μέσα στο σύνολο δεδομένων. Σε βιοϊατρικές εφαρμογές, εξαιτίας της πολύπλοκης φύσης του ανθρώπινου ιστού δεν είναι πάντα εφικτό να διαχωριστούν μεμονωμένες φασματικές υπογραφές. Ένας θεματικός χάρτης από μια unsupervised τεχνική μπορεί να είναι χρήσιμος για την υλοποίηση ενός συνόλου εκπαίδευσης με ξεχωριστές κλάσεις.

Οι αλγόριθμοι κατηγοριοποίησης που χρησιμοποιούνται στην τηλεπισκόπηση είναι ο K-means και ο ISODATA (Projection Pursuit, Hidden Markov Chain models κ.α).

## K-means αλγόριθμος

Ο αλγόριθμος K-means είναι ένας αλγόριθμος που κατηγοριοποιεί η pixels βάση των φασματικών τους χαρακτηριστικών σε k ομάδες ( $k < n$ ), υποθέτοντας ότι τα χαρακτηριστικά σχηματίζουν ένα διανυσματικό χώρο. Ο αλγόριθμος K-means στηρίζεται στην ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των τετραγώνων των αποστάσεων όλων των στοιχείων σε κάθε κλάση από το κέντρο της κλάσης αυτής.

Ο στόχος που προσπαθεί να επιτύχει είναι να ελαχιστοποιήσει τη συνολική ενδο-κλασική διακύμανση ή τη συνάρτηση τετραγωνικού σφάλματος:

$$V = \sum_{i=1}^k \sum_{p_j \in S_i} (p_j - \mu_i)^2$$

όπου υπάρχουν k κλάσεις  $S_i$ ,  $i=1,2,\dots,k$  και  $\mu_i$  είναι το κεντρικό ή μέσο σημείο όλων των pixels  $p_j$  που ανήκουν στο σύνολο S. Ένα μειονέκτημα του αλγορίθμου k-means είναι ότι ο αριθμός των κλάσεων k είναι μια παράμετρος εισόδου. Μια μη κατάλληλη επιλογή του k μπορεί να οδηγήσει σε ελλιπή αποτελέσματα. Ο αλγόριθμος επίσης υποθέτει ότι η διακύμανση είναι ένα κατάλληλο μέτρο του διασκορπισμού της κλάσης (cluster scatter).

Γενικά ο αλγόριθμος K-means περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

### Βήμα 1ο:

Καθορίζουμε το πλήθος των κλάσεων, έστω K

### Βήμα 2ο:

Επιλέγουμε τυχαία η προσεγγιστικά K στοιχεία τα οποία αποτελούν τα κέντρα των κλάσεων

### Βήμα 3ο:

Για τα υπόλοιπα M-K στοιχεία προσδιορίζουμε την απόσταση τους από τα κέντρα των K κλάσεων και τα τοποθετούμε στην κατάλληλη κλάση με κριτήριο την ελάχιστη απόσταση

### Βήμα 4ο:

Υπολογίζουμε ξανά τα κέντρα των κλάσεων (δηλαδή τη μέση τιμή των στοιχείων κάθε κλάσης)

### Βήμα 5ο:

Υπολογίζουμε ξανά τις αποστάσεις των στοιχείων από τα κέντρα των κλάσεων και γίνεται επανατοποθέτηση των στοιχείων

### Βήμα 6ο:

Επαναλαμβάνουμε τα βήματα 4 και 5 μέχρι τα κέντρα των κλάσεων να μην έχουν καμιά μεταβολή, οπότε ο αλγόριθμος συγκλίνει

## C-means αλγόριθμος

Η διαφορά του αλγορίθμου αυτού από τον K-means είναι ότι τοποθετούμε και τα M στοιχεία που έχουμε κατευθείαν στις K κλάσεις και κατόπιν προσδιορίζουμε τα κέντρα των κλάσεων. Τα υπόλοιπα στοιχεία του αλγορίθμου αυτού (κριτήριο ταξινόμησης, σύγκλιση κ.τ.λ) είναι ταυτόσημα με τον αλγόριθμο K-means. Γενικά ο αλγόριθμος C-means περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

### Βήμα 1ο:

Προσδιορίζουμε το πλήθος των κλάσεων, έστω K

### Βήμα 2ο:

Τοποθετούμε προσεγγιστικά τα M στοιχεία στις K κλάσεις και αν αυτό δεν είναι δυνατό η τοποθέτηση γίνεται τυχαία

### Βήμα 3ο:

Υπολογίζουμε τα κέντρα των κλάσεων

### Βήμα 4ο:

Υπολογίζουμε ξανά τις αποστάσεις των στοιχείων από τα κέντρα των κλάσεων και επανατοποθετούμε τα στοιχεία στην πλησιέστερη κλάση

### Βήμα 5ο:

Επαναλαμβάνουμε τα βήματα 4 και 5 μέχρι τα κέντρα των κλάσεων να μην έχουν καμιά μεταβολή, οπότε ο αλγόριθμος συγκλίνει.

## Ασαφής ταξινόμηση (Fuzzy Clustering)

Η κύρια διαφορά των ασαφών ταξινομητών σε σχέση με τους σαφείς ταξινομητές έγκειται στο ότι το κάθε στοιχείο πλέον μπορεί να ανήκει σε περισσότερες από μιας κλάσεις. Συγκεκριμένα, έχουμε M στοιχεία  $x_1, x_2, \dots, x_M$  που ανήκουν στο σύνολο S και αναζητούμε τις περιοχές (κλάσεις)  $S_1, S_2, \dots, S_K$  έτσι ώστε κάθε  $x_i, i=1, 2, \dots, M$  να ταξινομηθεί σε κλάσεις έτσι ώστε  $S_1 \cup S_2 \cup \dots \cup S_K = S$ , χωρίς όμως να ισχύει η σχέση  $S_i \cap S_j = \emptyset, \forall i \neq j$ .

## Ο ταξινομητής Fuzzy C-means

Ο Fuzzy C-means (FCM) ταξινομητής, ο οποίος προτάθηκε από τον Bezdek το 1973, αποτελεί στην ουσία τη fuzzy εκδοχή του C-means αλγορίθμου και έχει ως κριτήριο την ελαχιστοποίηση της συνάρτησης:

$$J(U, V) = \sum_{i=1}^c \sum_{k=1}^n u_{ik}^m |x_k - v_i|^2$$

όπου:

- $x_1, x_2, \dots, x_n$  είναι τα n στοιχεία του δείγματος που θα ταξινομηθούν,
- $V = \{v_1, v_2, \dots, v_c\}$  είναι τα κέντρα των κλάσεων,
- $U = [u_{ik}]$  είναι ένας  $c \times n$  πίνακας, όπου  $u_{ik}$  είναι ο συντελεστής συμμετοχής στην i κλάση του k από τα n στοιχεία του δείγματος.

Τα  $u_{ik}$  ικανοποιούν τις παρακάτω σχέσεις:

$$\begin{aligned} 0 \leq u_{ik} \leq 1, i=1, \dots, c, k=1, \dots, n \\ \sum_{i=1}^c u_{ik} = 1, k=1, \dots, n \\ 0 < \sum_{k=1}^n u_{ik} < n, i=1, \dots, c \end{aligned}$$

- $m > 1$  είναι ένας προκαθορισμένος εκθετικός συντελεστής ασαφοποίησης (fuzzier).

Η μορφή του FCM αλγορίθμου βασίστηκε στο “σκληρό” ταξινομητή c-means που προτάθηκε το 1973 από τους Duda κ Hart. Για να μπορέσει να χειριστεί τα δεδομένα με τέτοιο τρόπο ώστε αυτά τελικά να ταξινομούνται, με μια τιμή συμμετοχής, σε πολλές κλάσεις ο Dunn εισήγαγε μια fuzzy έκδοση του αλγόριθμου. Η τελική μορφή του FCM αλγορίθμου διαμορφώθηκε το 1973 από τον Bezdek ο οποίος εισήγαγε το συντελεστή ασαφοποίησης  $m$ . Οι κλάσεις που δημιουργεί ο FCM ταξινομητής έχουν σφαιρικό σχήμα.

Σύμφωνα με τους Helledoorn και Driankon, ο αλγόριθμος FCM περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

#### Βήμα 1ο:

Με δεδομένα ένα σύνολο δεδομένων (διανύσματα)  $X = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$ , καθορίζουμε τον αριθμό των κλάσεων  $2 \leq c \leq N$ , το μέγιστο αριθμό επαναλήψεων  $T$ , την τιμή του  $m > 1$  και την τιμή της σταθεράς τερματισμού  $\epsilon > 0$ .

#### Βήμα 2ο:

Καθορίζουμε (με τυχαίο ή διαφορετικό τρόπο) τις αρχικές τιμές του πίνακα συμμετοχής  $U^{(0)}$ .

#### Βήμα 3ο:

Για  $t=1, 2, \dots, T$

1. Υπολογίζουμε τα  $c$  κέντρα των κλάσεων με τη βοήθεια της σχέσης:

$$v_i = \frac{\sum_{k=1}^n u_{ik}^m x_{ik}}{\sum_{k=1}^n u_{ik}^m}, i=1, \dots, c \text{ (μέσος όρος των } x_{ik} \text{ με βάρη } u_{ik}^m)$$

2. Υπολογίζουμε τον πίνακα  $U(t)$  με τη βοήθεια της σχέσης:

$$u_{ik} = \frac{\left[ \frac{1}{|x_k - v_i|^2} \right]^{1/(m-1)}}{\sum_{j=1}^c \left[ \frac{1}{|x_k - v_j|^2} \right]^{1/(m-1)}}, \text{ όπου } i=1, \dots, c \text{ και } k=1, \dots, n$$

3. Σταματούμε την επαναληπτική διαδικασία όταν:

$$A_i = \rho \sqrt{\det(S_i)} S_i^{-1}$$

Διαφορετικά, πηγαίνουμε στο Βήμα 3.

Ο αλγόριθμος Fuzzy c-means υπάρχει υλοποιημένος στη βιβλιοθήκη Fuzzy Toolbox του MATLAB. Η σχετική υπορουτίνα fcm έχει την ακόλουθη μορφή:

```
function [center, U, obj_fcn]=fcm(data, cluster_n, options)
```

Οι παράμετροι εισόδου της υπορουτίνας fcm είναι:

data:

το σύνολο των προς ταξινόμηση δεδομένων. Κάθε γραμμή του data περιέχει τις τιμές ενός σημείου του χώρου των χαρακτηριστικών.

cluster\_n:

Το πλήθος των κλάσεων (πρέπει cluster\_n>1)

options:

Προαιρετικές παράμετροι που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της διαδικασίας ταξινόμησης, τον καθορισμό κριτηρίων τερματισμού και σύγκλισης καθώς πληροφορίες που πρέπει να εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ταξινόμησης:

options(1): τιμή του m (προκαθορισμένη τιμή: 2.0)

options(2): μέγιστος αριθμός επαναλήψεων (προκαθορισμένη τιμή: 100)

options(3) : η τιμή του e (προκαθορισμένη τιμή: 1e-5)

options(4): καθορίζει τις πληροφορίες που θα εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (προκαθορισμένη τιμή: 1)

Οι παράμετροι εξόδου είναι:

center:

τα τελικά κέντρα των κλάσεων, όπου κάθε γραμμή δίνει τις συντεταγμένες ενός κέντρου

U:

τελικές τιμές του πίνακα για τις τιμές συμμετοχής

obj\_fcn:

οι τιμές της αντικείμενης συνάρτησης κατά τη διάρκεια της ταξινόμησης

Ο αλγόριθμος FCM χρειάζεται περισσότερες επαναλήψεις για να συγκλίνει και συνεπώς έχει μεγαλύτερο υπολογιστικό κόστος.

### Λειτουργία του FCM ταξινομητή

Ο FCM αλγόριθμος δε συγκλίνει πάντα στο ίδιο βέλτιστο σημείο και συνεπώς δεν εξασφαλίζεται η σύγκλιση του στο απόλυτο βέλτιστο. Για τη γρήγορη σύγκλιση του FCM αλγορίθμου αλλά και για τη σύγκλισή του σε ικανοποιητικό σημείο, θα πρέπει οι αρχικές θέσεις των κέντρων των κλάσεων να είναι κοντά στο βέλτιστο σημείο σύγκλισης. Με άλλα λόγια, το σημείο εκκίνησης του FCM αλγορίθμου (αλλά και άλλων ασαφών ταξινομητών) παίζει σημαντικό ρόλο στο τελικό αποτέλεσμα. Ένας τρόπος για την επιλογή ικανοποιητικού αρχικού σημείου είναι η χρησιμοποίηση αρχικά του Kohonen SOFM νευρωνικού ταξινομητή.

Ο FCM ταξινομητής αναγνωρίζει κλάσεις με (υπέρ)-σφαιρική μορφή σε έναν  $n$ -διάστατο χώρο. Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του FCM αλγορίθμου, όλες οι κλάσεις θεωρούνται ισοδύναμες από πλευράς μεγέθους, δηλαδή σαν να έχουν όλες το ίδιο μέγεθος. Κάθε κλάση αντιπροσωπεύεται από το διάνυσμα του κέντρου της που σε πολλές περιπτώσεις καλείται πρότυπο διάνυσμα. Η μετρική που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της απόστασης μεταξύ του προτύπου διανύσματος και ενός άλλου διανύσματος είναι η Ευκλείδεια απόσταση και για αυτόν το λόγο οι κλάσεις που προκύπτουν έχουν σφαιρικό σχήμα.

## ISODATA

Ο ISODATA σημαίνει Iterative Self-Organizing Data Analysis Techniques. Είναι ένας παραμετρικός αλγόριθμος που επιτρέπει να ρυθμιστεί αυτόματα ο αριθμός των clusters κατά την διάρκεια των επαναλήψεων, συνενώνοντας όμοιες ομάδες και διαχωρίζοντας ομάδες με μεγάλες αποκλίσεις.

Σε αυτόν τον αλγόριθμο χρειάζεται να προσδιορίσουμε τις παρακάτω παραμέτρους:

$M$ =ο μέγιστος αριθμός των επιθυμητών κλάσεων

$n$ =ο ελάχιστον αριθμός στοιχείων σε κάθε κλάση

$\sigma_x$ =η μέγιστη τυπική απόκλιση

$\delta$ =η ελάχιστη απόσταση μεταξύ των κλάσεων

$L$ =ο μέγιστος αριθμός κλάσεων που μπορούν να συγχωνευθούν

$I$ =ο μέγιστος αριθμός επαναλήψεων

Ο αλγόριθμος αυτός θεωρείται μια βελτιστοποίηση των μεθόδων K-means και C-means. Γενικά ο αλγόριθμος ISODATA περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

### Βήμα 1ο:

Καθορίζουμε το μέγιστο επιθυμητό αριθμό κλάσεων (μικρότερο ή ίσο του  $M$ ) και τα αντίστοιχα κέντρα τους με τυχαίο ή προσεγγιστικό τρόπο

### Βήμα 2ο:

Για κάθε στοιχείο του δείγματος βρίσκουμε το κέντρο της κλάσης που είναι κοντύτερα σε αυτό. Τοποθετούμε τα στοιχεία στην κοντινότερη κλάση.

### Βήμα 3ο:

Υπολογίζουμε ξανά τα κέντρα των κλάσεων (υπολογίζουμε τους μέσους όρους όλων των στοιχείων κάθε κλάσης)

### Βήμα 4ο:

Ελέγχουμε αν κάποια κλάση έχει λιγότερα μέλη από την παράμετρο  $n$ . Σε αυτή την περίπτωση διαλύουμε την κλάση

### Βήμα 5ο:

Υπολογίζουμε την τυπική απόκλιση κάθε κλάσης και ελέγχουμε αν είναι μεγαλύτερη από την παράμετρο  $\sigma_x$ . Αν είναι μεγαλύτερη χωρίζουμε τα στοιχεία της κλάσης σε δύο ομάδες, την  $S_1$  με μέση τιμή μεγαλύτερη ή ίση από τη μέση της κλάσης και την  $S_2$  με μέση τιμή στοιχείων μικρότερη από τη μέση τιμή της κλάσης. Επίσης, αν η απόσταση των κέντρων των  $S_1$  και  $S_2$  είναι μεγαλύτερη από  $\delta$  τότε οι  $S_1$  και  $S_2$  αποτελούν δύο νέες κλάσεις.

### Βήμα 6ο:

Υπολογίζουμε τις αποστάσεις όλων των κλάσεων μεταξύ τους (απόσταση των κέντρων τους). Αν κάποιες από αυτές είναι μικρότερες ενώνουμε τις κλάσεις αυτές και προσδιορίζουμε το νέο κέντρο (αρκεί ο αριθμός των συγχωνεύσεων να είναι μικρότερος ή ίσος του L).

### Βήμα 7ο:

Αν η διαδικασία επαναλήφθηκε I φορές ή δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στις κλάσεις (δηλαδή τα κέντρα των κλάσεων παραμένουν αναλλοίωτα) κατά την τελευταία επανάληψη, τότε η διαδικασία τερματίζεται. Διαφορετικά πηγαίνουμε στο βήμα 2.

Από την άλλη πλευρά, δεδομένης της διαθεσιμότητας των δεδομένων αναφοράς, υπάρχουν και οι supervised μέθοδοι που μπορούν να παρέχουν περισσότερο ακριβή αποτελέσματα. Οι κατηγοριοποιητές ελάχιστης απόστασης ακόμα και με ένα μικρό αριθμό δεδομένων εκπαίδευσης μπορούν να υλοποιηθούν για κατηγοριοποίηση εικόνας. Οι κατηγοριοποιητές που υλοποιούν μετρικές απόστασης έχουν αποδειχτεί χρήσιμοι σε εφαρμογές όπου το σύνολο εκπαίδευσης επαρκούς μεγέθους δεν είναι εύκολο να αποκτηθεί ή παρουσιάζονται υψηλών διαστάσεων δεδομένα. Εκτός από την Ευκλείδεια απόσταση υπάρχουν και άλλες δημοφιλείς μέθοδοι για την επεξεργασία υπερφασματικών συνόλων δεδομένων όπως:

- Maximum likelihood (ML)
- Spectral Angle Mapper (SAM)
- Normalized Euclidean Distance (NEUC)
- Spectral Correlation Mapper (SCM)
- Spectral Information Divergence (SID)
- Spectral Gradient Angle (SGA)

### Maximum likelihood (ML)

Η μέθοδος Maximum likelihood αποτελεί έναν γνωστό supervised αλγόριθμο ταξινόμησης, που βασίζεται στην υπόθεση ότι η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας για κάθε τάξη είναι Gaussian. Εφόσον περικλείονται παραπάνω από ένα χαρακτηριστικά, χρησιμοποιείται η γενίκευση της κανονικής κατανομής για πολλές μεταβλητές. Το ισοδύναμο της διακύμανσης (variance) για τις πολλές μεταβλητές είναι ο πίνακας συμμεταβλητότητας (covariance), που απεικονίζει την διακύμανση των τιμών των pixels για κάθε χαρακτηριστικό, μέσα σε μία συγκεκριμένη τάξη, και τους συσχετισμούς μεταξύ των χαρακτηριστικών. Ο ταξινομητής Maximum likelihood δημιουργεί εκτιμήσεις για τον πίνακα συμμεταβλητότητας και για το μέσο της φασματικής απάντησης της κατηγορίας, κατά την διάρκεια της διαδικασίας εκπαίδευσης. Η ακόλουθη διαχωρίζουσα συνάρτηση, για κάθε pixel του υπερφασματικού κύβου, υλοποιείται από την ML ταξινόμηση :

$$g_i(\mathbf{x}) = -\frac{1}{2}(\mathbf{x} - \boldsymbol{\mu}_i)^T \boldsymbol{\Sigma}_i^{-1}(\mathbf{x} - \boldsymbol{\mu}_i) - \frac{1}{2} \ln |\boldsymbol{\Sigma}_i| + \ln P(\omega_i)$$

όπου  $i$  = η τάξη,  $\mathbf{x}$  = τα δεδομένα  $M$  διάστασης (όπου  $M$  είναι ο αριθμός των φασματικών ζωνών),  $P(\omega_i)$  = η πιθανότητα η τάξη  $\omega_i$  να βρίσκεται στον κύβο και θεωρείται η ίδια για

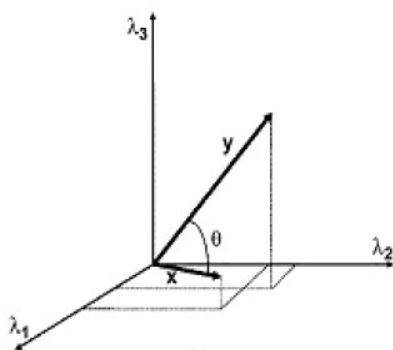
όλες τις τάξεις,  $|\Sigma_i|$  = ορίζουσα του πίνακα συμμεταβλητότητας των δεδομένων στην τάξη  $\omega_i$ ,  $\Sigma_i^{-1}$  = ο αντίστροφος πίνακας,  $\mu_i$  = μέσο διάνυσμα.

### Spectral Angle Mapper (SAM)

Ο αλγόριθμος SAM είναι ένας μη παραμετρικός, supervised κατηγοριοποιητής απόστασης, που θεωρεί κάθε pixel σαν ένα διάνυσμα στον n-διάστατο χώρο, όπου n είναι ο αριθμός των μπαντών στον φασματικό κύβο. Ως διάνυσμα έχει δύο χαρακτηριστικά, μήκος και κατεύθυνση. Το μήκος του διανύσματος αναπαριστά την φωτεινότητα του pixel και η κατεύθυνση τα φασματικά χαρακτηριστικά του. Η φασματική υπογραφή είναι η γωνία μεταξύ της αρχής του n-διάστατου χώρου και του διανύσματος. Η διαδικασία της ταξινόμησης αποτελείται από την σύγκριση των γωνιών ανάμεσα στο pixel-διάνυσμα και ορισμένα διανύσματα αναφοράς, των οποίων ο αριθμός ορίζει και τον αριθμό των τάξεων. Τότε, κάθε pixel ταξινομείται στην τάξη που αναπαριστάται από το διάνυσμα αναφοράς που οδηγεί στην μικρότερη γωνία. Τα διανύσματα αναφοράς επιλέγονται από το σύνολο των δεδομένων εκπαίδευσης (training dataset), είτε από τις φασματικές βιβλιοθήκες (spectral libraries) ή τυχαία από τον φασματικό κύβο.

Ο SAM δεν επηρεάζεται από τον φωτισμό, αφού χρησιμοποιεί μόνο την κατεύθυνση του διανύσματος και όχι το μήκος του.

Έστω  $x, y$  δεδομένα M διάστασης, ο SAM υπολογίζει την γωνία μεταξύ των δύο φασμάτων ως εξής:



$$\langle x, y \rangle = \|x\| \|y\| \cos(\theta) \rightarrow$$

$$\theta(x, y) = SAM(x, y) = \cos^{-1} \left( \frac{\langle x, y \rangle}{\|x\| \|y\|} \right), \quad 0 \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}$$

### Μέτρηση απόστασης

Ο υπολογισμός της ομοιότητας μεταξύ των χαρακτηριστικών είναι δομικό στοιχείο των τεχνικών ταξινόμησης. Μπορούμε να δεχθούμε ότι ένα διάνυσμα χαρακτηριστικών είναι κοντύτερα σε κάποιο άλλο όταν κάποιο μέτρο ομοιότητας έχει την μικρότερη τιμή. Έτσι, η μέτρηση ομοιότητας, δηλαδή η εύρεση της απόστασης μεταξύ των χαρακτηριστικών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να ταξινομήσουμε χαρακτηριστικά σε προκαθορισμένες κλάσεις. Η διαδικασία ταξινόμησης με βάση το κριτήριο της ελάχιστης απόστασης οδηγεί στους ταξινομητές ελάχιστης απόστασης. Είναι συνεπώς αναγκαίο να προκαθορίσουμε το μέτρο ομοιότητας που θα χρησιμοποιήσουμε γιατί διαφορετικά μέτρα μπορεί να οδηγήσουν σε διαφορετικές ταξινομήσεις. Έχουν προταθεί πολλές διαφορετικές συναρτήσεις για τη μέτρηση της απόστασης (ή όπως διαφορετικά λέμε τη μέτρηση της ομοιότητας) μεταξύ διανυσμάτων και κλάσεων.

## Συμμεταβλητότητα (Covariance)

Πριν προχωρήσουμε στην περιγραφή των κυριότερων αποστάσεων που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της ομοιότητας κρίνεται σκόπιμο να μελετηθεί εν συντομία το θέμα της συμμεταβλητότητας (covariance).

Η συμμεταβλητότητα δύο χαρακτηριστικών εκφράζει την τάση τους να μεταβάλλονται μαζί. Ας υποθέσουμε ότι έχουμε  $n$  τιμές (δείγματα) δύο χαρακτηριστικών  $f_k$  και  $f_l$ , δηλαδή  $f_k = [f_{k,1}, f_{k,2}, \dots, f_{k,n}]^T$  και  $f_l = [f_{l,1}, f_{l,2}, \dots, f_{l,n}]^T$ , με μέσες τιμές  $m_k$ ,  $m_l$  και μεταβλητότητες  $s_k^2$  και  $s_l^2$ , αντίστοιχα. Η συμμεταβλητότητα των δύο χαρακτηριστικών ορίζεται ως:

$$c_{k,l} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (f_{k,i} - m_k)(f_{l,i} - m_l)$$

Η συμμεταβλητότητα έχει ορισμένες σημαντικές ιδιότητες:

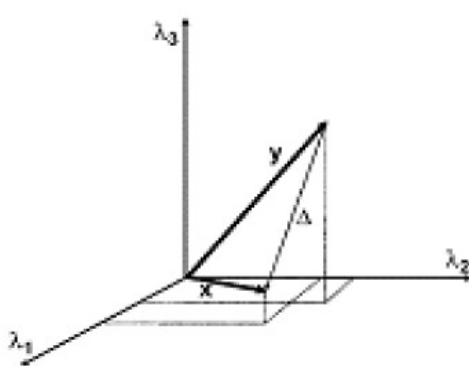
- Αν οι τιμές των χαρακτηριστικών  $f_k$  και  $f_l$  τείνουν να αυξάνουν μαζί, τότε  $c_{k,l} > 0$
- Αν οι τιμές του χαρακτηριστικού  $f_k$  αυξάνουν ενώ του χαρακτηριστικού  $f_l$  μειώνονται, τότε  $c_{k,l} < 0$
- Αν οι τιμές των χαρακτηριστικών  $f_k$  και  $f_l$  είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους τότε  $c_{k,l} = 0$ . Πρέπει να σημειώσουμε ότι αυτό δε συμβαίνει πάντα. Αν ο αριθμός των δειγμάτων είναι μικρός τότε η συμμεταβλητότητα για τα ανεξάρτητα χαρακτηριστικά δεν θα είναι ακριβώς ίση με το μηδέν. Εντούτοις, για ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων, μπορούμε να είμαστε βέβαιοι ότι το μέγεθος της συμμεταβλητότητας θα είναι μικρό έναντι της μέγιστης πιθανής τιμής.
- $|c_{k,l}| \leq s_k s_l$ , και
- $c_{k,k} = s_k^2$

Συνεπώς, η συμμεταβλητότητα  $c_{k,l}$  είναι ένας αριθμός μεταξύ  $-s_k s_l$  και  $+s_k s_l$  ο οποίος καθορίζει την εξάρτηση μεταξύ των χαρακτηριστικών  $f_k$  και  $f_l$ , με  $c_{k,l} = 0$  αν τα χαρακτηριστικά είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους.

Σημειώνεται ότι αν έχουμε χαρακτηριστικά  $M$ , τότε ο πίνακας συμμεταβλητότητας θα έχει διαστάσεις  $M \times M$ .

## Κανονικοποιημένη Ευκλείδεια απόσταση (Normalized Euclidean distance)

Η Ευκλείδεια απόσταση είναι η συνηθισμένη απόσταση μεταξύ δύο φασμάτων, που θα μπορούσε κάποιος να μετρήσει με ένα χάρακα, το οποίο μπορεί να αποδειχτεί με επαναλαμβανόμενη εφαρμογή του Πυθαγόρειου θεωρήματος. Είναι ίσως το απλούστερο μετρήσιμο κριτήριο για την ταξινόμηση χαρακτηριστικών σε κλάσεις, για τις οποίες έχει ήδη καθορισθεί το κέντρο τους. Έστω  $x, y$  δεδομένα  $M$  διάστασης, ο EUC υπολογίζει την απόσταση μεταξύ των δύο φασμάτων ως εξής:


$$\Delta(x, y) = \|x - y\| = \sqrt{\sum_{i=1}^M (x_i - y_i)^2}$$

Ο NEUC υπολογίζει αποτελεσματικά την Ευκλείδεια απόσταση μεταξύ δύο φασμάτων, διαιρώντας με τις μέσες τιμές των δειγμάτων. Αυτό μετατρέπει τον EUC σταθερό στην πολλαπλασιαστική κλίμακα:

$$EUC\left(\frac{x}{\bar{x}}, \frac{y}{\bar{y}}\right) = \left\| \frac{x}{\bar{x}} - \frac{y}{\bar{y}} \right\| = \sqrt{\sum_{i=1}^M \left(\frac{x_i}{\bar{x}} - \frac{y_i}{\bar{y}}\right)^2}$$

Λόγω του ότι το κριτήριο της Ευκλείδειας απόστασης εφαρμόζεται μετά τον προσδιορισμό των κέντρων των κλάσεων με κάποια άλλη τεχνική ταξινόμησης, μπορεί να μη θεωρηθεί ως αμιγής αλγόριθμος ταξινόμησης. Όμως εφαρμόζεται πολύ συχνά για την απλοποίηση της διαδικασίας καθορισμού σε ποια κλάση ανήκει το κάθε φάσμα και ιδιαίτερα όταν έχουμε ένα μεγάλο αριθμό κλάσεων.

Από τον ορισμό της Ευκλείδειας απόστασης, είναι προφανές ότι τα σημεία που ισαπέχουν από ένα κέντρο βρίσκονται στην περιφέρεια μιας υπερσφαίρας. Αυτό σημαίνει ότι όλα τα στοιχεία ενός φάσματος χαρακτηριστικών  $X$  συμβάλουν εξίσου (ανάλογα φυσικά με τις τιμές τους) στη διαμόρφωση της τιμής της Ευκλείδειας απόστασης του φάσματος  $X$  από ένα κέντρο. Όμως, πολλές φορές είναι επιθυμητό να χρησιμοποιήσουμε μια απόσταση που να λαμβάνει υπόψη της τη μεταβλητότητα των χαρακτηριστικών. Χαρακτηριστικά με υψηλή μεταβλητότητα πρέπει να συνεισφέρουν λιγότερο από τα χαρακτηριστικά με χαμηλή μεταβλητότητα.

## Απόσταση Mahalanobis

Η Mahalanobis απόσταση  $r(X,t)$  ενός διανύσματος  $X$  από μια κλάση  $t$ , η οποία περιέχει  $N$  διανύσματα, ικανοποιεί τη σχέση:

$$M_{X,t} = r_M^2(X, t) = (X - m_t)^T C^{-1} (X - m_t)$$

όπου  $C^{-1}$  είναι ο αντίστροφος πίνακας του πίνακα μεταβλητότητας  $C$  της κλάσης  $t$  και  $m_t$  το διάνυσμα των μέσων τιμών της κλάσης  $t$ . Ο πίνακας μεταβλητότητας μπορεί να υπολογιστεί από τη σχέση:

$$C(i, j) = \frac{1}{N-1} \sum_{n=1}^N (X_{i,n} - m_t)(X_{j,n} - m_t)^T$$

όπου  $N$  η διάσταση των διανυσμάτων. Πρέπει να σημειωθεί ότι για  $C=I$  η απόσταση Mahalanobis ισούται με την Ευκλείδεια απόσταση.

## Spectral Correlation Mapper (SCM)

Η συνάρτηση της απόστασης αυτής υπολογίζει αποτελεσματικά μια στατιστική μονάδα μέτρησης της ανεξαρτησίας, γνωστή ως συντελεστής συσχέτισης Pearson. Στην θεωρία πιθανοτήτων και στην στατιστική, η συσχέτιση (που μετριέται συχνά ως συντελεστής συσχέτισης), υποδεικνύει την δύναμη και την κατεύθυνση μίας γραμμικής σχέσης μεταξύ δύο τυχαίων μεταβλητών. Ο SCM αναφέρεται ως μία βελτιωμένη έκδοση του SAM, εφόσον αναγνωρίζει την αρνητική συσχέτιση.

$$SCM(x, y) = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}}$$

όπου  $x, y$  είναι τα δύο  $M$ -διάστατα φάσματα που συγκρίνονται και  $\bar{x}, \bar{y}$  είναι οι μέσες τιμές δειγμάτων αντίστοιχα. Επίσης, μπορεί να οριστεί και μία γωνία συσχέτισης ως εξής :

$$SCA(x, y) = \cos^{-1} \left( \frac{SCM(x, y) + 1}{2} \right)$$

## Spectral Information Divergence (SID)

Πρόκειται για μία μετρική απόσταση που πηγάζει από την ιδέα της απόκλισης στην θεωρία πληροφορίας. Έστω  $x, y$  υπερφασματικά διανύσματα pixel με  $x = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_M]$ ,  $y = [y_1 \ y_2 \ \dots \ y_M]$  που μπορούμε να μοντελοποιηθούν σε τυχαίες μεταβλητές ορίζοντας τις κατάλληλες κατανομές πιθανότητας. Έτσι τα επιθυμητά διανύσματα πιθανοτήτων που προκύπτουν από τα pixel - διανύσματα  $x, y$  αντίστοιχα είναι τα εξής:

$$p_j = \frac{x_j}{\sum_{i=1}^M x_i}, \quad q_j = \frac{y_j}{\sum_{i=1}^M y_i}, \quad \text{όπου } \mathbf{p} = \{p_m\}_{m=1}^M, \quad \mathbf{q} = \{q_m\}_{m=1}^M$$

Ο SID χρησιμοποιώντας τα  $p, q$ , ορίζεται ως:

$$SID(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = D(\mathbf{x} \parallel \mathbf{y}) + D(\mathbf{y} \parallel \mathbf{x}), \text{ όπου}$$

$$D(\mathbf{x} \parallel \mathbf{y}) = \sum_{i=1}^M p_i \log \left( \frac{p_i}{q_i} \right) \text{ και } D(\mathbf{y} \parallel \mathbf{x}) = \sum_{i=1}^M q_i \log \left( \frac{q_i}{p_i} \right).$$

Στην παραπάνω σχέση ο όρος  $D(\mathbf{x} \parallel \mathbf{y})$  ονομάζεται σχετική εντροπία του  $\mathbf{y}$  σε σχέση με το  $\mathbf{x}$ , γνωστός και ως συνάρτηση πληροφορίας Kullack–Leihler. Ο SID μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση της φασματικής ομοιότητας μεταξύ του διανύσματος που αντιστοιχεί στο pixel  $\mathbf{x}$  και στο διάνυσμα του pixel αναφοράς  $\mathbf{y}$ . Αυτό που κάνει ουσιαστικά ο SID είναι να βλέπει κάθε φάσμα του pixel σαν τυχαία μεταβλητή και χρησιμοποιώντας το φασματικό του ιστόγραμμα να μετράει την ασυμφωνία ή διαφορά των συμπεριφορών πιθανότητας, ανάμεσα στα φάσματά τους.

### Spectral Gradient Angle (SGA)

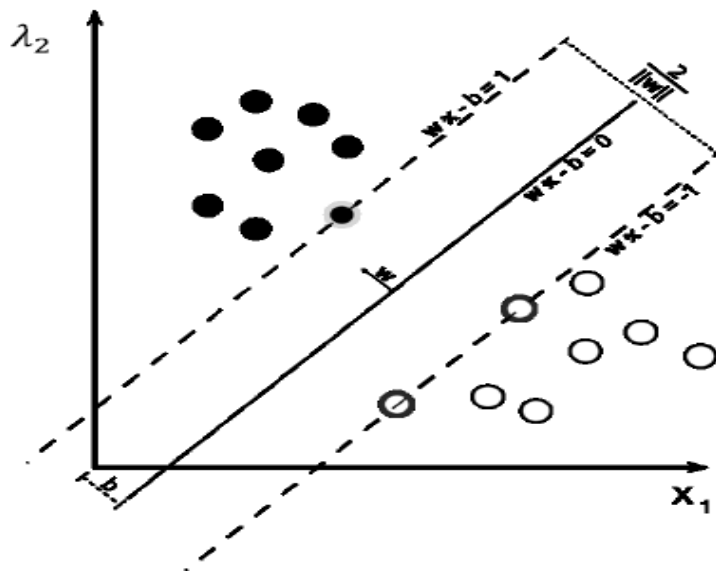
Η φασματική κλίση (spectral gradient) περιγράφει επιφάνειες ανάκλασης και το χαρακτηριστικό γνώρισμα της είναι ότι παρουσιάζει σταθερότητα στην γεωμετρία της εικόνας για επίπεδες και διάχυτες επιφάνειες. Ο SGA είναι επίσης σταθερός στις συνθήκες φωτισμού προσδιορίζοντας έτσι υλικά με ίδιες ανακλάσεις αλλά κάτω από ποικίλες συνθήκες παρατήρησης. Ορίζεται ως εξής:

$$SGA(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \cos^{-1} \left( \frac{\left( \frac{\partial \ln[I(\mathbf{x}, \lambda)]}{\partial \lambda}, \frac{\partial \ln[I(\mathbf{y}, \lambda)]}{\partial \lambda} \right)}{\left\| \frac{\partial \ln[I(\mathbf{x}, \lambda)]}{\partial \lambda} \right\| \left\| \frac{\partial \ln[I(\mathbf{y}, \lambda)]}{\partial \lambda} \right\|} \right), \quad 0 \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}$$

Με  $\frac{\partial \ln[I(\mathbf{x}, \lambda)]}{\partial \lambda}, \frac{\partial \ln[I(\mathbf{y}, \lambda)]}{\partial \lambda}$  τα μερικά παράγωγα των  $\mathbf{x}, \mathbf{y}$  M-διάστατων εντάσεων σε σχέση με το  $\lambda$ .

## SVM (support vector machine)

Περισσότερο εξελιγμένες μέθοδοι για ταξινόμηση υπερφασματικών δεδομένων περιλαμβάνουν νευρωνικά δίκτυα, kernel μεθόδους ειδικές SVM (support vector machines), δέντρα απόφασης κ.α. Ειδικά, οι μη παραμετρικές μέθοδοι όπως οι SVM επιτυγχάνουν καλή γενίκευση με ένα μικρό αριθμό δειγμάτων εκπαίδευσης και καθόλου γκαουσιανές υποθέσεις για το σύνολο δεδομένων. Οι SVMs στόχο έχουν τη δημιουργία ενός προτύπου ταξινομητή με μέγιστο περιθώριο διαχωρισμού κλάσεων ώστε να μεγιστοποιείται η ικανότητα γενίκευσης. Το περιθώριο διαχωρισμού ορίζεται ως η απόσταση ανάμεσα στο όριο κατηγοριοποίησης και το κοντινότερο σημείο δεδομένων κάθε κλάσης. Μεγάλο όριο διαχωρισμού ελαχιστοποιεί το δομικό κίνδυνο μιας λάθος κατηγοριοποίησης και βελτιώνει την ακρίβεια κατηγοριοποίησης άγνωστων δεδομένων. Έστω το πρόβλημα διαχωρισμού διανυσμάτων δεδομένων που ανήκουν σε δύο ξεχωριστές κλάσεις. Έστω  $x_j$  μια στήλη διανύσματος από pixel και  $y_j = \{-1, 1\}$  υποδηλώνει μια δυαδική κλάση για το  $x_j$ . Το σύνολο δεδομένων εκπαίδευσης είναι γραμμικά διαχωρίσιμο από το διαχωριστικό υπερεπίπεδο (seperating hyperplane)  $w^t x + b = 0$ , αν υπάρχει ένα διάνυσμα  $w$  και μια κλίμακα (scalar)  $b$  τέτοια ώστε:



$$\begin{cases} w^t x_j + b \geq 1, & \text{if } y_j = +1 \\ w^t x_j + b < -1, & \text{if } y_j = -1 \end{cases} \rightarrow y_j(w^t x_j + b) - 1 \geq 0$$

Εικόνα 90: Κατ' ανώτατο όριο, το περιθώριο hyperplane και τα περιθώρια για μια SVM που έχει εκπαιδευτεί με δείγματα από δύο κλάσεις. Τα pixels στο περιθώριο καλούνται διανύσματα υποστήριξης (support vectors).

Μετά το περιθώριο διαχωρισμού ανάμεσα στις δύο κλάσεις γίνεται  $2/||w||$ . Για να μεγιστοποιηθεί το περιθώριο, η νόρμα  $||w||$  χρειάζεται να ελαχιστοποιηθεί με δεδομένο τον περιορισμό:

$$y_j(w^t x_j + b) - 1 \geq 0$$

Μια συνάρτηση Lagrange χρησιμοποιείται για να αντιπροσωπεύσει το πρόβλημα περιορισμένης βελτιστοποίησης:

$$L(\mathbf{w}, b, a) = \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 - \sum_{j=1}^l a_j [y_j (\mathbf{w}^t \mathbf{x}_j + b) - 1],$$

όπου  $a_j$  είναι οι πολλαπλασιαστές Lagrange.

Μετά την επίλυση του προβλήματος βελτιστοποίησης με του πολλαπλασιαστές Lagrange η συνάρτηση διαχωρισμού που κατηγοριοποιεί ένα pixel  $x$  μπορεί να αναπαρασταθεί από ένα μικρό υποσύνολο από support διανύσματα  $x_j$ :

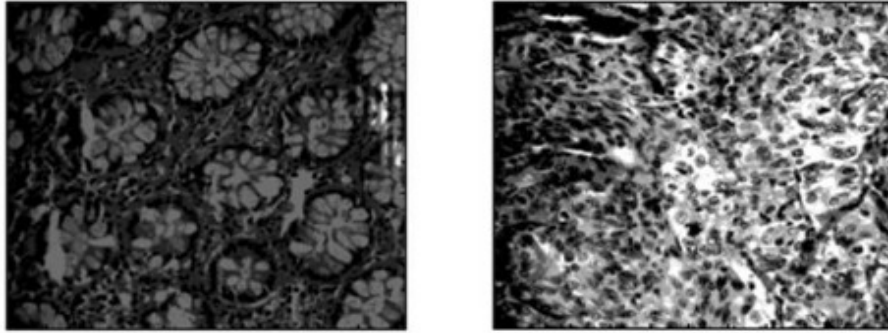
$$D(\mathbf{x}) = \text{sgn}\left(\sum_j y_j a_j \langle \mathbf{x} \mathbf{x}_j \rangle + b\right)$$

Η ισότητα υποδηλώνει ότι η απόφαση εξαρτάται από το εσωτερικό γινόμενο ανάμεσα στα pixels. Για μη γραμμικά διαχωρίσιμες περιπτώσεις, μια συνάρτηση  $\Phi$  μη γραμμικού μετασχηματισμού χρησιμοποιείται για να χαρτογραφήσει τα διανύσματα εισόδου σε υψηλότερο διαστάσεων χώρο χαρακτηριστικών, το οποίο είναι περισσότερο γραμμικά διαχωρίσιμο. Μη γραμμική απόφαση ορίων στο χώρο εισόδου θα χαρτογραφηθεί σε γραμμικής απόφασης όρια στο χώρο χαρακτηριστικών. Η συνάρτηση ταξινόμησης μπορεί να αναπαρασταθεί από τη συνάρτηση kernel  $K(x_i, x_j) = \Phi(x_i) \Phi(x_j)$  στο μετασχηματισμένο φασματικό χώρο χαρακτηριστικών. Η συνάρτηση μη γραμμικού μετασχηματισμού πρέπει να οριστεί. Χρησιμοποιώντας τον kernel, μια συνάρτηση διαχωρισμού για μη γραμμικά διαχωρίσιμο πρόβλημα μπορεί να οριστεί ως:

$$D(\mathbf{x}) = \text{sgn}\left(\sum_j y_j a_j K(x_i, x_j) + b\right)$$

Ένα πρακτικό πρόβλημα για την εκπαίδευση μιας SVM είναι η επιλογή του kernel (πολυωνυμικός, γκαουσιανός, κ.α). Αν διαλέξουμε τη γκαουσιανή συνάρτηση  $K(x, x_j)$  ως υποψήφιο kernel πρέπει να βελτιστοποιήσουμε τις παραμέτρους  $C, \gamma$ . Μερικές εκδοχές του SVM αλγορίθμου υπάρχει ειδικά προσαρμοσμένες για φασματικά χαρακτηριστικά των υπερφασματικών δεδομένων. Για παράδειγμα, ανίχνευση ανωμαλιών υπερφασματικής απεικόνισης που χρησιμοποιούν support vectors ή kernels επάγονται από φασματικές μετρικές γωνίας (spectral angle metrics). Οι SVM χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό του καλοήθου και του κακοήθου καρκίνου σε ανθρώπινο ιστό.

Δεδομένα εικόνων από μικροσκόπιο συγκεντρώνονται από περιοχές με χρωματισμένο ιστό και περιέχουν αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Οι διαστάσεις του κάθε κύβου δεδομένων ήταν  $1024 \times 1024 \times 20$ , σε μήκος κύματος 450-640nm. Το πρώτο βήμα ήταν το φιλτράρισμα και η μείωση των διαστάσεων στις πρώτες 4 ICA συνιστώσες. Μετά εξάγονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως στατιστικά χαρακτηριστικά, με τμηματοποίηση k-means για δύο κλάσεις. Στο πρώτο πείραμα εφαρμόζεται μια 4-fold cross validation και η μέθοδος SVM πετυχαίνει 87% ακρίβεια ταξινόμησης σε άγνωστα σύνολα δεδομένων. Στο δεύτερο πείραμα, ένα σύνολο παραμέτρων επιλέγεται μέσω μιας βασισμένης σε πλέγμα (grid-based) μεθόδου για τρεις kernel συναρτήσεις (γραμμικούς, πολυωνυμικούς και gaussian kernel) πετυχαίνοντας 99.72% ακρίβεια ταξινόμησης.



Εικόνα 91: Χάρτες ταξινόμησης από δύο εικόνες του παχέος εντέρου που παρουσιάζουν τις περιοχές κυττάρων ταξινομημένες ως φυσιολογικές (γκρι τιμές) και κακοήθεις (λευκές τιμές)

Εκτός από τους pixel προς pixel αλγορίθμους, άλλες προσεγγίσεις μέσω της υφής της εικόνας πλεονεκτούν σε περιπτώσεις που έχουμε χωρικές πληροφορίες για τα pixel. Παρόμοια, το spectral unmixing είναι η διαδικασία στην οποία το μετρούμενο φάσμα γραμμικών ή μη γραμμικών mixed pixels αποσυντίθεται σε μια συλλογή πληθυσμών ανάλογων με τα τελικά μέλη που είναι παρόντα στο pixel αυτό. Ως τελικά μέλη (endmembers) θεωρούνται τα γνήσια pixels δηλαδή αυτά που ανήκουν μόνο σε μια κλάση. Συνήθως αυτοί οι αλγόριθμοι έχουν τρία στάδια όμοια με αυτά της κατηγοριοποίησης:

1. μείωση των διαστάσεων του συνόλου δεδομένων (π.χ με PCA)
2. ένα στάδιο ορισμού των endmembers
3. ένα αντίστροφο στάδιο όπου οι πληθυσμοί υπολογίζονται παράγοντας θεματικούς χάρτες που απεικονίζουν τα ποσοστά κάθε endmember σε κάθε pixel συνήθως με διαφορετικούς τόνους χρώματος.

Στη βιβλιογραφία, παρουσιάζονται διαφορετικές προσεγγίσεις για επίλυση του προβλήματος unmixing αλλά τα περισσότερα βασίζονται στο μοντέλο Linear Mixing (Linear Mixing Model) που ορίζεται ως:

$$\mathbf{b} = \sum_{i=1}^n x_i \mathbf{a}_i + \mathbf{w} = \mathbf{A}\mathbf{x} + \mathbf{w}$$

όπου

$$\mathbf{A} \in \mathbb{R}_+^{m \times n}$$

είναι ο πίνακας του endmember,  $\mathbf{a}_i$  είναι η φασματική υπογραφή του  $i$ -οστού endmember,

$$\mathbf{x} \in \mathbb{R}_+^n$$

είναι το διάνυσμα των πληθυσμών,

$$\mathbf{b} \in \mathbb{R}^m$$

είναι το μετρούμενο φασματικό pixel,  $\mathbf{w}$  είναι το διάνυσμα θορύβου και  $n$  είναι ο αριθμός του endmember.

Σημειώνουμε ότι οι εισαγωγές των μεταβλητών είναι αναγκαστικά θετικές ώστε να έχουν και κάποια φυσική σημασία. Επιπρόσθετα στο διάνυσμα πληθυσμού πρέπει να ισχύει το εξής:

$$\mathbf{x} \geq \mathbf{0}$$

και

$$\sum_n x_i \leq 1$$

ή

$$\sum_n x_i = 1$$

ώστε η εκτίμηση του πληθυσμού να έχει επίσης ένα φυσικό αποτέλεσμα. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι περισσότεροι από του υλοποιημένους αλγορίθμους για το πρόβλημα unmixing δεν εκτιμούν το endmember και τον πληθυσμό ταυτόχρονα. Το πρόβλημα εκτίμησης του πληθυσμού (abundance estimation problem-AEP) μπορεί να ιδωθεί ως ένα πρόβλημα ελαχιστοποίησης της απόστασης (Distance Minimization Problem-DMP) που ορίζεται ως:

$$\hat{\mathbf{x}} = \operatorname{argmin}_x D(\mathbf{b}, \mathbf{A}\mathbf{x})$$

$$\text{subject to } \mathbf{x} \geq \mathbf{0} \text{ and } \sum_{i=1}^n x_i = 1$$

όπου  $D(\mathbf{b}, \mathbf{A}\mathbf{x})$  είναι η συνάρτηση απόσταση,  $\mathbf{A}$  είναι ο πίνακας endmember,  $\mathbf{b}$  είναι το εξεταζόμενο pixel και  $\mathbf{x}$  είναι το διάνυσμα πληθυσμού. Διαφορετική συνάρτηση απόστασης οδηγεί σε λύσεις με διαφορετικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, η μέθοδος Non Negative Least Square (Non Negative Least Square-NNLS) που εφαρμόστηκε πρώτη φορά από τους Lawson και Hanson και χρησιμοποιήθηκε για να βρίσκει μη αρνητικές λύσεις για ένα γραμμικό σύστημα. Ο NNLS αλγόριθμος βασίζεται στην στρατηγική Active Sets (Active Sets Strategy) που αν βρει μια αρνητική λύση  $x_i$  τη θέτει ίση με 0, αφαιρεί τη στήλη  $i$  από το σύνολο των εξισώσεων και επαναξιολογεί τις λύσεις, αν όλες οι λύσεις είναι θετικές τότε σταματάει αν όχι επαναλαμβάνει τη διαδικασία εξίσωσης των  $x_i$  με 0 και αφαίρεσης της στήλης  $i$ . Ο NNLS είναι ένας επαναληπτικός αλγόριθμος που ικανοποιεί μόνο το θετικό περιορισμό.

Η κλάση αντίστροφων αλγορίθμων βασίζεται στην ελαχιστοποίηση του τετραγωνικού σφάλματος και ξεκινά από από την απλούστερη μορφή της αντιστροφής των ελαχίστων τετραγώνων (least squares inversion) και αυξάνει σε πολυπλοκότητα όσο περαιτέρω υποθέσεις και παραμετρικές δομές επιβάλλονται στο πρόβλημα. Διακυμάνσεις της έννοιας του ελαχίστου τετραγώνου έχουν υιοθετηθεί για να ανακλούν τις μοναδικές περιστάσεις που σχετίζονται με τα υπερφασματικά δεδομένα σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Για παράδειγμα το φασματικό unmixing εφαρμόζεται σε ζωικό δέρμα για απεικόνιση φθοριζόντων δεικτών in vivo. Το δέρμα, έχει ισχυρό σήμα αυτοφθορισμού, συγκεκριμένα όταν εκτίθεται σε μπλε ή πράσινα μήκη κύματος.

Οι δείκτες φθορισμού με εκπομπή σε μήκη κύματος κοντά στο υπέρυθρο είναι περισσότερο υπόλογοι στην απεικόνιση ιστών, επειδή τόσο η σκέδαση όσο και ο αυτοφθορισμός μειώνονται όσο αυξάνονται τα μήκη κύματος, αλλά ακόμα και σε αυτές τις φασματικές περιοχές, ο αυτοφθορισμός μπορεί ακόμα να περιορίσει την ευαισθησία.

Η πολυφασματική απεικόνιση με όργανα LCTF μαζί με φασματικούς αλγορίθμους unmixing αφαίρεσε το σήμα υποβάθμισης που προκαλείται από τον αυτοφθορισμό ενώ πρόσθεσε δυνατότητες πολυπλεξίας.

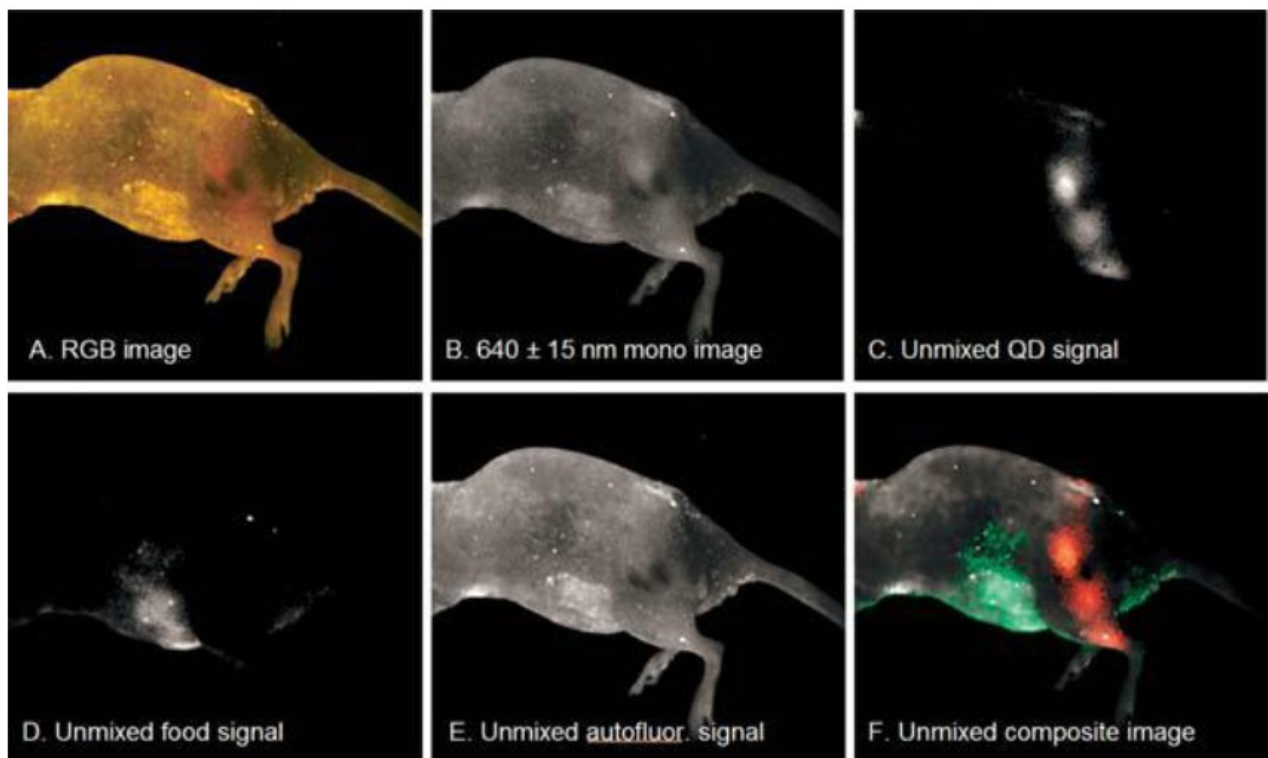
Η παρακάτω εικόνα δείχνει τη φασματική ανάλυση κβαντικών αντισωμάτων στοχοθετημένα με C4-2 καρκίνο προστάτη ξενομοσχευμάτων σε ένα γυμνό ποντίκι.

(A): RGB εικόνα φθορισμού, όπου το κβαντικό σήμα είναι άοριστα ορατό ως κοκκινωπός χρωματισμός. Μη ορατός στην εικόνα είναι ο πολύ κόκκινος φθορισμός που απορρέει από χλωροφύλλη-περιέχει τροφή, μια συνήθης παρέμβαση σε απεικονίσεις μικρών ζώων.

(B): Μονόχρωμη εικόνα φθορισμού στα 640nm (η μέγιστη εκπομπή).

(C), (D), (E): Φασματικό unmixed σήμα, σήμα τροφής και σήμα αυτοφθορισμού του δέρματος.

(F): Σύνθετη εικόνα ψευδοχρώματος του (C) κόκκινο, (D) πράσινο και (E) άσπρο.



Εικόνα 92: (A): RGB εικόνα φθορισμού, όπου το κβαντικό σήμα είναι άοριστα ορατό ως κοκκινωπός χρωματισμός. Μη ορατός στην εικόνα είναι ο πολύ κόκκινος φθορισμός που απορρέει από χλωροφύλλη-περιέχει τροφή, μια συνήθης παρέμβαση σε απεικονίσεις μικρών ζώων.

(B): Μονόχρωμη εικόνα φθορισμού στα 640nm (η μέγιστη εκπομπή).

(C), (D), (E): Φασματικό unmixed σήμα, σήμα τροφής και σήμα αυτοφθορισμού του δέρματος.

(F): Σύνθετη εικόνα ψευδοχρώματος του (C) κόκκινο, (D) πράσινο και (E) άσπρο.

## Ακρίβεια αξιολόγησης

Τα αποτελέσματα της κάθε διαδικασίας ταξινόμησης που εφαρμόζεται σε υπερφασματικά δεδομένα πρέπει να αξιολογούνται ποσοτικά, προκειμένου να καθοριστεί η ακρίβειά τους. Ο σκοπός της ποσοτικής αυτής αξιολόγησης είναι η αναγνώριση και η μέτρηση των σφαλμάτων στο χρωματικό χάρτη που προκύπτει από την ταξινόμηση. Η εκτίμηση αυτή περιλαμβάνει σύγκριση μιας περιοχής του χάρτη με την πληροφορία αναφοράς στην ίδια περιοχή, θεωρώντας τα δεδομένα αναφοράς σωστά. Υπάρχουν πολλοί τρόποι για να προσδιοριστεί ο βαθμός σφάλματος στο τελικό προϊόν, το οποίο είναι συνήθως ένας θεματικός χάρτης ή μια εικόνα, με τη μέτρηση της συνολικής ακρίβειας ταξινόμησης, καθώς και τον υπολογισμό των Kappa στατιστικών για έναν αριθμό δεδομένων για δοκιμή.

Η ακρίβεια της ταξινόμησης κατά βάση μετράται από τη συνολική ακρίβεια δημιουργώντας ένα confusion matrix και καθορίζοντας τα επίπεδα ακρίβειας με τη διαίρεση του συνολικού αριθμού των ορθώς ταξινομημένων pixels με το συνολικό αριθμό των pixels αναφοράς. Ωστόσο, η συνολική ακρίβεια δε δίνει καμιά εικόνα για το πόσο καλά ο ταξινομητής λειτουργεί για καθεμία από τις διάφορες κλάσεις. Για αυτό η αξιολόγηση της ακρίβειας ενός ταξινομητή, είναι σημαντικό να εξεταστεί ως προς την ακρίβεια του σε κάθε επιμέρους κατηγορία. Μεμονωμένη ακρίβεια για κάθε κλάση μπορεί να προκύπτει από τη διαίρεση του συνολικού αριθμού των ορθώς ταξινομημένων pixels σε αυτή την κατηγορία με το συνολικό αριθμό των pixels της εν λόγω κλάσης.

## Μονόχρωμες εικόνες

Ο όρος μονόχρωμη εικόνα (monochrome image) ή πιο απλά εικόνα (image), αναφέρεται σε μία 2-διάσταση συνάρτηση έντασης φωτεινότητας  $f(x,y)$ , όπου τα  $x$  και  $y$  υποδηλώνουν χωρικές συντεταγμένες (spatial coordinates) και η τιμή της  $f$  σε κάθε σημείο  $(x,y)$  αναφέρεται στην φωτεινότητα (brightness) ή στο gray – level της εικόνας σε εκείνο το σημείο. Μία ψηφιακή εικόνα (digital image) είναι μία εικόνα  $f(x,y)$ , η οποία έχει υποστεί διακριτοποίηση (discretized) και στις δύο συντεταγμένες τις (spatial coordinates) και στην φωτεινότητά της (brightness). Μπορούμε να θεωρήσουμε μία ψηφιακή εικόνα ως ένα πίνακα, του οποίου οι στήλες και οι γραμμές δείχνουν ένα σημείο στην εικόνα, και η τιμή του στοιχείου αυτού του πίνακα, δείχνει την φωτεινότητα ή την τιμή του επιπέδου του γκρι (gray - level) σε εκείνο το σημείο. Τα στοιχεία ενός τέτοιου πίνακα ονομάζονται στοιχεία εικόνας (picture elements) ή απλώς pixels. Έχει πρακτική σημασία το διάστημα στο οποίο μπορεί να αλλάζει η τιμή της  $f$ . Τα διαστήματα αυτά λέγονται samples.

Αν και το μέγεθος ενός τέτοιου πίνακα ποικίλει, υπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα στην επεξεργασία του, αν χρησιμοποιούμε τετραγωνικούς πίνακες με συνολικές τιμές φωτεινότητας ακέραιες δυνάμεις του 2. Για π.χ. ένα τυπικό μέγεθος πίνακα το οποίο συγκρίνεται σε ποιότητα με μία μονόχρωμη εικόνα τηλεόρασης είναι  $512 \times 512$  pixels με 128 gray levels.

Η έννοια του sampling περιλαμβάνει δύο παράγοντες: το διάστημα δειγματοληψίας (sampling interval), το οποίο καθορίζει αν αναπαριστάται όλη η πληροφορία της εικόνας, στην ψηφιακή της μορφή που θα πάρουμε, και τις τιμές της έντασης (gray level value) του κάθε pixel.

Η έννοια της δειγματοληψίας (sampling) περιλαμβάνει δύο παράγοντες: το διάστημα δειγματοληψίας (sampling interval), το οποίο καθορίζει αν αναπαριστάται όλη η πληροφορία της εικόνας, στην ψηφιακή της μορφή που θα πάρουμε, και τις τιμές της έντασης (gray level value) του κάθε pixel.

Συνηθισμένα formats εικόνων:

- 8-bit gray scale, (256 χρώματα gray)
- 8-bit colour, (256 χρώματα colour)
- 24-bit colour images. (16 εκ. χρώματα colour)

Τα pixels αναπαρίστανται ως 8-bit unsigned integers είτε σε μονοχρωματική κλίμακα (single value) είτε σε έγχρωμες παλέτες (BGR triple values), με τιμή φωτεινότητας κυμαινόμενη από 0 ως 255. Σε κλίμακα γκρι (gray scale) ένα pixel παίρνει τιμές από 0 (απεικονίζεται μαύρο) ως 255 (απεικονίζεται άσπρο) [1].

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι να μετατρέψει κανείς μια εικόνα σε μονόχρωμη. Ένας τρόπος είναι να θεωρήσεις ότι η απόχρωση του γκρι που αντιστοιχεί σε μια RGB τιμή είναι ο μέσος όρος των τιμών του R του G και του B. Αυτή η εκτίμηση δεν δίνει καλό αποτέλεσμα όμως. Ο λόγος είναι ότι το ανθρώπινο μάτι δεν έχει την ίδια ευαισθησία και στα τρία χρώματα. Η μετατροπή που θεωρείται σήμερα αρκετά ικανοποιητική είναι η εξής:  $Y = (222 * R + 707 * G + 71 * B) / 1000$  (ITU standard) όπου το Y είναι η τιμή της απόχρωσης του γκρι.

## Colour perception (Χρωματική αντίληψη)

Η χρωματική αντίληψη μεταβάλλεται ανάλογα με το χρώμα του φωτός που περιβάλλει ένα αντικείμενο, για παράδειγμα ένα κόκκινο αντικείμενο φαίνεται ως μαύρο σε μπλε φωτισμό. Δεν είναι όμως παρόλα αυτά δυνατόν να πετύχουμε βαθμονόμηση που θα κάνει ένα υλικό να δείχνει σωστό και αμετάβλητο σε όλες τις οπτικές συνθήκες. Ο τρόπος παρουσίασης του αντικειμένου στον υπολογιστή και ο στόχος βαθμονόμησης πρέπει να συνυπολογιστούν για ρυθμισμένες και προκαθορισμένες συνθήκες φωτισμού.

## Ποιος είναι ο σωστός τρόπος για να περιγράψουμε ένα χρώμα

Το χρώμα είναι μια αντίδραση του μυαλού σε ένα συγκεκριμένο οπτικό ερέθισμα. Παρόλο που μπορούμε ακριβώς να περιγράψουμε το χρώμα μετρώντας τη διανυσματική κατανομή του (η ένταση της ορατής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε πολλά διακριτά μήκη κύματος), οδηγεί σε μεγάλο βαθμό περιπλοκότητας. Ο λόγος αυτού του πλεονασμού είναι ότι η ίριδα του ματιού δειγματοληπτεί το χρώμα χρησιμοποιώντας μόνο τρεις ευρείς μπάντες, αντιδρώντας έτσι μόνο στο κόκκινο, πράσινο και μπλε φως (RGB). Τα σήματα από αυτά τα ευαίσθητα χρωμοκύτταρα μαζί με αυτά που είναι ευαίσθητα στην ένταση του χρώματος μόνο, συνδυάζονται στον ανθρώπινο εγκέφαλο για να δώσουν πολλές διαφορετικές αισθήσεις ενός χρώματος. Αυτές οι “αισθήσεις” έχουν εξεταστεί από το CIE (σύστημα που αποτελεί τη βάση όλης της χρωματομετρίας).

Αυτές οι “αισθήσεις” του ανθρώπινου εγκεφάλου ως προς το χρώμα είναι οι εξής:

Απόχρωση (Hue): η ανθρώπινη αίσθηση σύμφωνα με την οποία ένα αντικείμενο μοιάζει με ένα ή με αναλογία από δύο από τα αντιλαμβανόμενα χρώματα κόκκινο, κίτρινο, πράσινο και μπλε.

Πολυχρωμία (Colourfulness): η ανθρώπινη αίσθηση σύμφωνα με την οποία ένα αντικείμενο φαίνεται να επιδεικνύει περισσότερο ή λιγότερο την απόχρωση του.

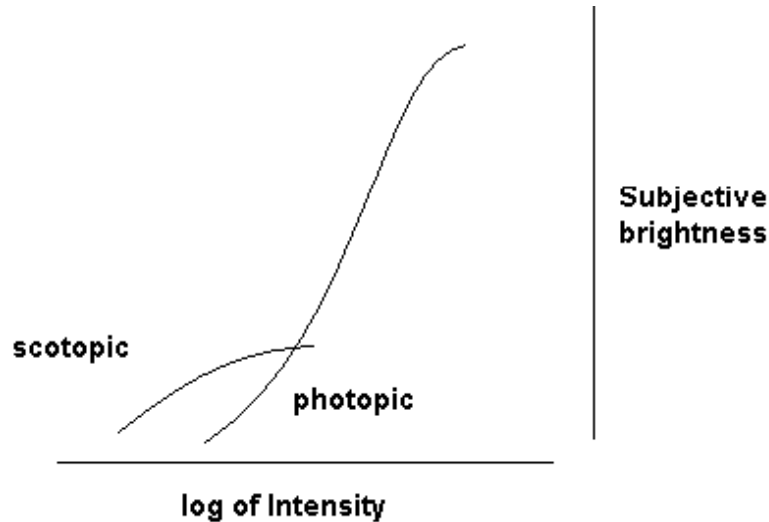
Φωτεινότητα (Lightness): η ανθρώπινη αίσθηση της λαμπρότητας ενός αντικειμένου σε σχέση με ένα προσκίνητο άσπρου χρώματος.

Χρώμα (Colour): η πολυχρωμία ενός αντικειμένου σε σχέση με τη λαμπρότητα του άσπρου.

Κορεσμός (Saturation): η πολυχρωμία ενός αντικειμένου σε σχέση με τη φωτεινότητά του.

Λαμπρότητα (Brightness): η ανθρώπινη αίσθηση ως προς το πόσο φωτεινό ή όχι είναι ένα αντικείμενο. Το μέγεθος brightness είναι ένα από τα βασικά μεγέθη που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν την ποιότητα του χρωματικού φωτός. Είναι ένας υποκειμενικός δείκτης αντίληψης της εικόνας και εκφράζει την αντίληψη που εξάγεται από τη φωτεινότητα ενός αντικειμένου. Εμπεριέχει την έννοια της α-χρωματικής έντασης του φωτός και είναι ένα από τα σημεία-κλειδιά για περιγραφή της αντίληψης του χρώματος. Στις ψηφιακές μονοχρωματικές εικόνες (digital gray-level pictures) το brightness αναφέρεται στην α-χρωματική ένταση του φωτός και παίρνει διακριτές τιμές (0-255) [1,2].

Επειδή κάθε ψηφιακή εικόνα αναφέρεται ως ένα σετ διαφορετικών τιμών brightness είναι σημαντική η ανάλυση της ικανότητας της ανθρώπινης όρασης να διαχωρίσει τις εναλλαγές του brightness. Πειραματικές μετρήσεις έχουν αποδείξει ότι το υποκειμενικό brightness που αντιλαμβάνεται η ανθρώπινη όραση είναι λογαριθμική συνάρτηση της έντασης του φωτός που προσπίπτει στο ανθρώπινο μάτι. Το παρακάτω γράφημα αναπαριστά τη σχέση αυτή [1,2]:



Εικόνα 93: Γράφημα αναπαράστασης υποκειμενικού brightness συναρτήσει έντασης φωτός

Το ανθρώπινο μάτι αντιλαμβάνεται τις διαφορές στις εικόνες μόνο όταν τα αντικείμενα της εικόνας διαφέρουν (διαχωρίζονται) από το περιβάλλον (background) τους. Αν πρόκειται να αναλυθεί μια εικόνα και να βγουν συμπεράσματα από αυτήν, ο σχεδιαστής πρέπει να έχει υπόψιν του τις αρχές που διέπουν την αντίληψη της ανθρώπινης όρασης και η εξαγόμενη πληροφορία να εκφραστεί χρησιμοποιώντας μεταβλητές οι οποίες μπορούν να διακριθούν εύκολα.

Αυτές οι μεταβλητές είναι ψυχο-φυσικοί παράμετροι (psycho-physical parameters) όπως το contrast (αντίθεση), object border (όρια αντικειμένου), shape (σχήμα), texture (υφή) στις οποίες η ανθρώπινη αντίληψη είναι πολύ ευαίσθητη. Οι αναφερόμενες παράμετροι οδηγούν την ανθρώπινη αντίληψη όχι μόνο σε άντληση πληροφοριών αλλά και σε οφθαλμαπάτες [2].

Αντίθεση (contrast): η τοπική αλλαγή του brightness μιας εικόνας και ορίζεται ως η αναλογία (λόγος) της αλλαγής του brightness ενός αντικειμένου της εικόνας σε σχέση με το brightness του περιβάλλοντός (background) του. Στις υψηλές τιμές brightness απαιτείται μεγαλύτερο contrast για να γίνει αντιληπτό από την ανθρώπινη όραση. Το φαινομενικό brightness μιας περιοχής της εικόνας εξαρτάται από το brightness του γενικού background, γεγονός που προκαλεί συχνά οφθαλμαπάτες. Παράδειγμα σε αυτό αποτελεί η αντίληψη στις εικόνες παρακάτω, γνωστό και ως conditional contrast:

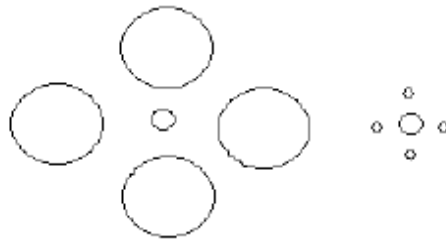


Εικόνα 94: Conditional Contrast

Από την παραπάνω εικόνα παρατηρούμε ότι τα μικρά τετραγωνάκια έχουν το ίδιο brightness αλλά διαφορετικό background: ένα μαύρο και ένα γκρι. Έτσι το ανθρώπινο μάτι αντιλαμβάνεται το brightness των μικρών τετραγώνων ως διαφορετικό, κάτι το οποίο δεν ισχύει [1,2]. Έτσι το ανθρώπινο μάτι οδηγείται σε οφθαλμαπάτες.

Οξύτητα (Acuity): η δυνατότητα ανίχνευσης λεπτομέρειας στην εικόνα και μειώνεται με την αύξηση της απόστασης από το οπτικό αντικείμενο [1,2].

Όρια αντικειμένου (Object border): η οριοθέτηση των αντικειμένων παρέχει πολλές πληροφορίες προσαρμογής του ανθρώπινου ματιού. Σαν παράδειγμα-ανάλυση μπορεί να θεωρηθεί το Ebbinghaus illusion όπου οι δύο κύκλοι με ίδια διάμετρο αλλά περιτριγυρισμένοι από κύκλους διαφορετικών διαμέτρων, μοιάζουν να έχουν διαφορετική διάμετρο [2].



Εικόνα 95: Ebbinghaus illusion

Τα μεγέθη αυτά σχετίζονται με την αντίληψη του AW στις subtracted εικόνες. Το AW θεωρείται ως ένα αντικείμενο της εικόνας με ένταση  $I+\Delta I$  το οποίο γίνεται αντιληπτό μέσω του contrast της εικόνας. Όσο μεγαλύτερης έντασης AW έχουν υποστεί τα κύτταρα τόσο πιο έντονο το contrast. Το background και η οριοθέτηση του AW μπορεί να οδηγήσει το μάτι του ιατρού σε οφθαλμαπάτες. Η ποσοτικοποίηση οπτικών χαρακτηριστικών λύνουν το πρόβλημα της υποκειμενικής οπτικής αντίληψης.

### Image Analysis (Επεξεργασία Εικόνας) [19] [23]

Η ανάλυση εικόνας αφορά τον υπολογισμό ποσοτικών μετρήσεων (quantitative measurements) από την συγκεκριμένη εικόνα ώστε να παραχθεί μία περιγραφή αυτής ή των στοιχείων που μας ενδιαφέρουν. Οι τεχνικές ανάλυσης εικόνας απαιτούν εξαγωγή ορισμένων βασικών χαρακτηριστικών, τα οποία βοηθούν στην αναγνώριση των στοιχείων (αντικειμένων) τα οποία μας ενδιαφέρουν.

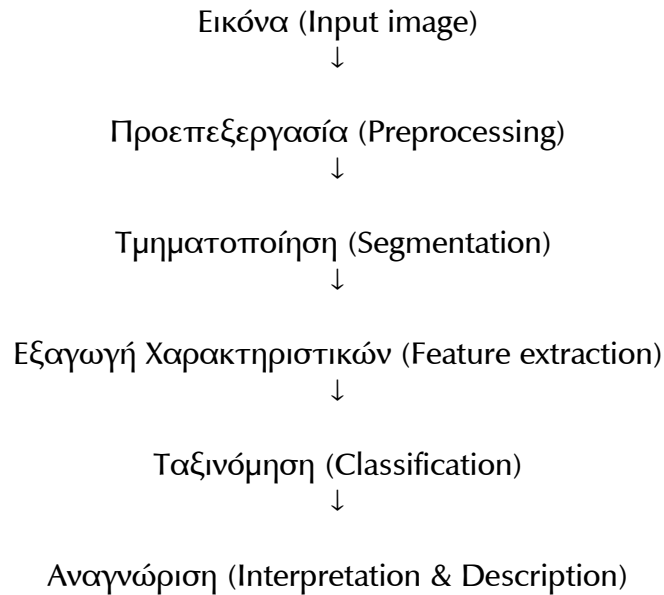
Τεχνικές Τεμαχισμού (Segmentation) χρησιμοποιούνται για να απομονώσουν το αντικείμενο που μας ενδιαφέρει από την όλη εικόνα, έτσι ώστε οι ποσοτικές μετρήσεις να γίνονται πάνω σε αυτό το αντικείμενο ξεχωριστά.

Οι ποσοτικές μετρήσεις (Quantitative measurements) σε ένα αντικείμενο επιτρέπουν ταξινόμηση (classification) και περιγραφή (description) της εικόνας. Ο σκοπός σε όλες τις εφαρμογές επεξεργασίας εικόνας είναι η εξαγωγή σημαντικών χαρακτηριστικών (features) από τα δεδομένα της εικόνας, από τα οποία ο υπολογιστής μπορεί να δώσει μία περιγραφή (description), ερμηνεία (interpretation), και κατανόηση (understanding) της εικόνας (computer vision). Για παράδειγμα, ένα σύστημα computer vision, θα μπορεί να ξεχωρίσει ένα αντικείμενο από όλη την εικόνα (background). Πιο έξυπνα συστήματα computer vision, μπορούν να εκτιμήσουν τα αποτελέσματα της ανάλυσης της εικόνας (image analysis) και να περιγράψουν τα διάφορα αντικείμενα και τις σχέσεις τους με την

όλη εικόνα.

Με αυτή την έννοια η ανάλυση της εικόνας (image analysis) είναι διαφορετική από μία διαδικασία επεξεργασίας εικόνας, όπου το αποτέλεσμα (output), το οποίο παίρνουμε είναι μια άλλη εικόνα.

Ένα σύστημα ανάλυσης εικόνας αποτελείται από τα εξής βασικά στάδια: [2]



Η αρχική εικόνα επεξεργάζεται, αν είναι αναγκαίο, (preprocessing π.χ. βελτίωση εικόνας – enhancement). Έπειτα εξάγονται μερικά βασικά χαρακτηριστικά τα οποία είναι αναγκαία για τον τεμαχισμό (segmentation) της εικόνας στα στοιχεία που την αποτελούν και τα οποία μας ενδιαφέρουν (π.χ. εξαγωγή διαφορετικών αντικειμένων σε μία εικόνα βρίσκοντας τα όριά τους - boundary extraction). Η τεμαχισμένη εικόνα εισάγεται σε ένα σύστημα κατηγοριοποίησης (classifier).

Άρα γενικά, όπως παρατηρούμε από το παραπάνω σχήμα πριν από το στάδιο της εξαγωγής χαρακτηριστικών υπάρχει συνήθως το στάδιο της προεπεξεργασίας καθώς και το στάδιο της τμηματοποίησης των εικόνων. Το στάδιο της προεπεξεργασίας λοιπόν, περιλαμβάνει το φιλτράρισμα της αρχικής εικόνας, τη βελτιστοποίηση της εικόνας και οποιαδήποτε άλλη κατάλληλη για τη συγκεκριμένη εφαρμογή επεξεργασία της εικόνας. Το στάδιο της τμηματοποίησης περιλαμβάνει τεχνικές προσαρμοσμένες στον τρόπο παρουσίασης-παράστασης των αντικειμένων της εικόνας.

Το επόμενο και τελευταίο βήμα συνδέει την image analysis με το computer vision, δηλαδή το σύστημα βρίσκει τις σχέσεις μεταξύ των διάφορων αντικειμένων και της εικόνας στην οποία βρίσκονται έτσι ώστε να είναι δυνατή η περιγραφή της.

Δηλαδή : image analysis → computer vision.

Η αναγνώριση προτύπων αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα στοιχεία ενός συστήματος τεχνητής νοημοσύνης που στοχεύει στην αναγνώριση και τη λήψη αποφάσεων. Στην περιοχή της ψηφιακής επεξεργασίας και ανάλυσης εικόνας, τα πρότυπα καλούνται χαρακτηριστικά (features). Γενικά, ως χαρακτηριστικό μπορεί να θεωρηθεί οποιοδήποτε μετρήσιμο μέγεθος που εξάγεται από μια εικόνα. Τα χαρακτηριστικά χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τα αντικείμενα που περιέχονται στις εικόνες και επομένως, πρέπει να επιλέγονται κατάλληλα και ανάλογα με τις ιδιαίτερες απαιτήσεις της κάθε εφαρμογής. Η χρήση χαρακτηριστικών αντιστοιχεί ουσιαστικά στην ανάπτυξη συστημάτων μείωσης πληροφορίας (information reduction), απεικόνισης (ή αντιστοίχισης) πληροφορίας (information mapping) ή ονοματισμό πληροφοριών (information labeling).

Ουσιαστικά, η περιγραφή αντικειμένων με χαρακτηριστικά απεικονίζει τα αντικείμενα στο χώρο των χαρακτηριστικών, με αποτέλεσμα, η αναγνώριση τους να ισοδυναμεί με τη μέτρηση της ομοιότητας μεταξύ των χαρακτηριστικών των αντικειμένων. Συνεπώς, τα χαρακτηριστικά που επιλέγονται πρέπει να είναι σε θέση να διαχωρίζουν και να περιγράφουν, κατά το δυνατόν, μονοσήμαντα τα αντικείμενα. Η κατηγοριοποίηση των χαρακτηριστικών μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους. Έτσι, χαρακτηριστικά μπορεί να είναι μεγέθη μετρήσιμα ή συμβολικά ή του τύπου ΝΑΙ-ΟΧΙ ή 0-1. Τα μετρήσιμα χαρακτηριστικά είναι μεγέθη συνεχή ή ασυνεχή. Τα συμβολικά χαρακτηριστικά είναι ουσιαστικά και αυτά μετρήσιμα μεγέθη και αποτελούνται από συμβολικές αλφαριθμητικές μεταβλητές. Ένα παράδειγμα συμβολικών χαρακτηριστικών είναι το χρώμα των εικόνων. Τα χαρακτηριστικά της τελευταίας κατηγορίας καλούνται δυαδικά. Για παράδειγμα, η απάντηση στο ερώτημα αν ένα αντικείμενο έχει ή δεν έχει σπές μπορεί να είναι ένα ΝΑΙ ή ένα ΟΧΙ. Τέλος, ένα σημαντικός διαχωρισμός αφορά τα σαφή (crisp) ή ασαφή (fuzzy) χαρακτηριστικά.

Από πλευράς πεδίου ορισμού, τα χαρακτηριστικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως:

#### Εξαγωγή χαρακτηριστικών (feature extraction)

Χωρικά χαρακτηριστικά (Spatial features) π.χ. gray level ενός αντικειμένου

Χαρακτηριστικά μετασχηματισμών (Transform features) π.χ. Fourier

Ακμές, όρια (Edges, boundaries)

Χαρακτηριστικά σχήματος (Shape features)

Γεωμετρικά χαρακτηριστικά (Geometry features)

Αναμορφωτικά χαρακτηριστικά (Regenerative features), π.χ. όρια

Περιοχές, Δομικά χαρακτηριστικά, ταίριασμα και αναγνώριση αντικειμένων

Υφή αντικειμένων (Texture) π.χ. τα δομικά στοιχεία επιφάνειας π.χ. ξύλο, άμμος)

#### Τεμαχισμού (segmentation)

Τεχνικές κατωφλίου (Thresholding)

Εξαγωγή ακμών, ανεύρεση ορίων (Edge and Boundary detection)

Εξαγωγή περιοχών με όμοια υφή (Texture matching)

Εξαγωγή περιοχών οι οποίες έχουν όμοια χαρακτηριστικά (Region Growing)

#### Κατηγοριοποίησης (classification)

Στατιστική κατηγοριοποίηση (Statistical classification)

Κατηγοριοποίηση με βάση την ομοιότητα (Similarity measures)

Στην περιοχή των χαρακτηριστικών από μετασχηματισμό, συνήθως η εικόνα ή μέρος αυτής ή μια υπογραφή της μετασχηματίζεται με τη βοήθεια ενός δισδιάστατου ή μονοδιάστατου μετασχηματισμού και στη συνέχεια, τα χαρακτηριστικά ορίζονται και εξάγονται στο πεδίο της συχνότητας.

Σε ένα σύστημα αναγνώρισης που χρησιμοποιεί χαρακτηριστικά, μπορούμε να αναμίξουμε χαρακτηριστικά διαφόρων τύπων. Οι περιορισμοί που τίθενται προέρχονται από τις απαιτήσεις που έχει η κάθε εφαρμογή και το είδος του ταξινομητή (classifier) που χρησιμοποιείται.

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

- Διακριτότητα: Το σύνολο των χαρακτηριστικών πρέπει να είναι ικανό να διαχωρίζει τα αντικείμενα μεταξύ τους. Με άλλα λόγια, πρέπει για διαφορετικά αντικείμενα να καταλήγουμε σε ικανοποιητικά διαφορετικό σημείο του χώρου των χαρακτηριστικών.
- Αξιοπιστία: Δηλαδή, για παρόμοια αντικείμενα πρέπει να προκύπτουν ικανοποιητικά κοντινές τιμές για τα χαρακτηριστικά. Έτσι, δυο παρόμοιοι χαρακτήρες "α" είναι επιθυμητό να δίνουν χαρακτηριστικά με τιμές τέτοιες ώστε να αναγνωρίζονται ως ίδιοι χαρακτήρες.
- Μικρό υπολογιστικό κόστος: Ανάλογα με την εφαρμογή, πρέπει και το υπολογιστικό κόστος να είναι ικανοποιητικά μικρό.
- Καλή προσαρμογή με τη διαδικασία ταξινόμησης: Σε συστήματα αναγνώρισης, μετά το στάδιο εξαγωγής χαρακτηριστικών ακολουθεί το στάδιο τη ταξινόμησης (classification). Πρέπει λοιπόν τα χαρακτηριστικά να ταιριάζουν με τη μέθοδο ταξινόμησης.

Εκτός των παραπάνω ιδιοτήτων, είναι σε πολλές περιπτώσεις πολύ χρήσιμο (παράδειγμα στην οπτική αναγνώριση χαρακτήρων), τα χαρακτηριστικά να είναι ανεξάρτητα της κλιμάκωσης, της περιστροφής και της μετατόπισης αλλά και να μην είναι ευαίσθητα στο θόρυβο.

## Ψηφιακή Επεξεργασία Εικόνας

Η ραγδαία εξέλιξη των υπολογιστών κυρίως μετά το 1975, επέτρεψαν την ανάπτυξη ενός νέου κλάδου που περιγράφεται ως ψηφιακή επεξεργασία εικόνας. Η ψηφιακή επεξεργασία εικόνας αποτελεί πλέον ολόκληρη επιστήμη και έχει ευρύτερες εφαρμογές όπως η μηχανική όραση (computer vision).

Με τη λέξη εικόνα δεν νοείται μόνο η απεικόνιση μιας σκηνής αλλά είναι ένα μέσο, ένας τρόπος, με τον οποίο μπορούμε να αποτυπώσουμε πληροφορίες διαφόρων ειδών. Έτσι έγγραφα, ιατρικά δεδομένα (υπερηχογράφημα, μαγνητική τομογραφία), διαστημικά δεδομένα και άλλα μπορούν να ψηφιοποιηθούν και να επεξεργασθούν ως εικόνες.

Γενικά μπορούμε να πούμε ότι η ψηφιακή επεξεργασία εικόνας αναπτύχθηκε για να αντιμετωπίσει τα ακόλουθα κύρια προβλήματα:

- 1) Την ψηφιοποίηση (digitization), κωδικοποίηση εικόνων με στόχο την εκτύπωση, αποθήκευση και μετάδοσή τους.
- 2) Τη βελτιστοποίηση (enhancement) και την αποκατάσταση (restoration) των εικόνων με στόχο την καλύτερη απεικόνιση και κατανόησή τους.
- 3) Την τμηματοποίηση (segmentation) και την περιγραφή των εικόνων.
- 4) Την ανάλυση και την κατανόηση των εικόνων.

Μια διαφορετική κατηγοριοποίηση των από την παραπάνω ανάλυση μπορούμε να συμπεράνουμε ότι τα θέματα που αντιμετωπίζει η ΨΕΕ εικόνας αφορούν αφενός την αξιοποίηση των μέσων και αφετέρου την κατανόηση του περιεχομένου των εικόνων με απώτερο στόχο την προσέγγιση της ανθρώπινης όρασης.

Με την έννοια αυτή η ΨΕΕ ταυτίζεται με θέματα ρομποτικής όρασης (robot vision), αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition) και τεχνητής νοημοσύνης (artificial intelligence). Οι επιστημονικοί αυτοί κλάδοι δεν είναι οι μόνοι συγγενείς κλάδοι. Γενικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι η ΨΕΕ συγγενεύει άμεσα με τους παρακάτω κλάδους:

### Ψηφιακή Επεξεργασία Σημάτων

Ρομποτική Όραση και Όραση Μηχανής

Τεχνητή Νοημοσύνη

Αναγνώριση Προτύπων

Νευρωνικά Δίκτυα (Neural Networks)

Ασαφή Λογική (Fuzzy Logic)

Κωδικοποίηση

Γραφικά Υπολογιστών (Computer Graphics)

## Τι είναι μια ψηφιακή εικόνα

Η μετάβαση από τον αναλογικό κόσμο στον ψηφιακό συνεπάγεται τη μετατροπή αναλογικών σημάτων σε ψηφιακά. Έτσι μια πραγματική εικόνα μεταφέρεται στον ψηφιακό κόσμο με τη μορφή διακεκριμένου σήματος που έχει τη μορφή ψηφιακών πινάκων. Μια ψηφιακή εικόνα μπορεί να είναι δυαδική (binary images), μονοχρωματική αποχρώσεων του γκρι (gray-level ή gray-scale images) ή έγχρωμη (color image).

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

Η λέξη pixel (ή pel ορισμένες φορές) προέρχεται και αντικαθιστά ουσιαστικά τη φράση "picture element". Η απλούστερη μορφή μιας εικόνας είναι η δυαδική μορφή. Μια δυαδική εικόνα έχει μόνον δύο στάθμες φωτεινότητας που συνήθως είναι το μαύρο και το άσπρο. Το μαύρο αντιστοιχεί στη τιμή 0 και το άσπρο στην τιμή 1 (ή σε αντιστοίχιση με τις gray-level εικόνες στην τιμή 255).

Μια δυαδική εικόνα καταλαμβάνει μικρότερη μνήμη και οι επεξεργασία της απαιτεί μικρότερο υπολογιστικό κόστος. Σε δυαδική μορφή μπορούν να απεικονισθούν σημαντικές πληροφορίες όπως είναι το εμβαδόν και η θέση αντικειμένων, η μορφή αντικειμένων κ.ά. Σημειώνεται ότι πάρα πολλές και σημαντικές εφαρμογές της ΨΕΕ όπως είναι η οπτική αναγνώριση χαρακτήρων (OCR: Optical Character Recognition), η αναγνώριση υπογραφής (signature recognition) και η αναγνώριση αποτυπωμάτων (fingerprint recognition) γίνονται συνήθως με τη χρήση δυαδικών εικόνων. Οι έγχρωμες ψηφιακές εικόνες αποτελούν το μέσο για την απεικόνιση του πραγματικού κόσμου. Μια έγχρωμη ψηφιακή εικόνα αποτελείται από τρεις gray-level εικόνες. Δηλαδή, το χρώμα κάθε εικονοστοιχείου έχει τρεις συνιστώσες που αντιστοιχούν στις γκρι αποχρώσεις των αντίστοιχων εικονοστοιχείων των τριών γκρι εικόνων.

Από μαθηματικής άποψης, μια ψηφιακή έγχρωμη εικόνα διαστάσεων  $N \times M$  μπορεί να συμβολιστεί ως  $I_c(i, j)$ ,  $i = 1, \dots, N$  και  $j = 1, \dots, M$ , όπου  $0 \leq I_c(i, j) \leq G - 1$  για κάθε  $c = 1, 2, 3$ . Έτσι, το χρώμα κάθε εικονοστοιχείου  $(i, j)$  προκύπτει από το συνδυασμό τριών χρωματικών συνιστωσών:

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

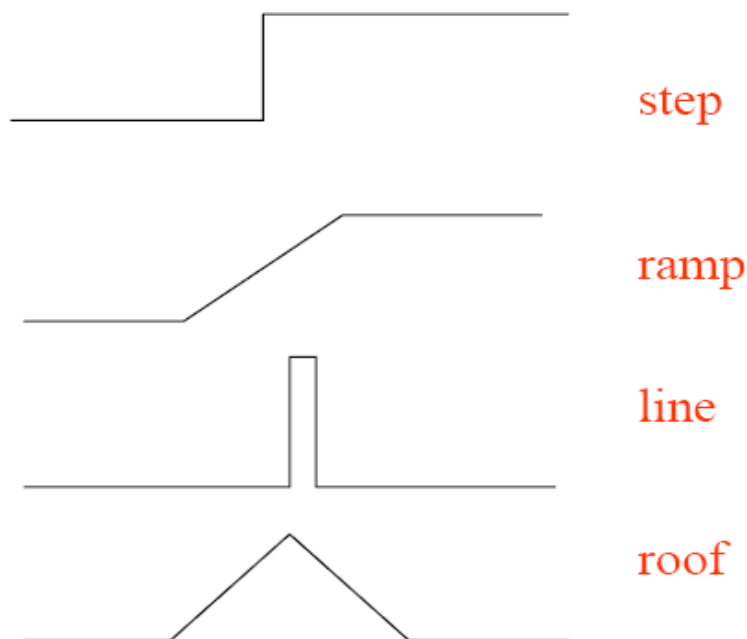
Για παράδειγμα, στο χρωματικό σύστημα RGB, το κάθε χρώμα συντίθεται από τα χρώματα κόκκινο (Red), πράσινο (Green) και μπλε (Blue).

## Ανίχνευση ακμών [22]

Η ανίχνευση ακμών (edges) είναι ένα πολύ σημαντικό θέμα στην ψηφιακή επεξεργασία εικόνας διότι με τις ακμές μπορούμε να περιγράψουμε, να προσδιορίσουμε, να αναπαραστήσουμε και να αναγνωρίσουμε αντικείμενα που περιέχονται σε ψηφιακές εικόνες. Ως ακμή μπορεί να θεωρηθεί μια καμπύλη, στις δύο πλευρές της οποίας υπάρχουν σημαντικές διαφορές που αφορούν τις εντάσεις φωτεινότητας ή ακόμα και ένα η περισσότερα χαρακτηριστικά του χώρου. Τέτοια χαρακτηριστικά μπορεί να αφορούν την πυκνότητα της εικόνας, την υφή της και κυρίως τις αλλαγές στην κατανομή των επιπέδων του γκρι. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει ακόμα μαθηματικό μοντέλο που να καθορίζει τις ακμές. Διαφορετικές προσεγγίσεις καταλήγουν σε διαφορετικές ανιχνεύσεις ακμών. Κάθε εφαρμογή μπορεί να απαιτεί τη χρήση εξειδικευμένης τεχνικής ανίχνευσης ακμών. Συνεπώς, είναι αναγκαία η κατανόηση των διαφόρων αλγορίθμων ανίχνευσης ακμών, με τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά τους.

Σε πολλές περιπτώσεις, ο προσδιορισμός των ακμών αποτελεί το πρώτο στάδιο σε μια εφαρμογή. Για παράδειγμα, ο προσδιορισμός των ακμών των αντικειμένων προηγείται συνήθως του σταδίου της τμηματοποίησης των εικόνων. Στο παρακάτω σχήμα δείχνονται περιπτώσεις ακμών που αναφέρονται σε μια συνεχή εικόνα και οι οποίες προκύπτουν με βάση τις φωτεινότητες της εικόνας. Οι ακμές χαρακτηρίζονται από ορισμένα γεωμετρικά χαρακτηριστικά τους, όπως για παράδειγμα το ύψος, η κλίση και το πλάτος τους. Μπορούμε να θεωρήσουμε ότι υπάρχει ακμή όταν το ύψος της είναι μεγαλύτερο μιας εκ των προτέρων καθορισμένης στάθμης. Ένας ιδανικός αλγόριθμος προσδιορισμού ακμών πρέπει να προσδιορίζει τα σημεία των ακμών με ακρίβεια και οι ακμές που προκύπτουν να είναι συνεχείς και λεπτές. Οι ακμές σε μια ψηφιακή εικόνα μπορούμε να θεωρήσουμε ότι προσεγγίζουν συνήθως τη μονοδιάστατη μορφή του παρακάτω σχήματος. Αυτό δε συμβαίνει πάντα διότι κατά τη διαδικασία ψηφιοποίησης των εικόνων υπεισέρχονται φαινόμενα και διεργασίες που διαφοροποιούν τη μορφή και τη θέση των εικονοστοιχείων των ακμών.

Τα μονοδιάστατα συνεχή μοντέλα ακμών είναι το βηματικό, το κλιμακωτό, το γραμμικό και το τύπου οροφής.



Εικόνα 96: Ιδανικές ακμές (Ideal edges)

Στα πλαίσια αυτής της εργασίας θα αναλύσουμε ορισμένους μόνο από τους υπάρχοντες αλγόριθμους προσδιορισμού ακμών, κυρίως αυτούς που απέδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα (αλλά θα αναφερθούν και αλγόριθμοι που δοκιμάστηκαν και δεν απέδωσαν αποδοτικά αποτελέσματα).

### Εισαγωγή στα βασικά της ανίχνευσης ακμών

Η ανίχνευση των ακμών αναφέρεται στη διαδικασία της αναγνώρισης και χωροθέτησης έντονων ασυνεχειών σε μια εικόνα. Οι ασυνέχειες είναι απότομες αλλαγές στην ένταση των pixels που χαρακτηρίζουν τα όρια ενός αντικειμένου. Οι κλασσικές μέθοδοι ανίχνευσης ακμών περιλαμβάνουν συνέλιξη της εικόνας με ένα συντελεστή (operator), ένα 2D φίλτρο, που κατασκευάζεται να είναι ευαίσθητο σε μεγάλες κλίσεις στην εικόνα ενώ επιστρέφουν μηδενικές τιμές στις ομοιόμορφες περιοχές. Υπάρχει ένας εξαιρετικά μεγάλος διαθέσιμος αριθμός συντελεστών ανίχνευσης ακμών, καθένας από τους οποίους είναι σχεδιασμένος να είναι ευαίσθητος σε συγκεκριμένους τύπους ακμών. Οι μεταβλητές που περιλαμβάνονται στην επιλογή του συντελεστή ανίχνευσης ακμών περιλαμβάνουν:

- 1) Προσανατολισμός των ακμών: η γεωμετρία του συντελεστή καθορίζει μια χαρακτηριστική κατεύθυνση στην οποία είναι πιο ευαίσθητη στις ακμές. Οι συντελεστές μπορούν να βελτιστοποιηθούν ώστε να ψάχνουν για οριζόντιες, κάθετες ή διαγώνιες ακμές.
- 2) Περιβάλλον θορύβου: η ανίχνευση ακμών είναι δύσκολη σε εικόνες με θόρυβο, αφού τόσο ο θόρυβος όσο και οι ακμές έχουν υψηλό συχνοτικό περιεχόμενο. Προσπάθειες μείωσης το θορύβου καταλήγουν σε θολές ή ακόμα και κατεστραμμένες εικόνες. Οι συντελεστές που χρησιμοποιούνται σε εικόνες με θόρυβο είναι συνήθως μεγαλύτερες στο πεδίο εφαρμογής, οπότε μπορούν να υπολογίσουν κατά μέσο όρο αρκετά δεδομένα για να μειώσουν τα pixels με θόρυβο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα λιγότερο ακριβή χωροθέτηση των ανιχνευόμενων ακμών.
- 3) Δομή της ακμής: Δεν περιέχουν όλες οι ακμές βηματική μεταβολή της έντασης. Επιρροές όπως διάθλαση ή φτωχή εστίαση μπορούν να καταλήξουν σε αντικείμενα με όρια ορισμένα από βαθμιαία μεταβολή της έντασης. Ο συντελεστής που χρειάζεται να επιλεχθεί ως αντιπροσωπευτικός σε αυτές τις βαθμιαίες μεταβολές σε αυτές τις περιπτώσεις. Νεότερες τεχνικές βασισμένες σε wavelets χαρακτηρίζουν τη φύση της μετάβασης για κάθε ακμή με σκοπό την αναγνώριση, για παράδειγμα, ακμών που σχετίζονται με τρίχες από ακμές που σχετίζονται με ένα ανθρώπινο σώμα.

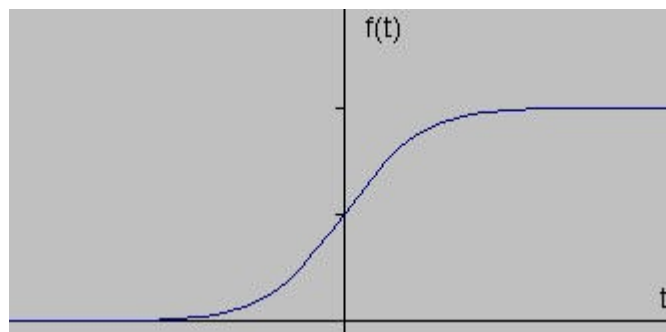
Υπάρχουν πολλοί τρόποι για να εφαρμοστεί η ανίχνευση ακμών. Ωστόσο, η πλειοψηφία των διαφορετικών αυτών μεθόδων μπορεί να ομαδοποιηθεί σε δύο κατηγορίες:

1) Gradient:

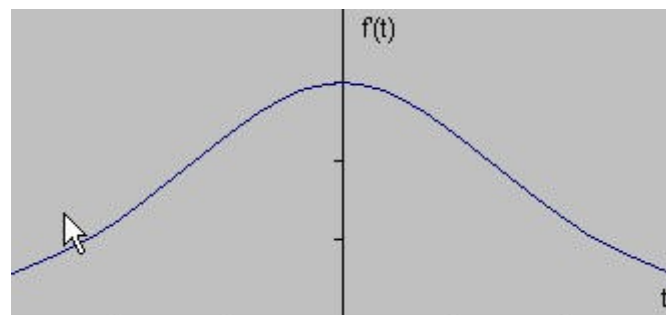
Η μέθοδος του gradient ανιχνεύει τις ακμές ψάχνοντας για μέγιστα και ελάχιστα της πρώτης παραγώγου της εικόνας.

2) Laplacian:

Η Laplacian μέθοδος ψάχνει για zero crossings της δεύτερης παραγώγου της εικόνας προκειμένου να βρει ακμές. Μια ακμή έχει το μονοδιάστατο σχήμα κλίμακας (ramp) και υπολογίζοντας την παράγωγο της εικόνας μπορεί να υπογραμμιστεί η θέση της. Έστω ότι έχουμε το ακόλουθο σήμα, με μια ακμή όπως φαίνεται από το άλμα της έντασης παρακάτω:

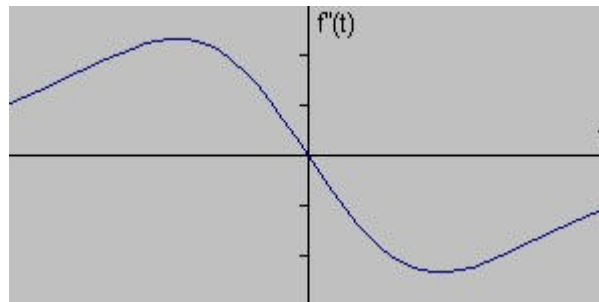


Αν λάβουμε το gradient αυτού του σήματος (το οποίο στην περίπτωση της μια διάστασης, είναι απλά η πρώτη παράγωγος ως προς  $t$ ) λαμβάνουμε το παρακάτω σήμα:



Είναι φανερό ότι η παράγωγος δείχνει ένα μέγιστο που βρίσκεται στο κέντρο της ακμής του αρχικού σήματος. Η μέθοδος χωροθέτησης μιας ακμής είναι χαρακτηριστική του gradient φίλτρου της οικογένειας των φίλτρων ανίχνευσης ακμών και περιλαμβάνει τη μέθοδο Sobel. Η θέση ενός pixel δηλώνεται ως θέση ακμής αν η τιμή της κλίσης ξεπερνά κάποιο όριο. Όπως προαναφέρθηκε, οι ακμές θα έχουν υψηλότερες τιμές έντασης pixel από αυτές που τις περιβάλλουν. Έτσι, μόλις το κατώφλι οριστεί, μπορούμε να συγκρίνουμε την gradient τιμή προς την τιμή κατωφλίου και να ανιχνεύσουμε μια ακμή κάθε φορά που υπερβαίνεται το κατώφλι. Επιπλέον, όταν η πρώτη παράγωγος είναι στο μέγιστο, η δεύτερη παράγωγος είναι στο μηδέν.

Ως αποτέλεσμα, μια άλλη εναλλακτική λύση στην εύρεση της θέσης της ακμής είναι να εντοπίσουμε τα μηδενικά στην δεύτερη παράγωγο. Αυτή η μέθοδος είναι γνωστή ως Laplacian και η δεύτερη παράγωγος του σήματος είναι η ακόλουθη:



### Προσδιορισμός ακμών με τη χρήση πρώτων παραγώγων

Ας θεωρήσουμε μια συνεχή μονοδιάστατη συνάρτηση  $f(x)$  που η μορφή της προσεγγίζει την κατά πλάτος μορφή (οριζόντια διεύθυνση) μιας ακμής. Στις περισσότερες περιπτώσεις μπορούμε να δεχτούμε ότι το σημείο  $x_0$  είναι το κεντρικό σημείο της ακμής.

Ένας τρόπος για να προσδιορίσουμε το σημείο  $x_0$  είναι η χρησιμοποίηση της πρώτης και δεύτερης παραγώγου της  $f(x)$ . Έτσι μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι το  $x_0$  μπορεί να θεωρηθεί ως το ακρότατο σημείο (θέση μεγίστου ή ελαχίστου της  $f(x)$ ) ή ως το σημείο διασκελισμού του μηδενός (zero-crossing) της  $f'(x)$ , όπου δηλαδή έχουμε αλλαγή του πρόσημου της  $f'(x)$ . Σύμφωνα με την παραπάνω ανάλυση, έχουν αναπτυχθεί αλγόριθμοι προσδιορισμού ακμών που χρησιμοποιούν τις χαρακτηριστικές ιδιότητες των  $f'(x)$  και  $f''(x)$ .

Αν το  $|f'(x)|$  είναι πολύ μεγάλο, αυτό σημαίνει ότι η  $f(x)$  μεταβάλλεται πολύ γρήγορα, και συνεπώς μπορούμε να θεωρήσουμε ότι στη θέση  $x_0$  έχουμε μια γρήγορη μεταβολή της φωτεινότητας της εικόνας. Αν η  $f'(x)$  είναι θετική, τότε έχουμε αύξηση της φωτεινότητας ενώ αντίθετα αν η  $f'(x)$  είναι αρνητική τότε έχουμε μείωση της φωτεινότητας από αριστερά προς τα δεξιά της ακμής. Μπορούμε λοιπόν να καθορίσουμε μια στάθμη, ένα κατώφλι φωτεινότητας που αν το  $|f'(x)|$  το ξεπερνά τοπικά αυτό να σημαίνει ότι έχουμε ένα σημείο ακμής.

Παρατηρούμε ότι σύμφωνα με την παραπάνω μέθοδο, αν πολλά σημεία της  $f(x)$  ικανοποιούν τοπικά τη συνθήκη  $|f'(x)| > T$ , τότε στη θέση αυτή η ακμή δεν εκφράζεται με ένα σημείο αλλά με ένα σύνολο ακμών. Στην περίπτωση αυτή και εφόσον επιθυμούμε η ακμή να αποτελείται μόνο από σημεία, μπορούμε να θεωρήσουμε τη θέση όπου έχουμε τοπικό μέγιστο του  $|f'(x)|$  ως το σημείο της ακμής. Όμως γενικά, η εφαρμογή είναι εκείνη που καθορίζει τον τρόπο επιλογής του κατωφλίου  $T$ . Καθώς το  $T$  αυξάνει τόσο λιγότερα σημεία αναγνωρίζονται ως σημεία ακμών. Λόγω αυτών των προβλημάτων υπάρχουν ορισμένες δυσκολίες στον προσδιορισμό των ακμών που αλλοιώνουν τη μορφή τους. Τεχνικές, όπως η παρακολούθηση καμπύλης (contour following), μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της μορφής των ακμών.

Η επέκταση των παραπάνω, σε δισδιάστατες συνεχείς συναρτήσεις  $f(x, y)$ , γίνεται με της βοήθεια της κλίσης (gradient) :

$$\bar{\nabla} f = \frac{\partial f}{\partial x} \bar{i} + \frac{\partial f}{\partial y} \bar{j}$$

όπου  $i$  το μοναδιαίο διάνυσμα (unit vector) στη διεύθυνση  $x$  και  $j$  το μοναδιαίο διάνυσμα στη διεύθυνση  $y$ . Η συνάρτηση κλίσης (gradient) καθώς και η κλίση  $\theta$  αυτής με τον άξονα των  $x$ , είναι συνεχείς συναρτήσεις. Το διάνυσμα κλίσης (gradient) είναι κάθετο στην εφαπτομένη κάθε ακμής στο σημείο  $(x, y)$ .

Συγκεκριμένα:

$$\nabla f = G(x, y) = G_R(x, y) \cos \theta + G_C(x, y) \sin \theta$$

όπου

$$G_R(x, y) = \frac{\partial f(x, y)}{\partial x}$$

$$G_C(x, y) = \frac{\partial f(x, y)}{\partial y}$$

Το πλάτος του gradient ισούται με:

$$|G(x, y)| = \sqrt{G_R^2(x, y) + G_C^2(x, y)}$$

ενώ η γωνία  $\theta$  προσδιορίζεται ως :

$$\theta = \arg\left(\frac{\partial f(x, y)}{\partial x}, \frac{\partial f(x, y)}{\partial y}\right)$$

Εναλλακτικά, για τον προσδιορισμό των ακμών μπορεί να χρησιμοποιηθούν και άλλοι τελεστές όπως είναι το άθροισμα των απόλυτων τιμών των μερικών παραγώγων ή η μέγιστη απόλυτη τιμή των μερικών παραγώγων:

$$|G(x, y)| = |G_R(x, y)| + |G_C(x, y)|$$

$$|G(x, y)| = \max(|G_R(x, y)|, |G_C(x, y)|)$$

Θεωρούμε τώρα ένα σύστημα υπολογισμού των ακμών που βασίζεται στον υπολογισμό της κλίσης  $\nabla f$  όπου παρατηρούμε ότι το κατώφλι αφορά το  $|G(x, y)|$  ενώ το σημείο ακμής προκύπτει ως  $(x_0, y_0)$ . Αν περισσότερα του ενός σημεία έχουν  $|G(x, y)|$  μεγαλύτερο του κατωφλίου, τότε προκύπτουν και σημεία ακμών τα οποία κατανέμονται σε λουρίδες μάλλον και όχι σε γραμμές. Η διαδικασία του προσδιορισμού λεπτών ακμών από μια λουρίδα ονομάζεται λέπτυνση ακμών (edge thinning). Ως μια τεχνική λέπτυνσης μπορούμε να θεωρήσουμε τη διαδικασία που προσδιορίζει το τοπικό μέγιστο της  $|G(x, y)|$  σε μια τουλάχιστον διεύθυνση. Είναι φυσικά δυνατό να θεωρήσουμε ως σημείο ακμής το τοπικό μέγιστο της  $|G(x, y)|$  όλης της λουρίδας.

Όμως, στις περισσότερες περιπτώσεις είναι αρκετός ο έλεγχος στην οριζόντια και στην κάθετη διεύθυνση. Χρησιμοποιώντας τη διαδικασία αυτή είναι δυνατόν να υπάρξουν σφάλματα, τα οποία μπορούμε να μειώσουμε αν χρησιμοποιήσουμε πρόσθετες συνθήκες που πρέπει να ικανοποιούν τα σημεία των ακμών.

Ένα παράδειγμα τέτοιων συνθηκών είναι οι ακόλουθες:

(α) Αν το  $|G(x, y)|$  έχει ένα τοπικό μέγιστο στο σημείο  $(x_0, y_0)$  κατά την οριζόντια διεύθυνση αλλά όχι και κατά την κάθετη, τότε το  $(x_0, y_0)$  είναι σημείο ακμής αν

$$|G_R(x_0, y_0)| > k |G_C(x_0, y_0)|$$

(β) Αν το  $|G(x, y)|$  έχει ένα τοπικό μέγιστο στο σημείο  $(x_0, y_0)$  κατά την κάθετη διεύθυνση αλλά όχι και κατά την οριζόντια, τότε το  $(x_0, y_0)$  είναι σημείο ακμής αν

$$|G_C(x_0, y_0)| > k |G_R(x_0, y_0)|$$

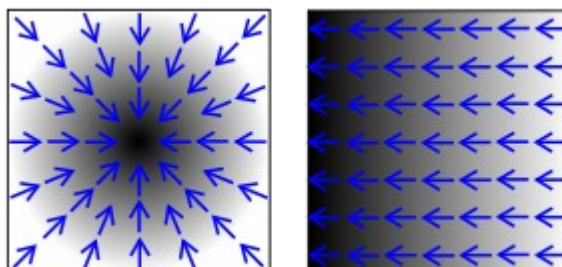
με τυπική τιμή για το  $k$  κοντά στο 2.

Η συνθήκη (α) δηλώνει ότι όταν αυτή ικανοποιείται τότε ο ρυθμός της μεταβολής της έντασης φωτεινότητας κατά μήκος της οριζόντιας διεύθυνσης είναι σημαντικά μεγαλύτερος από αυτή στην κάθετη διεύθυνση. Αντίστοιχη ερμηνεία έχει η συνθήκη (β) αλλά με αλλαγή του ρόλου των διευθύνσεων.

Μια τέτοια μέθοδος που θέτει συνθήκες, βασίζεται στον έλεγχο του  $|G(x, y)|$  και αν δεν έχει προτίμηση ως προς πια κατεύθυνση, χαρακτηρίζεται ως ανεξάρτητης διεύθυνσης προσδιοριστής ακμών (non - directal edge detector). Αντίθετα, αν μια μέθοδος εξαρτάται και εξετάζει τι γίνεται σε κάποια διεύθυνση, τότε αυτή χαρακτηρίζεται ως εξαρτώμενη από διεύθυνση προσδιοριστή ακμών (directional edge detector). Αυτή είναι μια διαφορετική προσέγγιση για το φιλτράρισμα των σημείων των ακμών και βασίζεται στην παρακολούθηση όχι μόνον του μεγέθους του  $|G(x, y)|$  αλλά και της κλίσης  $\theta$  των σημείων των ακμών. Συγκεκριμένα, μπορούμε να δεχθούμε ότι στη γειτονιά κάθε σημείου ακμής, η κλίση δεν μπορεί να μεταβάλλεται πέραν ενός ορίου.

## Image Gradient

Στο λογισμικό των γραφικών, για ψηφιακή επεξεργασία εικόνας, ο όρος gradient χρησιμοποιείται για τη σταδιακή ανάμειξη του χρώματος και μπορεί να θεωρηθεί και ως μια διαβάθμιση από τις χαμηλές στις υψηλές τιμές έντασης, όπως χρησιμοποιείται από το άσπρο στο μαύρο χρώμα στις παρακάτω εικόνες:



Εικόνα 97: Gradient grayscale εικόνων

Ένα άλλο όνομα για το gradient της εικόνας είναι η χρωματική εξέλιξη (color progression). Μαθηματικά, το gradient μιας συνάρτησης δύο μεταβλητών (εδώ η συνάρτηση της εικόνας) είναι σε κάθε σημείο της εικόνας ένα δισδιάστατο (2D) διάνυσμα με συνιστώσες που δίνονται από τις παραγώγους της οριζόντιας και της κάθετης διεύθυνσης. Σε κάθε σημείο της εικόνας, το διάνυσμα του gradient που σημειώνεται κατά την διεύθυνση της μεγαλύτερης δυνατής έντασης αυξάνει, και το μήκος του gradient διανύσματος αντιστοιχεί στο ρυθμό της αλλαγής σε αυτή την κατεύθυνση.

Αφού, η συνάρτηση έντασης μιας ψηφιακής εικόνας είναι γνωστή μόνο σε διακριτά σημεία, οι παράγωγοι αυτής της συνάρτησης δεν μπορούν να οριστούν αν δε θεωρήσουμε ότι υπάρχει μια υποκείμενη συνεχής συνάρτηση έντασης που θα έχει δειγματοληπτηθεί στα σημεία της εικόνας.

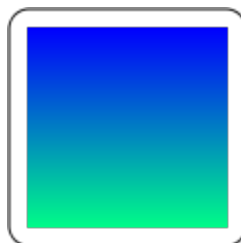
Με κάποιες επιπρόσθετες υποθέσεις, η παράγωγος της συνεχούς συνάρτησης έντασης μπορεί να υπολογιστεί ως μια συνάρτηση στη δειγματοληπτημένη συνάρτηση έντασης, την ψηφιακή εικόνα. Αυτό συνεπάγεται ότι οι παράγωγοι σε οποιοδήποτε σημείο είναι συναρτήσεις τιμών έντασης, πρακτικά σε όλα τα σημεία της εικόνας. Ωστόσο, προσεγγίσεις αυτών των συναρτήσεων παραγώγων μπορούν να οριστούν με χαμηλότερους ή υψηλότερους βαθμούς ακρίβειας.

Ο τελεστής Sobel αντιπροσωπεύει μια μη ακριβής προσέγγιση του gradient, αλλά συνεχίζει να είναι αρκετά καλής ποιότητας για πρακτική χρήση σε πολλές εφαρμογές. Το gradient μιας εικόνας συχνά χρησιμοποιείται σε χάρτες (maps) και άλλες οπτικές αναπαραστάσεις δεδομένων ώστε να αποδώσει επιπρόσθετες πληροφορίες.

Γενικά αναφέρουμε ότι, το color gradient στον τομέα των γραφικών, ορίζει το εύρος των θέσεων ή των χρωμάτων που χρησιμοποιούνται συνήθως για να γεμίσουν μια περιοχή. Τα χρώματα που παράγονται από το gradient ποικίλουν συνεχώς ως προς τη θέση, παράγοντας ομαλές χρωματικές μεταβάσεις.

## Γραμμικό Gradient

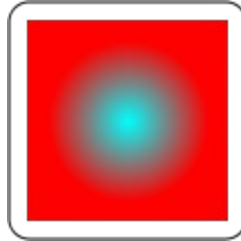
Το γραμμικό gradient ορίζεται από δύο σημεία και ένα χρώμα σε κάθε σημείο. Τα χρώματα κατά μήκος της γραμμής διαμέσου αυτών των σημείων υπολογίζονται χρησιμοποιώντας γραμμική παρεμβολή (linear interpolation) και μετά εκτείνονται κάθετα ως προς αυτή τη γραμμή:



Εικόνα 98: Γραμμικό gradient

## Κυκλικό Gradient

Ένα κυκλικό gradient ορίζεται ως ένας κύκλος που έχει ένα χρώμα και μια εστίαση (συνήθως στο κέντρο του κύκλου) που έχει άλλο χρώμα. Τα χρώματα υπολογίζονται με γραμμική παρεμβολή (linear interpolation) που βασίζονται στην απόσταση από την εστίαση:



Εικόνα 99: Κυκλικό gradient

## Επέκταση σε ψηφιακές εικόνες

Στη διακριτή περίπτωση μιας ψηφιακής εικόνας  $f(n, m)$ , οι μερικές παράγωγοι μπορούν να προσεγγισθούν με τη χρήση μερικών διαφορών. Για παράδειγμα, η  $G_R(n, m)$  μπορεί να προσεγγιστεί ως:

$$G_R(n, m) \Leftrightarrow [ f(n, m) - f(n - 1, m) ] / T$$

ή

$$G_R(n, m) \Leftrightarrow [ f(n+1, m) - f(n, m) ] / T$$

ή

$$G_R(n, m) \Leftrightarrow [ f(n+1, m) - f(n - 1, m) ] / (2T)$$

Επειδή η σύγκριση ως προς την επιθυμητή τιμή γίνεται με κατώφλι που μπορούμε εμείς να καθορίσουμε και να ρυθμίσουμε την τιμή του, οι συντελεστές κλιμάκωσης  $1/T$  και  $1/2T$  μπορούν να παραλειφθούν από τις παραπάνω σχέσεις. Επιπλέον, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε διαφορετικές σχέσεις για τον προσδιορισμό των μερικών παραγώγων που να βελτιώνουν την αξιοπιστία αλλά και τη συνέχειά τους.

Παραδείγματα τέτοιων σχέσεων είναι οι ακόλουθες:

$$G_R(n, m) \Leftrightarrow [ f(n+1, m+1) - f(n - 1, m+1) ] + [ f(n+1, m) - f(n - 1, m) ] \\ + [ f(n+1, m - 1) - f(n - 1, m - 1) ]$$

ή

$$G_R(n, m) \Leftrightarrow [ f(n+1, m+1) - f(n - 1, m+1) ] + 2[ f(n+1, m) - f(n - 1, m) ] \\ + [ f(n+1, m - 1) - f(n - 1, m - 1) ]$$

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε, οι παραπάνω σχέσεις μπορούν να αντιστοιχηθούν και να υλοποιηθούν με τη βοήθεια μιας μάσκας στη γειτονιά του εικονοστοιχείου  $f(n, m)$ . Μια τέτοια μάσκα διαστάσεων  $3 \times 3$  δείχνεται στον παρακάτω πίνακα όπου τα  $x_i$ ,  $i = 0, \dots, 8$  αντιπροσωπεύουν τους συντελεστές με τους οποίους πολλαπλασιάζονται οι τιμές φωτεινότητας των εικονοστοιχείων ενώ το  $x_0$  είναι το κεντρικό εικονοστοιχείο.

$x_4$	$x_3$	$x_2$
$x_5$	$x_0$	$x_1$
$x_6$	$x_7$	$x_8$

Πίνακας 9: Μάσκα  $3 \times 3$

Με τη χρησιμοποίηση αυτών των ορισμών οι παραπάνω σχέσεις είναι ισοδύναμες με:

$$G_R(n, m) = (x_1 + x_2 + x_8) - (x_4 + x_5 + x_6)$$

$$G_R(n, m) = (x_1 + 2x_1 + x_8) - (x_4 + 2x_5 + x_6)$$

Αν θεωρήσουμε μόνον τους συντελεστές, τότε οι παραπάνω σχέσεις αντιστοιχούν στις διαστάσεις  $3 \times 3$  μάσκες του παρακάτω πίνακα:

-1	0	1
-1	0	1
-1	0	1

Πίνακας 10: Μάσκα υλοποίησης της σχέσης  $G_R(n, m) = (x_1 + x_2 + x_8) - (x_4 + x_5 + x_6)$

-1	0	1
-2	0	2
-1	0	1

Πίνακας 11: Μάσκα υλοποίησης της σχέσης  $G_R(n, m) = (x_1 + 2x_1 + x_8) - (x_4 + 2x_5 + x_6)$

Δύο γενικές σχέσεις με βάση τις οποίες έχουν προταθεί διάφοροι συντελεστές για τον προσδιορισμό των  $G_R(n, m)$  και  $G_C(n, m)$ , δίνονται από τις εξισώσεις και:

$$G_R(n, m) = \frac{1}{k+2} [ (x_2 + kx_1 + x_8) - (x_4 + kx_5 + x_6) ]$$

και

$$G_C(n, m) = \frac{1}{k+2} [ (x_2 + kx_1 + x_8) - (x_4 + kx_5 + x_6) ]$$

όπου  $k$  πραγματικός αριθμός.

Σημειώνουμε ότι στις παραπάνω σχέσεις υπάρχει και ο συντελεστής κανονικοποίησης  $1/(k+2)$ , την επίδραση του οποίου μπορούμε συχνά να αμελήσουμε και να διαφοροποιήσουμε ανάλογα με την τιμή του κατωφλίου.

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται ορισμένα χαρακτηριστικά παραδείγματα υπολογισμού των  $G_R(n, m)$  και  $G_C(n, m)$  χωρίς συντελεστή κανονικοποίησης. Σημειώνεται ότι η εξαγωγή ακμών με τη χρήση των масκών αυτών οδηγεί σε εικόνες αποχρώσεων του γκρι. Συνεπώς η εφαρμογή ενός κατωφλίου  $T$  στις τιμές του gradient οδηγεί σε τονισμό των κυρίων ακμών και τη μετατροπή των εικόνων σε δυαδικές.

	$G_R(n, m)$	$G_C(n, m)$
Roberts	$\begin{bmatrix} 0 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$
Prewitt	$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$
Sobel	$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix}$
Robinson	$\begin{bmatrix} -1 & 1 & 1 \\ -1 & -2 & 1 \\ -1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & -2 & 1 \\ -1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$
Frei-Chen (Isotropic)	$\begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -\sqrt{2} & 0 & \sqrt{2} \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & \sqrt{2} & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -\sqrt{2} & -1 \end{bmatrix}$

Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά παραδείγματα υπολογισμού των  $G_R(n, m)$  και  $G_C(n, m)$  χωρίς συντελεστή κανονικοποίησης

Στην εργασία αυτή εφαρμόστηκε η μέθοδος Sobel και οι μάσκες αυτού του αλγορίθμου για την εξαγωγή των ακμών. Προκειμένου βέβαια να καταλήξουμε σε αυτή τη μέθοδο ως αποτελεσματική δοκιμάσαμε πιο πριν και άλλες μεθόδους (όπως Canny Edge Detector, Roberts, Prewitt) που δεν απέδωσαν όμως τα επιθυμητά αποτελέσματα. Στη συνέχεια προχωράμε σε ανάλυση της εφαρμογής των παραπάνω μεθόδων, σε προβολή των αποτελεσμάτων της καθεμίας, σε συγκριτική μελέτη των μεθόδων αυτών μεταξύ τους και σε παρουσίαση των τελικών αποτελεσμάτων.

### Τεχνικές ανίχνευσης ακμών

#### Συντελεστής Sobel

Ο συντελεστής Sobel αποτελείται από ένα ζευγάρι 3X3 kernels συνέλιξης όπως φαίνονται παρακάτω. Ο ένας kernel είναι απλά ο άλλος περιστραμμένος κατά 90°. Τα δύο 3X3 φίλτρα εφαρμόζονται ξεχωριστά και ανεξάρτητα. Και στους δύο kernels το άθροισμα των βαρών είναι μηδέν. Η ιδέα πίσω από αυτά τα δύο φίλτρα είναι η προσέγγιση των παραγώγων των x και y αντίστοιχα. Ο συντελεστής Sobel υπολογίζει την ακμή στο σημείο (i,j), παράλληλα κάνει smoothing και δίνει έμφαση στα pixels που είναι εγγύτερα στο σημείο (i,j).

-1	0	+1
-2	0	+2
-1	0	+1

G<sub>x</sub>

+1	+2	+1
0	0	0
-1	-2	-1

G<sub>y</sub>

Αυτοί οι kernels είναι σχεδιασμένοι να αποκρίνονται μέγιστα σε ακμές οριζόντια και κάθετα σε σχέση με το πλέγμα του pixel, ένας kernel για κάθε έναν από τους δύο κάθετους προσανατολισμούς. Τόσο το G<sub>x</sub> όσο και το G<sub>y</sub> φίλτρο μπορούν να έχουν θετικές ή αρνητικές τιμές, άρα χρειάζεται να προστεθεί ένα 0.5 ώστε μια τιμή 0 να αντιστοιχεί σε μια gray τιμή, ώστε να αποφευχθεί η σύσφιξη (clamping) (στο [0...1]) αυτών των ενδιάμεσων αποτελεσμάτων.

Οι kernels μπορούν να εφαρμοστούν ξεχωριστά στην εικόνα εισόδου, για να παράγουν ξεχωριστές μετρήσεις του gradient σε κάθε προσανατολισμό (αυτά είναι τα G<sub>x</sub> και G<sub>y</sub>). Αυτά μπορούν να συνδυαστούν μαζί για να υπολογιστεί το απόλυτο μέγεθος (magnitude) του gradient σε κάθε σημείο και ο προσανατολισμός του gradient. Το μέγεθος του gradient δίνεται από τον τύπο:

$$|G| = \sqrt{G_x^2 + G_y^2}$$

Συνήθως, ένα προσεγγιστικό μέγεθος (magnitude) υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$|G|=|G_x|+|G_y|$$

που είναι πιο γρήγορο στον υπολογισμό.

Οι μάσκες  $G_x$  και  $G_y$  έχουν σχεδιαστεί να αποκρίνονται μέγιστα (maximally) σε ακμές που βρίσκονται κάθετα και οριζόντια σε σχέση με το πλέγμα των pixels (pixels-grid), μια μάσκα για κάθε ένα από τους δύο κάθετους προσανατολισμούς. Οι μάσκες μπορούν να εφαρμοστούν ξεχωριστά στην εικόνα εισόδου, ώστε να παράγουν ξεχωριστούς υπολογισμούς του gradient για κάθε προσανατολισμό.

Η γωνία προσανατολισμού της ακμής (σε σχέση με το πλέγμα του pixel) δίνεται από τον τύπο:

$$\theta = \arctan(G_y/G_x)$$

Σε αυτή την περίπτωση, ο προσανατολισμός  $\theta$  λαμβάνεται για να ορίσει ότι η κατεύθυνση της μέγιστης αντίθεσης (maximum contrast) από το μαύρο προς το άσπρο πηγαίνει από τα αριστερά προς τα δεξιά στην εικόνα, και άλλες γωνίες υπολογίζονται με αντίθετη προς τη φορά του ρολογιού από αυτήν την κατεύθυνση. Συνήθως, το απόλυτο magnitude είναι η μόνη έξοδος που αντιλαμβάνεται ο χρήστης, οι δύο συνιστώσες του gradient υπολογίζονται κατάλληλα και προστίθενται σε ένα μοναδικό πέρασμα (single pass) στην εικόνα εισόδου χρησιμοποιώντας τον ψευδο-συνελκτικό συντελεστή:

$P_1$	$P_2$	$P_3$
$P_4$	$P_5$	$P_6$
$P_7$	$P_8$	$P_9$

Χρησιμοποιώντας αυτή τη μάσκα το magnitude του gradient υπολογίζεται ως:

$$|G|=|(P_1+2P_2+P_3)-(P_7+2P_8+P_9)|+|(P_3+2P_6+P_9)-(P_1+2P_4+P_7)|$$

### Περίληπτικά:

**Βήμα 1:** Υπολογισμός της εικόνας με αποθήκευση των μερικών παραγώγων εφαρμόζοντας τον αριστερό 3X3 kernel  $G_x$  στην αρχική εικόνα εισόδου

**Βήμα 2:** Υπολογισμός της εικόνας με αποθήκευση των μερικών παραγώγων εφαρμόζοντας το δεξιό 3X3 kernel  $G_y$  στην αρχική εικόνα εισόδου

**Βήμα 3:** Υπολογισμός του gradient magnitude και theta

Δύο επιπλέον πράγματα που πρέπει να σημειωθούν για το Sobel φίλτρο: (α) τόσο οι kernels είναι διαχωρίσιμοι, όσο και μπορούν να διασπαστούν σε ασυνεχείς (disjoint) x και y περάσματα (passes), (β) ολόκληρο το φίλτρο μπορεί να υλοποιηθεί πραγματικά σε ένα μοναδικό πέρασμα (single pass), με ένα σχετικά όμοια, άμεσο τρόπο.

## Συντελεστής Robert's Cross

Ο συντελεστής Robert's Cross παρουσιάζει ένα απλό, γρήγορο στον υπολογισμό, 2D υπολογισμό του gradient μιας εικόνας. Έτσι, υπογραμμίζει περιοχές υψηλού χωρικού gradient που συνήθως αντιστοιχεί σε ακμές. Στην πιο συνηθισμένη του χρήση, η είσοδος στο συντελεστή είναι μια grayscale εικόνα, όπως και στην έξοδό του. Οι τιμές των pixels σε κάθε σημείο στην έξοδο αντιπροσωπεύει το εκτιμώμενο απόλυτο μέγεθος (magnitude) του χωρικού gradient της εικόνας εισόδου σε αυτό το σημείο. Ο συντελεστής αποτελείται από ένα ζευγάρι 2X2 συντελεστών συνέλιξης (convolution kernels) όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα. Ο ένας kernel απλά περιστρέφεται κατά 90°, κάτι που μοιάζει πολύ με το συντελεστή Sobel, υπολογίζει την ακμή στο παρεμβαλλόμενο σημείο  $(i+1/2, j+1/2)$ .

+1	0
0	-1

$G_x$

0	+1
-1	0

$G_y$

Αυτοί οι συντελεστές είναι σχεδιασμένοι να ανταποκρίνονται μέγιστα σε ακμές που βρίσκονται σε 45° προς το πλέγμα του pixel, ένας kernel για κάθε έναν από τους δύο κάθετους προσανατολισμούς. Οι kernels μπορούν να εφαρμοστούν ξεχωριστά στην εικόνα εισόδου, για να παράγουν ξεχωριστές μετρήσεις του gradient σε κάθε προσανατολισμό (αυτά είναι τα  $G_x$  και  $G_y$ ). Αυτά μπορούν να συνδυαστούν μαζί για να υπολογιστεί το απόλυτο μέγεθος (magnitude) του gradient σε κάθε σημείο και ο προσανατολισμός του gradient. Το μέγεθος του gradient δίνεται από τον τύπο:

$$|G| = \sqrt{G_x^2 + G_y^2}$$

Συνήθως, ένα προσεγγιστικό μέγεθος (magnitude) υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$|G| = |G_x| + |G_y|$$

που είναι πιο γρήγορο στον υπολογισμό.

Η γωνία προσανατολισμού της ακμής (σε σχέση με το πλέγμα του pixel) δίνεται από τον τύπο:

$$\theta = \arctan(G_y/G_x) - 3\pi/4$$

Σε αυτή την περίπτωση, ο προσανατολισμός 0 λαμβάνεται για να ορίσει ότι η κατεύθυνση της μέγιστης αντίθεσης (maximum contrast) από το μαύρο προς το άσπρο πηγαίνει από τα αριστερά προς τα δεξιά στην εικόνα, και άλλες γωνίες υπολογίζονται με αντίθετη προς τη φορά του ρολογιού από αυτήν την κατεύθυνση. Συνήθως, το απόλυτο magnitude είναι η μόνη έξοδος που αντιλαμβάνεται ο χρήστης, οι δύο συνιστώσες του gradient υπολογίζονται κατάλληλα και προστίθενται σε ένα μοναδικό πέρασμα (single pass) στην εικόνα εισόδου χρησιμοποιώντας τον ψευδο-συνελικτικό συντελεστή:

$P_1$	$P_2$
$P_3$	$P_4$

Χρησιμοποιώντας αυτή τη μάσκα το magnitude του gradient υπολογίζεται ως:

$$|G| = |P_1 - P_4| + |P_2 - P_3|$$

### Συντελεστής Prewitt

Ο συντελεστής Prewitt είναι παρόμοιος με το συντελεστή Sobel, αλλά δε δίνει έμφαση στα pixels, και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση κάθετα και οριζόντια ακμών σε μια εικόνα.

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -1 & 0 & +1 \\ -1 & 0 & +1 \end{bmatrix} \quad G_y = \begin{bmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ +1 & +1 & +1 \end{bmatrix}$$

Το βασικό κριτήριο για χρήση του ανιχνευτή ακμών Prewitt σε ψηφιακές εικόνες είναι η εικόνα να περιέχει απότομη μετάβαση έντασης και να περιέχει και χαμηλό θόρυβο τύπου Poisson. Όταν εφαρμόζεται ο Prewitt edge detector η εικόνα συνελίσσεται με ένα σύνολο από kernels συνέλιξης καθένας από τους οποίους είναι ευαίσθητος σε ακμές με διαφορετικό προσανατολισμό. Για κάθε pixel το τοπικό magnitude gradient της ακμής εκτιμάται από τη μέγιστη απόκριση αυτών των kernels σε αυτή τη θέση του pixel:

$$|G| = \max(|G_i|) \quad i=1 \text{ έως } n$$

όπου  $G_i$  είναι η απόκριση του kernel  $i$  στη συγκεκριμένη θέση pixel και  $n$  είναι ο αριθμός των kernels συνέλιξης. Ο τοπικός προσανατολισμός της ακμής εκτιμάται από τον προσανατολισμό του kernel που αποφέρει τη μέγιστη απόκριση. Ο Prewitt διαθέτει 8 kernels συνέλιξης, δύο από τους οποίους είναι:

-1	+1	+1	+1	+1	+1
-1	-2	+1	-1	-2	+1
-1	+1	+1	-1	-1	+1

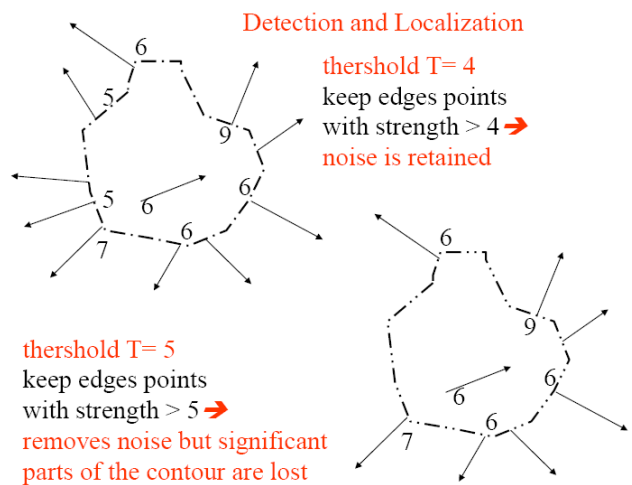
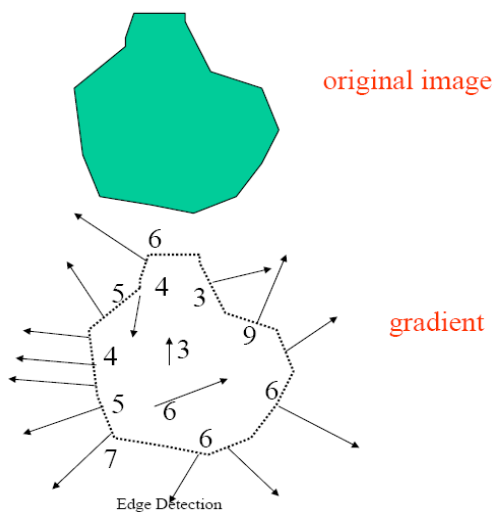
Ολόκληρο το σύνολο των 8 kernels δημιουργείται λαμβάνοντας έναν από τους kernels και περιστρέφοντας τους συντελεστές του κυκλικά. Καθένας από τους επαγόμενους kernels είναι ευαίσθητος σε έναν προσανατολισμό ακμής με εύρος από 0 μοίρες έως 315 μοίρες με βήμα 45 μοίρες όπου οι 0 μοίρες αντιστοιχούν σε κάθετη ακμή. Η μέγιστη απόκριση  $|G|$  για κάθε pixel είναι η τιμή του αντίστοιχου pixel στην εικόνα του magnitude εξόδου. Οι τιμές για την εικόνα του προσανατολισμού εξόδου, βρίσκονται ανάμεσα στο διάστημα 1 και 8 ανάλογα σε ποιον από τους 8 kernels δημιουργείται η μέγιστη απόκριση. Μετά τον υπολογισμό του magnitude της πρώτης παραγωγού με τη συνέλιξη της εικόνας με τη μάσκα, πρέπει να αναγνωριστούν εκείνα τα pixels που αντιστοιχούν σε ακμή.

Ο ευκολότερος τρόπος είναι να τεθεί ένα κατώφλι στο gradient της εικόνας, θεωρώντας ότι όλα τα pixels που έχουν τοπικό gradient παραπάνω από το κατώφλι αντιπροσωπεύουν μια ακμή. Όσο χαμηλότερο είναι το gradient, τόσο πιο πολλές γραμμές ανιχνεύονται και τα αποτελέσματα γίνονται ολοένα και πιο ευπαθή στο θόρυβο και στην επιλογή άσχετων χαρακτηριστικών από την εικόνα. Αντιθέτως, ένα υψηλό κατώφλι μπορεί να παραλείπει λεπτές γραμμές. Συνήθως η επιλογή του κατωφλίου ακολουθεί ανάλυση του ιστογράμματος του gradient της εικόνας. τα πλεονεκτήματα της χρήσης του Prewitt edge detector είναι η απλότητα της υλοποίησής του, το μειωμένο υπολογιστικό του κόστος, σε σύγκριση με άλλους ανιχνευτές ακμών (π.χ LoG, Canny).

Η 3X3 μάσκα ως μάσκα μεγαλύτερου μεγέθους παρέχει καλή εφαρμογή smoothing και μειώνει το θόρυβο σε ένα καλό επίπεδο. Άρα ο Prewitt edge detector είναι ένας κατάλληλος τρόπος υπολογισμού του magnitude και του προσανατολισμού μιας ακμής. Αυτή η μέθοδος ανίχνευσης ακμής ονομάζεται επίσης και edge template matching επειδή ένα σύνολο πρότυπων ακμών αντιπαραβάλλεται στην εικόνα και καθένα αντιπροσωπεύει μια ακμή με συγκεκριμένο προσανατολισμό. Το magnitude και ο προσανατολισμός ενός pixel προσδιορίζεται από το πρότυπο που ταιριάζει καλύτερα στην τοπική περιοχή του pixel.

## Βήματα που ακολουθούνται κατά την ανίχνευση ακμών (γενικά)

1. Φιλτράρισμα της εικόνας που εξαλείφει το θόρυβο και βελτιώνει τη λειτουργία της διαδικασίας ανίχνευσης ακμών. Υπάρχει ένα trade off ανάμεσα στην ένταση της ακμής και στη μείωση του θορύβου, αφού το φιλτράρισμα ομαλοποιεί (smooth) και τις ακμές
2. Ενίσχυση των ακμών με εφαρμογή συντελεστή Gradient
3. Η ανίχνευση διατηρεί μόνο τα σημεία ακμών και εξαλείφει τα λάθος σημεία ακμών (διατηρούνται τα σημεία με έντονο περιεχόμενο ακμών, που βρίσκονται πάνω από το κατώφλι T)
4. Εντοπισμός, υπολογισμός του εντοπισμού και του προσανατολισμού της ακμής



## Προσδιορισμός ακμών με τη χρήση δεύτερου βαθμού παραγώγων

Όπως και στην περίπτωση των πρώτων παραγώγων, ο προσδιορισμός ακμών με τη βοήθεια των παραγώγων δεύτερου βαθμού βασίζεται στην αναζήτηση και την εύρεση σημαντικής διαφοροποίησης των δεύτερου βαθμού παραγώγων. Δύο είδη μεθόδων ανήκουν στην κατηγορία αυτή και είναι οι μέθοδοι που βασίζονται στο συντελεστή Laplace και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν κατευθυνόμενες ως προς τη διεύθυνση δεύτερου βαθμού παραγώγους.

### Μέθοδος με χρήση του τελεστή Laplace

Στο συνεχές πεδίο, η Laplacian μιας συνάρτησης  $f(x, y)$  καθορίζεται από τη σχέση:

$$\nabla^2 f(x, y)$$

όπου

$$\nabla^2 f(x, y) = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2}$$

Η Laplacian συνάρτηση ισούται με μηδέν αν η  $f(x,y)$  είναι μια σταθερή ή γραμμική συνάρτηση. Σε διαφορετική περίπτωση η Laplacian συνάρτηση έχει διασκελισμό του μηδενός, στη θέση όπου έχουμε τοπικό ακρότατο της  $f'(x,y)$ . Τα σημεία όπου έχουμε διασκελισμό του μηδενός τα θεωρούμε ως σημεία ακμών. Η τεχνική αυτή δίνει ένα μεγάλο αριθμό σημείων ακμών διότι ακόμα και μια μικρή κυμάτωση της πρώτης παραγώγου είναι αρκετή για να δώσει ένα σημείο ακμής. Λόγω αυτής της ευαισθησίας είναι απαραίτητη η προ-επεξεργασία της εικόνας που περιέχει θόρυβο με μια μέθοδο μείωσης του θορύβου.

Για τη διακριτή περίπτωση μιας εικόνας  $f(n,m)$ , οι μερικές παράγωγοι της δεύτερης τάξης μπορούν να προσεγγισθούν από δεύτερου βαθμού διαφορές. Οι διαφορές αυτές μπορούν να υπολογιστούν με τη συνέλιξη της  $f(n,m)$  με την κρουστική απόκριση ενός δισδιάστατου φίλτρου  $h(n,m)$ , δηλαδή

$$G(n,m) = f(n,m) * h(n,m)$$

Μπορούμε να δεχθούμε ότι η παραπάνω σχέση ισχύει όταν το φίλτρο είναι ένα γραμμικό FIR και η  $h(n,m)$  έχει τη μορφή (1) του παρακάτω πίνακα. Στον ίδιο πίνακα δίνονται και άλλες μάσκες για τον προσδιορισμό του  $G(n,m)$ , οι οποίες έχουν προκύψει λαμβάνοντας με διαφορετικό τρόπο τις δεύτερου βαθμού διαφορές.

(1)	(2)	(3)
$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -4 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & -8 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} -1 & 2 & -1 \\ 2 & -4 & 2 \\ -1 & 2 & -1 \end{bmatrix}$

Εφαρμόζοντας τη μάσκα (1) σε μια εικόνα μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι, η μέθοδος αυτή δίνει συνεχείς ακμές και συνεπώς δεν είναι αναγκαία η συνδυασμένη εφαρμογή αλγορίθμων λέπτυνσης και αλγορίθμων ακολούθησης καμπυλών. Όμως, η επιλογή όλων των σημείων που έχουν διασκελισμό του μηδενός οδηγεί σε ένα μεγάλο πλήθος ακμών, πολλά από τα οποία είναι λανθασμένα ή δεν απαιτούνται. Ένας τρόπος για να βελτιώσουμε τα αποτελέσματα είναι να καθορίσουμε συνθήκες που επιπρόσθετα θα πρέπει να ικανοποιούνται ώστε να χαρακτηριστεί ένα σημείο ως σημείο ακμής. Μια τέτοια συνθήκη αναφέρεται στον προσδιορισμό και τον έλεγχο τοπικά της μεταβλητότητας της εικόνας. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, απαιτούμε τοπικά η μεταβλητότητα  $\sigma^2(n,m)$  να είναι μεγαλύτερη από μια τιμή κατωφλίου ώστε να χαρακτηρίσουμε ένα σημείο με διασκελισμό του μηδενός ως ένα σημείο ακμής.

### Συντελεστής Laplacian of Gaussian (LoG)

Όπως αναλύθηκε προηγουμένως, η Laplacian είναι ευαίσθητη στο θόρυβο με αποτέλεσμα από την εφαρμογή της να προκύπτουν πολλές ανεπιθύμητες ακμές. Μια τεχνική που μπορούμε να εφαρμόσουμε για να ελαχιστοποιήσουμε το πρόβλημα αυτό είναι το φιλτράρισμα της αρχικής εικόνας με ένα δισδιάστατο φίλτρο Gauss. Η τεχνική αυτή αποτελείται από τα ακόλουθα στάδια:

- 1) Συνέλιξη της αρχικής εικόνας  $f$  με μια δισδιάστατη Gaussian συνάρτηση  $G$ .
- 2) Εφαρμογή στην εικόνα που προέκυψε μιας Laplacian από όπου προκύπτει μια εικόνα  $L$ .
- 3) Εικονοστοιχεία ακμών είναι αυτά της εικόνας  $L$  για τα οποία υπάρχει διασκελισμός του μηδενός.

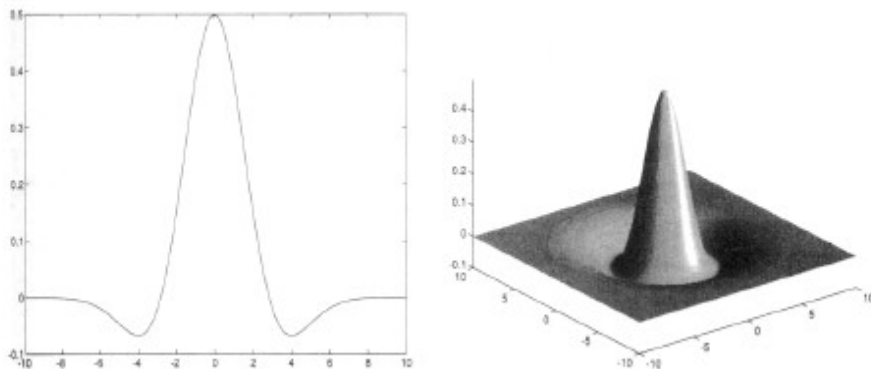
Τα στάδια 1 και 2 μπορούν να ενοποιηθούν με τη συνέλιξη της αρχικής εικόνας με μια μάσκα που προκύπτει ως αποτέλεσμα της εφαρμογής της Laplacian στην Gaussian. Συγκεκριμένα, λόγω της γραμμικότητας των Laplacian και Gaussian φίλτρων μπορούμε να γράψουμε ότι:

$$\nabla^2(G * f) = (\nabla^2 G) * f$$

Το παραπάνω φίλτρο είναι γνωστό ως φίλτρο LoG. Στην πράξη το φίλτρο LoG εφαρμόζεται σε ένα βήμα εφαρμόζοντας το φίλτρο:

$$\nabla^2 G(r) = -\frac{1}{\pi\sigma^4} \left(1 - \frac{r^2}{2\sigma^2}\right) \exp\left(-\frac{r^2}{2\sigma^2}\right)$$

Το παρακάτω σχήμα δείχνει τη μορφή της Gaussian και του φίλτρου LoG. Λόγω της μορφής του φίλτρου αυτό ονομάζεται και Μεξικάνικο καπέλο (Mexican hat).



Εικόνα 100: Gaussian συνάρτηση και φίλτρο LoG

Το  $\sigma$  καθορίζει το πλάτος του κύριου λοβού και συνεπώς και το βαθμό εξομάλυνσης. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του  $\sigma$  τόσο ευρύτερος πρέπει να είναι ο κύριος λοβός. Όπως προκύπτει από την παραπάνω σχέση αλλά και όπως φαίνεται από το παραπάνω σχήμα το πλάτος του κύριου λοβού είναι ίσο με  $2\sqrt{2\sigma}$  που στην περίπτωση του  $\sigma=1.4$  είναι ίσο με 3.96. Το πρώτο πέρασμα από το μηδέν της συνάρτησης LoG είναι για  $r=\sqrt{2\sigma}$ .

Συνεπώς, η τιμή του  $\sigma$  πρέπει να εκλέγεται κατάλληλα και ανάλογα να καθορίζεται και το μέγεθος του παραθύρου του φίλτρου LoG. Για να έχουμε αποτελεσματική εφαρμογή του φίλτρου LoG πρέπει η διάσταση του παραθύρου να είναι μεγαλύτερη του πλάτους του κυρίου λοβού. Μια κατάλληλη διάσταση του παραθύρου μπορεί να προκύψει από τη σχέση:

$$W=2*\text{CEIL}(3\sigma)+1$$

Στην περίπτωση λοιπόν του  $\sigma=1.4$  η παραπάνω σχέση δίνει  $W=11$ , το οποίο σημαίνει ότι πρέπει να χρησιμοποιήσουμε ένα παράθυρο 11X11. Από το παράδειγμα αυτό είναι φανερό ότι η μέθοδος αυτή απαιτεί παράθυρα μεγάλων διαστάσεων με αποτέλεσμα να έχει υψηλές απαιτήσεις από πλευράς υπολογιστικού κόστους. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να μειωθεί δραστικά με κατάλληλη υλοποίηση η οποία να βασίζεται στην ιδιότητα της διαχωριστικότητας του φίλτρου LoG.

Το φίλτρο LoG έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- 1) Σε αντίθεση με άλλες τεχνικές εξαγωγής ακμών που βασίζονται σε μικρής διάστασης μάσκες, μια μεγάλη σχετικά γειτονιά του εικονοστοιχείου αναφοράς λαμβάνεται υπόψη. Όμως, η επίδραση των απομακρυσμένων εικονοστοιχείων μειώνεται ανάλογα με τη Gaussian συνάρτηση.
- 2) Η μεταβολή της τιμής της τυπικής απόκλισης δεν επιδρά στη θέση του διασκελισμού του μηδενός, αλλά καθώς η τυπική απόκλιση αυξάνει εξαλείφονται οι λιγότερο σημαντικές ακμές.

- 3) Πειράματα νευροφυσιολογίας έδειξαν ότι ο ανθρώπινος αμφιβληστροειδής εκτελεί διαδικασίες παρόμοιες με αυτές του τελεστή LoG.

Λόγω της άρτιας συμμετρίας της Gaussian και για να μην υπάρχει διασκελισμός του μηδενός σε επίπεδες επιφάνειες, το άθροισμα των συντελεστών του φίλτρου πρέπει να είναι ίσο με μηδέν. Από πλευράς υλοποίησης, μπορούμε να ακολουθήσουμε τα ακόλουθα βήματα:

- 1) Καθορίζουμε την τυπική απόκλιση  $\sigma$ .
- 2) Από τη σχέση υπολογίζουμε το μέγεθος της μάσκας.
- 3) Από τη σχέση υπολογίζουμε τις τιμές της Gaussian  $G$ .
- 4) Εξαλείφουμε μικρές τιμές της  $G$  και την κανονικοποιούμε διαιρώντας όλες τις τιμές της με το άθροισμα των τιμών της.
- 5) Υπολογίζουμε τις τιμές της LoG πολλαπλασιάζοντας μια προς μια τις τιμές του πίνακα με τις τιμές της Laplacian συνάρτησης.
- 6) Κανονικοποιούμε τον πίνακα LoG ώστε το άθροισμα των τιμών του να ισούται με το μηδέν.

Το φίλτρο LoG δίνει ένα μεγάλο πλήθος εικονοστοιχείων ως πιθανά σημεία ακμών. Ακόμα και η κατωφλίωση δεν μπορεί να δώσει το επιθυμητό αποτέλεσμα. Επιπλέον, οι διαφορετικές τιμές της τυπικής απόκλισης δίνουν διαφορετικά σημεία ακμών. Για το λόγο αυτό πολλές φορές πρέπει να συνδυάσουμε αποτελέσματα με διαφορετικές τιμές απόκλισης ώστε να καταλήξουμε σε σωστή εκτίμηση τα σημεία των ακμών. Το πρόβλημα του φιλτραρίσματος των ακμών αντιμετωπίζεται με τον έλεγχο του διασκελισμού του μηδενός. Οι τιμές της μάσκας για το φίλτρο LoG που προκύπτουν με την παραπάνω μεθοδολογία δεν είναι κατά ανάγκη ακέραιες.

Ο συντελεστής Laplacian λοιπόν, είναι ένα 2D ιστροπικό μέτρο της δεύτερης χωρικής παραγώγου της εικόνας. Ο Laplacian συντελεστής μια εικόνας υπογραμμίζει περιοχές γρήγορης αλλαγής έντασης και ως εκ τούτου συχνά χρησιμοποιείται για ανίχνευση ακμών. Ο Laplacian συντελεστής συχνά εφαρμόζεται σε μια εικόνα που έχει αρχικά ομαλοποιηθεί (smoothing) με κάτι που προσεγγίζει το Gaussian smoothing φίλτρο, ώστε να μειωθεί η ευαισθησία του σε θόρυβο. Ο παραπάνω συντελεστής λαμβάνει μια graylevel εικόνα ως είσοδο και παράγει μια άλλη graylevel εικόνα ως έξοδο. Ο Laplacian  $L(x,y)$  μιας εικόνας με ένταση pixel  $I(x,y)$  δίνεται από τον τύπο:

$$L(x, y) = \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 I}{\partial y^2}$$

Αφού η εικόνα εισόδου αντιπροσωπεύεται από ένα σύνολο διακριτών pixels, πρέπει να βρεθεί και ένας διακριτός kernel συνελίξης που να μπορεί να προσεγγίζει τη δεύτερη παράγωγο υπό τον ορισμό του Laplacian. Τρεις συνήθως χρησιμοποιούμενοι μικροί kernels φαίνονται παρακάτω:

0	1	0
1	-4	1
0	1	0

1	1	1
1	-8	1
1	1	1

-1	2	-1
2	-4	2
-1	2	-1

Επειδή αυτοί οι συντελεστές είναι προσεγγιστικά ένα μέτρο δεύτερης παραγώγου της εικόνας, είναι πολύ ευαίσθητοι στον θόρυβο. Για να αντιμετωπιστεί αυτό, η εικόνα συνήθως εξομαλύνεται αρχικά με Gaussian φιλτράρισμα πριν εφαρμοστεί το Laplacian φίλτρο. Αυτό το βήμα προ-επεξεργασίας μειώνει τον υψηλής συχνότητας θόρυβο πριν το βήμα της παραγωγής.

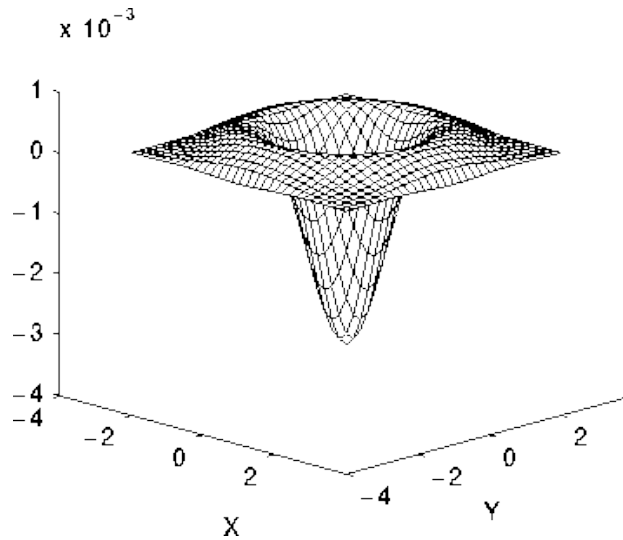
Στην πραγματικότητα, επειδή η διαδικασία της συνέλιξης είναι συνεργατική, μπορούμε να συνελίξουμε το φίλτρο του Gaussian smoothing με το Laplacian φίλτρο πριν από όλα, και μετά να συνελίξουμε το υβριδικό φίλτρο με την εικόνα ώστε να πετύχουμε το απαιτούμενο αποτέλεσμα. Ακολουθώντας αυτόν τον τρόπο πετυχαίνουμε δύο πλεονεκτήματα:

- 1) Αφού τόσο οι Gaussian όσο και οι Laplacian kernels είναι συνήθως πολύ μικρότεροι από την εικόνα, αυτή η μέθοδος συχνά απαιτεί πολλές λιγότερες αριθμητικές πράξεις.
- 2) Ο LoG kernel μπορεί να προ-υπολογιστεί ώστε να απαιτείται μόνο μια συνέλιξη να εφαρμοστεί σε run-time στην εικόνα.

Η 2D LoG συνάρτηση κεντραρισμένη στο μηδέν και με σταθερή Gaussian απόκλιση  $\sigma$  έχει τη μορφή:

$$LoG(x, y) = -\frac{1}{\pi\sigma^4} \left[ 1 - \frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2} \right] e^{-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}}$$

και φαίνεται από την παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 101: 2D LoG συνάρτηση κεντραρισμένη στο μηδέν

Η διακριτή προσέγγιση της συνάρτησης LoG με Gaussian  $\sigma=1.4$  είναι:

0	1	1	2	2	2	1	1	0
1	2	4	5	5	5	4	2	1
1	4	5	3	0	3	5	4	1
2	5	3	-12	-24	-12	3	5	2
2	5	0	-24	-40	-24	0	5	2
2	5	3	-12	-24	-12	3	5	2
1	4	5	3	0	3	5	4	1
1	2	4	5	5	5	4	2	1
0	1	1	2	2	2	1	1	0

Σημειώνουμε ότι μιας και το Gaussian φίλτρο είναι κατασκευασμένο να είναι όλο και περισσότερο στενό, ο LoG kernel γίνεται ο ίδιος όπως ο απλός Laplacian kernel. Αυτό συμβαίνει επειδή το smoothing με ένα πολύ στενό Gaussian φίλτρο ( $\sigma < 0.5$  pixels) σε ένα διακριτό πλέγμα δεν παρουσιάζει κανένα αποτέλεσμα. Ως εκ τούτου, σε ένα διακριτό πλέγμα, ο απλός Laplacian συντελεστής μπορεί να θεωρηθεί ως μια περιορισμένη περίπτωση του LoG συντελεστή για στενά Gaussian φίλτρα.

## Ο αλγόριθμος εξαγωγής ακμών του Canny (ανίχνευση κλειστών ακμών)

Ο αλγόριθμος εξαγωγής ακμών του Canny, είναι γνωστός ως ο ιδανικός ανιχνευτής ακμών. Ο αλγόριθμος εξαγωγής ακμών του Canny προτάθηκε το 1986. Οι στόχοι του Canny είναι να ενισχύσει τους πολλούς ανιχνευτές ακμών που υπάρχουν ήδη. Ο αλγόριθμος του Canny δεν είναι μια απλή τεχνική για τη βέλτιστη εξαγωγή των ακμών. Στην πραγματικότητα είναι μια βέλτιστη τεχνική ανίχνευσης και δημιουργίας ακμών. Τα κριτήρια στα οποία βασίζεται η ανάπτυξη είναι τα ακόλουθα:

(α)

### Σωστή ανίχνευση-χαμηλό επίπεδο σφάλματος:

Να ανιχνεύονται με μεγάλη πιθανότητα ακμές όταν αυτές πραγματικά υπάρχουν, αλλά και να μην αναγνωρίζονται ως σημεία ακμών σημεία που δεν ανήκουν σε ακμές. Είναι σημαντικό ακμές που υπάρχουν μέσα στην εικόνα να μην παραλείπονται, αλλά και να μην παρατηρούνται ακμές σε σημεία όπου δεν υπάρχουν.

(β)

### Εντοπισμός θέσης:

Οι ακμές που ανιχνεύονται να είναι στη σωστή χωρικά θέση, πολύ κοντά προς τις πραγματικές ακμές. Πρέπει η απόσταση ανάμεσα στα pixels ακμής που βρέθηκαν από τον canny edge detector και της πραγματικής ακμής να είναι ελάχιστη.

(γ)

### Μοναδική απόκριση σε κάθε ακμή:

Το κριτήριο αυτό απαιτεί τον αποκλεισμό της πιθανότητας μια πραγματική ακμή να δώσει περισσότερες από μια ακμές ως απόκριση. Αν και το κριτήριο αυτό ουσιαστικά υπερκαλύπτεται από το πρώτο, περιλαμβάνεται χωριστά καθώς η μαθηματική περιγραφή του πρώτου κριτηρίου δεν αποκλείει αυτήν την περίπτωση. Το κριτήριο αυτό προέκυψε επειδή τα πρώτα δύο κριτήρια δεν ήταν αρκετά ουσιαστικά για να εξαλείψουν ολοκληρωτικά την πιθανότητα πολλαπλών αποκρίσεων σε μια ακμή.

Με βάση αυτά τα κριτήρια ο Canny, αρχικά ομαλοποιεί (smoothing) την εικόνα ώστε να εξαλειφθεί ο θόρυβος. Μετά βρίσκει το radient της εικόνας ώστε να υπογραμμίσει τις περιοχές με υψηλές χωρικές παραγωγούς. Ο αλγόριθμος μετά ανιχνεύει κατά μήκος αυτών των περιοχών και αποκόπτει όσα pixels δε βρίσκονται σε maximum τιμή (nonmaximum suppression). Το διάνυσμα gradient μειώνεται περαιτέρω μέσω διαδικασίας υστέρησης. Η υστέρηση χρησιμοποιείται για να ανιχνεύσει κατά μήκος των εναπομείναντων pixels που δεν έχουν αποκοπεί. Η υστέρηση χρησιμοποιεί δύο κατώφλια και αν το magnitude είναι παρακάτω από το πρώτο κατώφλι, το θέτει ίσο με μηδέν (γίνεται μη-ακμή). Αν το magnitude είναι παραπάνω από το υψηλό κατώφλι, θεωρείται ως ακμή, το pixel αυτό. Αν το magnitude είναι ανάμεσα στα δύο κατώφλια, τότε τίθεται ίσο με μηδέν, εκτός αν υπάρχει μονοπάτι (path) από αυτό το pixel σε ένα pixel με gradient παραπάνω από  $T_2$ .

Η μέθοδος ανίχνευσης των ακμών με τη μέθοδο του Canny αποτελείται από την ακόλουθη σειρά διεργασιών που εκτελούνται σειριακά:

### Βήμα 1ο: Φιλτράρισμα της εικόνας

Στο πρώτο βήμα φιλτράρεται ο θόρυβος που υπάρχει στην αρχική εικόνα πριν γίνει ο εντοπισμός και η ανίχνευση των ακμών. Και επειδή το Gaussian φίλτρο μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας μια απλή μάσκα, χρησιμοποιείται αποκλειστικά στον canny αλγόριθμο. Μόλις υπολογιστεί μια κατάλληλη μάσκα, το Gaussian smoothing μπορεί να εφαρμοστεί χρησιμοποιώντας βασικές μεθόδους συνέλιξης. Μια μάσκα συνέλιξης είναι συνήθως πολύ μικρότερη από ότι η πραγματική εικόνα. Ως αποτέλεσμα, η μάσκα ολισθαίνει πάνω στην εικόνα, χειριζόμενη ένα τετράγωνο από pixels κάθε φορά. Όσο μεγαλύτερο το εύρος της Gaussian μάσκας, τόσο χαμηλότερη ευαισθησία στο θόρυβο παρουσιάζει ο detector. Ο εντοπισμός σφάλματος στις ανιχνευμένες ακμές αυξάνει επίσης ελαφρώς όσο το Gaussian εύρος αυξάνεται.

Φιλτράρισμα της εικόνας με ένα φίλτρο Gaussian μηδενικής μέσης τιμής και καθορισμένης τυπικής απόκλισης  $\sigma$  (αυτή η κίνηση βελτιώνει το trade-off ανάμεσα στο φιλτράρισμα του θορύβου και τον εντοπισμό των ακμών). Όπως έχουμε αναλύσει παραπάνω, η δισδιάστατη μορφή του φίλτρου Gaussian περιγράφεται από τη σχέση:

$$G(x, y) = e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}}$$

Η συνάρτηση  $G(x, y)$  ικανοποιεί την ιδιότητα της διαχωριστικότητας, δηλαδή

$$G(x, y) = e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} e^{-\frac{y^2}{2\sigma^2}} = G(x) G(y)$$

Συνεπώς, το φιλτράρισμα της εικόνας μπορεί να γίνει σε δύο βήματα, δηλαδή πρώτα ως προς τον άξονα  $x$  και κατόπιν ως προς τον άξονα  $y$ . Ισχύει δηλαδή η σχέση:

$$I(x, y) * G(x, y) = (I(x, y) * G(x)) * G(y)$$

οπότε

$$I_G(x, y) = (I(x, y) * G(x)) * G(y)$$

Δηλαδή μπορούμε να βρούμε πρώτα τη συνέλιξη της εικόνας με το μονοδιάστατο οριζόντιο φίλτρο  $G(x)$  και κατόπιν το αποτέλεσμα να το συνελίξουμε με το κατακόρυφο φίλτρο  $G(y)$ . Σημειώνεται ότι για ένα φίλτρο Gaussian διαστάσεων  $k \times k$  η δισδιάστατη συνέλιξη απαιτεί  $k^2$  πολλαπλασιασμούς και  $k^2-1$  προσθέσεις ανά εικονοστοιχείο, ενώ η εφαρμογή της μεθόδου της διαχωριστικότητας μειώνει τον αριθμό των πράξεων σε  $2k$  πολλαπλασιασμούς και  $2k-1$  προσθέσεις ανά εικονοστοιχείο.

## Βήμα 2ο: Προσδιορισμός της κλίσης (Gradient) της εικόνας $I_G(x, y)$

Μετά το smoothing της εικόνας και την εξάλειψη του θορύβου, το επόμενο βήμα είναι να βρεθούν οι ακμές μέσω του υπολογισμού του gradient της εικόνας. Μετά, το προσεγγιστικά απόλυτο gradient magnitude κάθε ακμής είναι δυνατόν να υπολογιστεί.

Αυτό μπορεί να γίνει με τη χρησιμοποίηση μασκών, όπως του Sobel. Λεπταίνουμε (thin) τις ακμές εφαρμόζοντας μη ελάχιστα (non-maxima) στο gradient. Οι ακμές εντοπίζονται εφαρμόζοντας double thresholding. Σε αυτό το σημείο γίνεται συνέλιξη της εικόνας με τους παρακάτω πίνακες:

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & 1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix}$$

$$G_y = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ -1 & -1 \end{bmatrix}$$

Ο προσανατολισμός κάθε ακμής υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το gradient στις  $x$  και  $y$  κατευθύνσεις. Ωστόσο, ένα σφάλμα μπορεί να γενικευθεί όταν το  $\text{sum}X$  είναι ίσο με μηδέν. Άρα στον κώδικα, πρέπει να υπάρχει ένα περιορισμός, όποτε συμβαίνει αυτό. Όποτε το gradient στην  $x$  κατεύθυνση είναι ίσο με μηδέν, η κατεύθυνση της ακμής πρέπει να είναι ίση με 90 μοίρες ή 0 μοίρες, ανάλογα με την τιμή του gradient στην  $y$  κατεύθυνση. Αν ο  $G_y$  έχει μια τιμή μηδέν, η κατεύθυνση της ακμής θα ισούται με 0 μοίρες, αλλιώς η κατεύθυνση της ακμής θα ισούται με 90 μοίρες.

Αν λοιπόν  $I_{Gx}$  και  $I_{Gy}$  οι εικόνες που προκύπτουν από την εφαρμογή της οριζόντιας και κατακόρυφης μάσκας, τότε προσδιορίζουμε τα πλάτη και τις κλίσεις σε κάθε εικονοστοιχείο από τις σχέσεις:

$$E_s = \sqrt{I_{Gx}^2 + I_{Gy}^2}$$

$$E_s = \tan^{-1}\left(\frac{I_{Gy}}{I_{Gx}}\right)$$

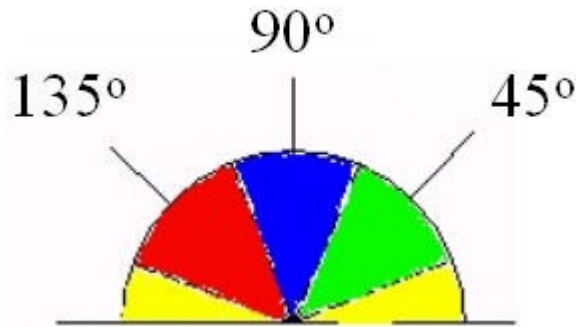
Μόλις είναι γνωστή η κατεύθυνση της ακμής, το επόμενο βήμα είναι να συσχετισθεί η κατεύθυνση της ακμής με την κατεύθυνση που εντοπίζεται στην εικόνα.

Άρα αν τα pixels μια 5x5 εικόνας είναι ευθυγραμμισμένα όπως παρακάτω:

X	X	X	X	X
X	X	X	X	X
X	X	a	X	X
X	X	X	X	X
X	X	X	X	X

τότε, φαίνεται ότι κοιτάζοντας στο pixel  $a$  υπάρχουν μόνο 4 πιθανές κατευθύνσεις όταν περιγράφονται τα περιβάλλοντα pixels – 0 μοίρες (στην οριζόντια κατεύθυνση), 45 μοίρες (κατά μήκος της θετικής διαγωνίου), 90 μοίρες (στην κάθετη κατεύθυνση) ή 135 μοίρες (κατά μήκος της αρνητικής διαγωνίου).

Άρα, τώρα ο προσανατολισμός της ακμής πρέπει να αναλυθεί σε μια από αυτές τις 4 κατευθύνσεις, ανάλογα ποια κατεύθυνση είναι εγγύτερη (αν η γωνία προσανατολισμού έχει υπολογιστεί 3 μοίρες, γίνεται 0 μοίρες). Το σκεφτόμαστε αυτό σαν να έχουμε ένα ημικύκλιο και να το έχουμε διαιρέσει σε 5 περιοχές:



Εικόνα 102: Προσανατολισμός ακμής

Επομένως, κάθε κατεύθυνση ακμής που βρίσκεται εντός του κίτρινου εύρους (0 έως 22.5 και 157.5 έως 180 μοίρες) τίθεται ίση με 0 μοίρες. Κάθε κατεύθυνση ακμής που βρίσκεται εντός του πράσινου εύρους (22.5 έως 67.5) τίθεται ίση με 45 μοίρες. Κάθε κατεύθυνση ακμής που βρίσκεται εντός του μπλε εύρους (67.5 έως 112.5 μοίρες) τίθεται ίση με 90 μοίρες. Και τέλος, κάθε κατεύθυνση ακμής που βρίσκεται εντός του κόκκινου εύρους (112.5 έως 157.5 μοίρες) τίθεται ίση με 135 μοίρες.

### Βήμα 3ο: Καταστολή των μη μέγιστων τιμών (Non – maximum suppression)

Μετά την αναγνώριση της κατεύθυνσης των ακμών, εφαρμόζεται non-maximum suppression. Η διαδικασία αυτή χρησιμοποιείται για να εντοπίζει κατά μήκος της ακμής κατά την ανίχνευση ακμής και αποκόπτει κάθε τιμή pixel (το θέτει ίσο με 0) και δεν θεωρείται ως ακμή. Αυτό δίνει μια λεπτή γραμμή στην εικόνα εξόδου.

Στο βήμα αυτό απαλείφουμε από την  $E_s$  ως θέσεις ακμών εκείνες που τοπικά έχουν μικρότερη τιμή. Αναφερόμενοι στο παρακάτω σχήμα, μπορούμε να πούμε ότι εικονοστοιχείο  $P$  καθορίζεται ως εικονοστοιχείο ακμής αν το μέτρο της κλίσης του είναι μεγαλύτερο από το μέσο πλάτος των κλίσεων στις περιοχές  $A$  και  $B$ . Σημειώνεται ότι η εικονιζόμενη ευθεία αντιστοιχεί στη κλίση του εικονοστοιχείου  $P$ . Αντί για το μέσο πλάτος μπορούμε να θεωρήσουμε την τιμή της κλίσης στις περιοχές  $A$  και  $B$  όπως αυτό μπορεί να εκτιμηθεί με γραμμική παρεμβολή από τις τιμές των κλίσεων στα δύο γειτονικά εικονοστοιχεία των περιοχών. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται το φιλτράρισμα και η λέπτυνση των ακμών.

#### Βήμα 4ο: Κατωφλίωση υστέρησης (Hysteresis thresholding)

Η τελευταία διεργασία είναι η κατωφλίωση της εικόνας με υστέρηση και χρησιμοποιείται ως μέσο για τη μείωση των ραβδώσεων. Οι ραβδώσεις είναι η διάλυση του περιγράμματος ακμών που προκαλούνται από το συντελεστή εξόδου με διακυμάνσεις παραπάνω και παρακάτω του κατώφλιου. Αν ένα μοναδικό κατώφλι,  $T_1$  εφαρμόζεται στην εικόνα, και μια ακμή έχει μέση τιμή gradient magnitude ίση με  $T_1$ , τότε εξαιτίας του θορύβου, θα υπάρχουν περιπτώσεις όπου η ακμή θα πέφτει κάτω από το κατώφλι. Ισοδύναμα, θα επεκταθεί παραπάνω από το κατώφλι κάνοντας μια ακμή να μοιάζει με διακεκομμένη γραμμή. Για να αποφευχθεί αυτό, η υστέρηση χρησιμοποιεί δύο κατώφλια, ένα υψηλό και ένα χαμηλό. Κάθε pixel στην εικόνα που έχει τιμή μεγαλύτερη από  $T_1$  θεωρείται ως pixel ακμής και αμέσως σημειώνεται ως τέτοιο. Μετά, κάθε pixel που συνδέεται με αυτό το pixel ακμής και που έχει τιμή μεγαλύτερη από  $T_2$  επίσης συγκαταλέγεται στα pixels ακμής. Αν θέλουμε να ακολουθήσουμε μια ακμή, χρειαζόμαστε ένα gradient  $T_2$  για να ξεκινήσουμε, αλλά δε θα σταματήσουμε ώσπου να πετύχουμε ένα gradient χαμηλότερο από  $T_1$ .

Η τεχνική αυτή στοχεύει στην παραπέρα μείωση των εικονοστοιχείων των ακμών της εικόνας που προέκυψαν μέχρι αυτό το βήμα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται δυο τιμές κατώφλιου  $T_1$  και  $T_2$ , με  $T_1 < T_2$ . Η διαδικασία αυτή ξεκινά με την εύρεση ενός πρώτου εικονοστοιχείου με κλίση μεγαλύτερη από  $T_2$ . Στη συνέχεια προχωρούμε διαδοχικά στα γειτονικά συνδεδεμένα εικονοστοιχεία έως ότου βρούμε κάποιο με κλίση μικρότερη από  $T_1$ . Η κατωφλίωση αυτή γίνεται με τη χρησιμοποίηση του κριτηρίου της ελάχιστης και της μέγιστης φωτεινότητας στην εικόνα. Με άλλα λόγια, για ένα δεδομένο εικονοστοιχείο, εάν το μέγεθος της κλίσης του είναι κάτω από το  $T_1$ , τότε αυτό τίθεται ίσο με μηδέν.

Εάν η κλίση είναι τουλάχιστον  $T_2$  το εικονοστοιχείο παραμένει ως έχει.

Εάν η κλίση είναι μεταξύ  $T_1$  και  $T_2$ , τότε η τιμή της κλίσης τίθεται ίση με μηδέν εκτός αν υπάρχει μια διαδρομή από αυτό το εικονοστοιχείο σε ένα εικονοστοιχείο με μια κλίση μεγαλύτερη από το  $T_2$ .

Η διαδρομή πρέπει να αποτελείται εξ ολοκλήρου από εικονοστοιχεία που να έχουν κλίση τουλάχιστον ίση με την  $T_1$ . Η διαδρομή μπορεί να περιλάβει και τις διαγώνιες κινήσεις όπως καθορίζεται από την 8-συνδετικότητα. Η διαδικασία της κατωφλίωσης συνεχίζεται έως ότου εξαντληθούν όλα τα εικονοστοιχεία της εικόνας. Τελικά, μετά την κατωφλίωση προκύπτει η τελική εικόνα με συνεχείς ακμές η οποία είναι και σε δυαδική μορφή.

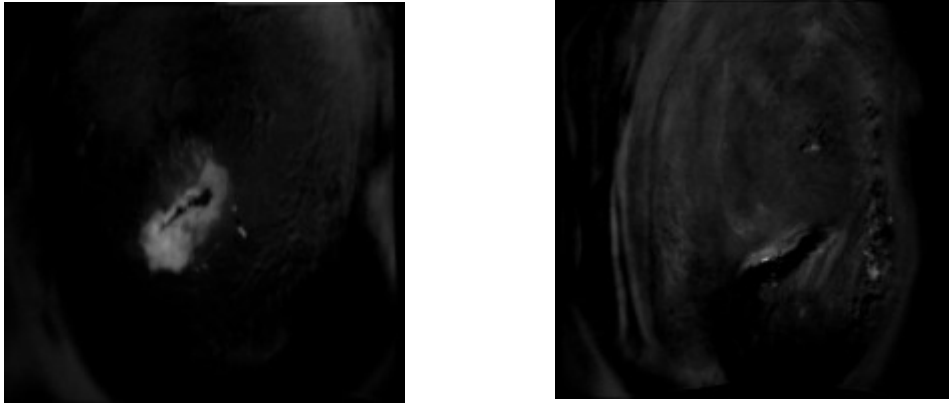
Η μέθοδος του Canny είναι ίσως ο πλέον ισχυρός και περισσότερο χρησιμοποιούμενος αλγόριθμος εξαγωγής ακμών. Όμως, έχει ορισμένες μεταβλητές που πρέπει να προκαθορισθούν: το μέγεθος του παραθύρου για το φίλτρο Gaussian, την τυπική απόκλιση  $\sigma$  και τα δύο κατώφλια  $T_1$  και  $T_2$ .

## Η επίδοση των αλγορίθμων ανίχνευσης ακμών (σύγκριση των μεθόδων)

1. Αλγόριθμοι βασισμένοι στην έννοια του gradient όπως το φίλτρο Prewitt για παράδειγμα, έχουν ένα κύριο μειονέκτημα τη μεγάλη ευαισθησία στο θόρυβο. Το μέγεθος του φίλτρου kernel και οι συντελεστές είναι σταθερά και δεν μπορούν να προσαρμοστούν σε μια δεδομένη εικόνα. Ένας προσαρμοστικός αλγόριθμος ανίχνευσης ακμών είναι αναγκαίο να παρέχει μια αυτοδύναμη λύση που να είναι προσαρμόσιμη σε ποικίλα επίπεδα θορύβου, ώστε να είναι δυνατόν να διαχωριστεί το έγκυρο περιεχόμενο της εικόνας από οπτικά αντικείμενα που έχουν εισαχθεί λόγω θορύβου.
2. Η επίδοση του αλγορίθμου Canny εξαρτάται κυρίως από τις ρυθμιζόμενες παραμέτρους,  $\sigma$  που είναι η βασική διακύμανση για το Gaussian φίλτρο, και οι τιμές κατωφλίου  $T_1$  και  $T_2$ , το  $\sigma$  επίσης καθορίζει το μέγεθος του Gaussian φίλτρου. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του  $\sigma$ , τόσο μεγαλύτερο γίνεται και το μέγεθος του Gaussian φίλτρου. Αυτό συνεπάγεται, περισσότερο θόλωμα (blurring), απαραίτητο για θορυβώδεις εικόνες, καθώς και ανίχνευση μεγαλύτερων ακμών. Όπως είναι αναμενόμενο, όσο μεγαλύτερη είναι η κλίμακα του Gaussian, τόσο λιγότερο ακριβής είναι ο εντοπισμός μιας ακμής. Μικρότερες τιμές του  $\sigma$  επάγουν ένα μικρότερο Gaussian φίλτρο που περιορίζει το μέγεθος του θολώματος (blurring), διατηρώντας καλύτερα τις ακμές της εικόνας. Ο χρήστης μπορεί να ρυθμίσει τον αλγόριθμο κανονίζοντας αυτές τις παραμέτρους ώστε να προσαρμόζεται σε διαφορετικά περιβάλλοντα.
3. Ο αλγόριθμος ανίχνευσης ακμών Canny είναι υπολογιστικά πιο “δαπανηρός” συγκρινόμενος με τους συντελεστές Sobel, Robert’s και Prewitt. Ωστόσο, ο αλγόριθμος ανίχνευσης ακμών Canny παρουσιάζει καλύτερες επιδόσεις από ότι όλοι οι παραπάνω συντελεστές κάτω από όλες σχεδόν τις συνθήκες.
4. Ο τελεστής που επηρεάζεται περισσότερο από την ύπαρξη θορύβου (οποιοδήποτε είδους) σε μια εικόνα είναι ο τελεστής Sobel, ενώ λιγότερο επηρεάζεται ο τελεστής Laplace.
5. Σε σύγκριση των μεθόδων ανίχνευσης ακμών των Sobel, LoG και Canny edge detectors έχουμε να αναφέρουμε τα παρακάτω. Τα αποτελέσματα μια εικόνας μετά τη μέθοδο Sobel αποκλίνουν από το εξεταζόμενο αντικείμενο. Το αποτέλεσμα του LoG είναι κάπως καλύτερο από το αποτέλεσμα του Sobel, και ακόμα καλύτερο όταν ορίζονται τιμές για τις παραμέτρους του και δε χρησιμοποιούνται απευθείας οι από προεπιλογή τιμές. Αλλά και αυτή η μέθοδος δεν παύει να υστερεί στην ανίχνευση κάποιων λεπτομερειών-ακμών στην εικόνα. Η μέθοδος canny είναι αρκετά καλύτερη ως προς τα άλλα δύο αποτελέσματα. Ανιχνεύει καθαρά ακμές και παράγει τον πιο ξεκάθαρο χάρτη ακμών.

Στο σημείο αυτό θα παραθέσουμε δύο χαρακτηριστικές εικόνες μιας true positive και μιας true negative του νοσοκομείου Αλεξάνδρα όπως προέκυψαν μετά την εφαρμογή σε αυτές των παραπάνω edge detectors (canny, laplace, prewitt, roberts και sobel).

Οι εικόνες που χρησιμοποιήσαμε ήταν για τις ασθενείς 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative):



Εικόνα 103: subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές edge detectors

Οι εικόνες που προκύπτουν μετά την εφαρμογή των edge detectors: canny, laplace, prewitt, roberts και sobel είναι:



Εικόνα 104: Μετά τον canny edge detector



Εικόνα 105: Μετά τον laplace (log) edge detector



Εικόνα 106: Μετά τον prewitt edge detector



Εικόνα 107: Μετά τον roberts edge detector



Εικόνα 108: Μετά τον sobel edge detector

Καμία από τις παραπάνω μεθόδους δεν εφαρμόστηκε ως αλγόριθμος για την τελική εξαγωγή των χαρακτηριστικών της subtracted εικόνας. Αυτό συνέβη επειδή, για να υλοποιηθούν οι παραπάνω edge detectors χρησιμοποιούνται οι αντίστοιχες μάσκες  $GR(n,m)$  και  $GC(n,m)$ . Έτσι το gradient που θέλουμε να υπολογίσουμε δεν είναι το gradient της αρχικής εικόνας αλλά μετά την εφαρμογή των παραπάνω масκών. Παρόλα αυτά η παραπάνω δοκιμή με τους προαναφερθέντες edge detectors αποτέλεσε μια πολύ καλή πρώτη προσέγγιση του θέματος ώστε να προσανατολιστούμε τελικά στο ότι ο όρος gradient είναι αποτελεσματικός στην εξαγωγή χαρακτηριστικών.

## Τμηματοποίηση εικόνας

Τμηματοποίηση εικόνας (image segmentation) είναι η διαδικασία με την οποία διαχωρίζεται μια εικόνα σε κατάλληλες περιοχές ή αντικείμενα. Η τμηματοποίηση εικόνας είναι από τα σπουδαιότερα θέματα στην ψηφιακή επεξεργασία εικόνων. Συνήθως αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση ο προσδιορισμός των περιοχών ή των αντικειμένων που μια εικόνα περιέχει για παραπέρα επεξεργασία, ανάλυση ή αναγνώριση. Για παράδειγμα, στην περιοχή της οπτικής αναγνώρισης χαρακτήρων (Optical Character Recognition–OCR), η τμηματοποίηση και ο διαχωρισμός των χαρακτήρων είναι απαραίτητο στάδιο προ-επεξεργασίας.

Για την τμηματοποίηση των εικόνων έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές. Δεν υπάρχει όμως γενική μέθοδος και σταθερές προδιαγραφές που να καθορίζουν την ποιότητα και την αποτελεσματικότητα των τεχνικών αυτών. Ανάλογα με την εφαρμογή πρέπει να επιλέγεται και η κατάλληλη τεχνική τμηματοποίησης. Ο Haralick και ο Sharipo πρότειναν ότι για να είναι καλή μια μέθοδος τμηματοποίησης πρέπει:

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

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

- Κατωφλίου – Πολυκατωφλίωσης
- Ταξινόμησης στοιχείων
- Μέθοδοι βασιζόμενες στα όρια περιοχών
- Μέθοδοι βασιζόμενες σε χαρακτηριστικά περιοχών και ομαδοποίησης
- Μέθοδοι βασιζόμενες σε σύγκριση προτύπων
- Ειδικές τεχνικές για τμηματοποίηση εικόνων υφής (texture images)

Πρέπει να παρατηρήσουμε ότι οι υπάρχουσες τεχνικές τμηματοποίησης δεν καλύπτουν όλες τις δυνατές εφαρμογές παρά αποτελούν ερεθίσματα για την ανάπτυξη εξειδικευμένων τεχνικών τμηματοποίησης που αφορούν συγκεκριμένες εφαρμογές. Για παράδειγμα, επικαλυπτόμενα αντικείμενα, ενωμένοι χαρακτήρες είναι δύσκολο να διαχωριστούν ικανοποιητικά. Επίσης, ο ποιοτικός έλεγχος ηλεκτρονικών πλακετών ή η αναγνώριση ιατρικών εικόνων απαιτούν συνθετότερους και πλέον εξειδικευμένους αλγόριθμους. Στη συνέχεια θα αναπτύξουμε ορισμένες από τις πλέον γνωστές τεχνικές τμηματοποίησης εικόνας για αναγνώριση των ιατρικών εικόνων που λαμβάνουμε από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS.

## Μέθοδοι κατωφλίωσης και πολυκατωφλίωσης

Η εύρεση κατωφλίων (thresholds) είναι μια από τις ισχυρότερες τεχνικές για την τμηματοποίηση εικόνων που απεικονίζονται με αποχρώσεις του γκρι. Η εφαρμογή των τεχνικών κατωφλίου σε μια ψηφιακή εικόνα βασίζεται στην υπόθεση ότι τα εικονοστοιχεία του αντικειμένου (προσκήνιο: foreground) μπορούν να διαχωριστούν από τα εικονοστοιχεία του φόντου (παρασκήνιο: background) με βάση τις τιμές των αποχρώσεών τους. Για τον προσδιορισμό των δύο κύριων αποχρώσεων του γκρι με τη χρήση ενός κατωφλίου (bilevel ή global thresholding) η εικόνα μετατρέπεται σε εικόνα δύο κυρίων αποχρώσεων με τη χρήση μιας μοναδικής τιμής κατωφλίου για όλα τα εικονοστοιχεία της. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για τη μετατροπή μιας εικόνας σε δυαδική. Η προσέγγιση αυτή δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις όπως των εικόνων κειμένου, όπου είναι γνωστό εκ των προτέρων ότι η εικόνα περιέχει μόνο δύο κύριες αποχρώσεις του γκρι (π.χ. άσπρο, μαύρο). Συνεπώς οι μέθοδοι ενός καθολικού (ή απόλυτου) κατωφλίου πρέπει να εφαρμόζονται σε εικόνες όπου είναι ξεκάθαρη η διαφορά μεταξύ των αποχρώσεων του προσκήνιου με το παρασκήνιο. Έχουν προταθεί αρκετές τεχνικές για την αυτόματη επιλογή ενός καθολικού κατωφλίου.

Για την τμηματοποίηση περίπλοκων εικόνων είναι αναγκαία η χρήση τεχνικών επιλογής κατωφλίων για πολλά επίπεδα (multilevel thresholding). Στη γενική περίπτωση αυτό δεν είναι απλό πρόβλημα. Υπάρχουν αρκετές δυσκολίες για την επιλογή κατωφλίων σε εικόνες με πολλά αντικείμενα και οφείλονται κυρίως στις κατανομές των αποχρώσεων, στα μικρά και στα αλληλοεπικαλυπτόμενα αντικείμενα. Ο προσδιορισμός του βέλτιστου αριθμού των τελικών αποχρώσεων είναι ένα σημαντικό πρόβλημα. Αν και υπάρχουν αλγόριθμοι προσδιορισμού του βέλτιστου αριθμού των αποχρώσεων στις περισσότερες των τεχνικών αυτών ο αριθμός αυτός θεωρείται εκ των προτέρων γνωστός.

Αρκετές τεχνικές έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση των δυσκολιών που προαναφέρθηκαν. Οι περισσότερες από αυτές βασίζονται στην αναγνώριση και ταύτιση των ακμών (edge detection – edge matching). Οι μέθοδοι αυτές είναι εφαρμόσιμες σε εικόνες με καλές ακμές και παράλληλα συνδυάζονται με το ιστόγραμμα των αποχρώσεων. Αρχικά, όλες αυτές οι τεχνικές ταξινομούν τα εικονοστοιχεία σε αυτά που ανήκουν σε ακμές και μη. Ακολούθως για την εξαγωγή των τιμών των κατωφλίων χρησιμοποιούνται υπολογιστικά δαπανηρές επαναληπτικές διαδικασίες. Σε κάθε επανάληψη οι τιμές των κατωφλίων τροποποιούνται με σκοπό την ικανοποίηση των χαρακτηριστικών συνθηκών που αφορούν τις ακμές.

## Επεξεργασία ιστογράμματος

Το ιστόγραμμα μιας εικόνας αποχρώσεων του γκρι περιέχει σημαντικές πληροφορίες για την εικόνα και για το λόγο αυτό είναι ένα από τα σημαντικότερα εργαλεία στην επεξεργασία ψηφιακών εικόνων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτιστοποίηση της εικόνας, την τροποποίηση των χαρακτηριστικών της, τη μετατροπή της σε εικόνα με λιγότερες αποχρώσεις, την εξαγωγή χαρακτηριστικών της εικόνας και άλλα. Στο σημείο αυτό θα αναφερθούμε στη βελτιστοποίηση της εικόνας βασιζόμενοι στη χρήση και τροποποίηση του ιστογράμματος της.

Η βελτιστοποίηση μιας εικόνας που προκύπτει από την τροποποίηση του ιστογράμματος της είναι επιθυμητή σε πολλές εφαρμογές. Σε μια σημαντική ομάδα προβλημάτων μια εικόνα ενισχύεται τροποποιώντας την αντίθεση της ή/και τη δυναμική περιοχή των φωτεινοτήτων της. Για παράδειγμα μια τυπική εικόνα ακόμα και μη υποβιβασμένη, θα φαίνεται καλύτερα αν οι ακμές της εντοντοποιηθούν. Επίσης, αν για κάποιο λόγο μια εικόνα με μεγάλη δυναμική περιοχή καταγραφεί σε ένα μέσο με μικρή

δυναμική περιοχή, η αντίθεσή της και κατά συνέπεια οι λεπτομέρειες της ελαττώνονται ιδιαίτερα στις πολύ φωτεινές και πολύ σκοτεινές περιοχές. Έτσι, η αντίθεση μιας εικόνας η οποία παίρνεται αεροπλάνο όταν το τοπίο καλύπτεται από σύννεφα ή ομίχλη είναι μειωμένη. Αυξάνοντας την τοπική αντίθεση και μειώνοντας τη δυναμική περιοχή μπορούμε να ενισχύσουμε την ποιότητα αυτής της εικόνας.

Σε μια άλλη κατηγορία προβλημάτων, μια υποβιβασμένη εικόνα μπορεί να βελτιωθεί μειώνοντας τον υποβιβασμό της. Παραδείγματα υποβιβασμού είναι το θόλωμα, ο τυχαίος θόρυβος βάθους, ο θόρυβος στίγματος και ο θόρυβος κβάντωσης (quantization noise). Οι τεχνικές τροποποίησης ιστογράμματος είναι κατάλληλες για τη βελτιστοποίηση των εικόνων και τη μείωση του θορύβου που περιέχουν.

### Το ιστογράμμα μιας εικόνας

Το ιστογράμμα μιας εικόνας είναι εύκολο να προσδιορισθεί. Εκφράζει την κατανομή των αποχρώσεων του γκρι στην εικόνα και στις περισσότερες περιπτώσεις απόλυτα καθορίζει την εικόνα. Ένα ιστογράμμα είναι ένα γράφημα που στον οριζόντιο άξονα έχει τις φωτεινότητες από 0-255 και στον κατακόρυφο άξονα το πλήθος των εικονοστοιχείων που έχουν κάθε φωτεινότητα. Ανάλογα με την εφαρμογή, ο κατακόρυφος άξονας μπορεί να κανονικοποιηθεί με βάση τη μέγιστη τιμή του ιστογράμματος.

Στην περίπτωση που η μέγιστη τιμή του ιστογράμματος αντιστοιχηθεί με το ένα, τότε το κανονικοποιημένο ιστογράμμα που προκύπτει μας δίνει ουσιαστικά την κατανομή πυκνότητας – πιθανότητας των επιπέδων του γκρι στην εικόνα.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, το ιστογράμμα  $h(k)$ , μιας ψηφιακής εικόνας  $I$ , διαστάσεων  $N \times M$ , με αποχρώσεις του γκρι στην περιοχή  $[0, L-1]$  εικόνας μπορεί να προσδιορισθεί με τη βοήθεια της σχέσης:

$$h(k) = \begin{cases} h(k) + 1, & \text{αν } I(i, j) = k \\ h(k), & \text{διαφορετικά} \end{cases}$$

όπου  $(i, j) \in \{0, 1, \dots, L-1\}$ .

Προφανώς:

$$\sum_{k=0}^{L-1} h(k) = N \times M$$

Οι τεχνικές τροποποίησης του ιστογράμματος μετασχηματίζουν την αρχική ζώνη φωτεινότητας με τη βοήθεια μιας γραμμικής ή μη γραμμικής συνάρτησης μετασχηματισμού  $T()$ . Με αυτό τον τρόπο, οι φωτεινότητες της εικόνας απεικονίζονται πλέον σε μια νέα ζώνη και προκύπτει έτσι ένα νέο ιστογράμμα από τη σχέση:

$$h'(k) = T(h(k)), \quad k=0, \dots, L-1$$

έτσι ώστε:

$$h'(k) \in \{0, 1, \dots, L-1\} .$$

Η διαδικασία αυτή συναντάται σε πολλά προγράμματα επεξεργασίας εικόνας ως μια τεχνική τροποποίησης ιστογράμματος μέσω καμπυλών.

### Χαρακτηριστικά ιστογράμματος

Η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση αλλά και άλλα πρόσθετα χαρακτηριστικά μπορούν να εξαχθούν και με τη χρήση ιστογράμματος. Τα χαρακτηριστικά ιστογράμματος βασίζονται στο ιστόγραμμα μιας περιοχής μιας εικόνας. Αν υποθέσουμε ότι στην περιοχή που εξετάζουμε έχουμε ένα επίπεδο του γκρι, δηλαδή:

$$0 \leq b \leq L-1$$

τότε η κατανομή πιθανότητας για κάθε  $b$  ισούται με

$$P(b) = N \frac{(b)}{M}$$

όπου  $N(b)$ , το σύνολο των εικονοστοιχείων της περιοχής που έχουν επίπεδο του γκρι ίσο με  $b$  και  $M$ , το σύνολο των εικονοστοιχείων της περιοχής.

Η μορφή του ιστογράμματος μας δίνει σημαντικές πληροφορίες για το χαρακτήρα της εικόνας. Έτσι, ένα ιστόγραμμα με στενό λοβό υποδηλώνει ότι έχουμε εικόνα χαμηλής αντίθεσης. Αντίθετα, ένα ιστόγραμμα με δύο ξεκάθαρους λοβούς που μάλιστα απέχουν σημαντικά μεταξύ τους, σημαίνει ότι η εικόνα αυτή αποτελείται από αντικείμενα και φόντο, τα οποία σαφέστατα έχουν διαφορετικές αποχρώσεις του γκρι.

Συνήθη χαρακτηριστικά που μπορούν να εξαχθούν από ένα ιστόγραμμα είναι οι μονοδιάστατες ροπές και η εντροπία, οι οποίες υπολογίζονται από τις παρακάτω σχέσεις για  $i=1,2,3,\dots$

Τα χαρακτηριστικά του ιστογράμματος μιας εικόνας είναι: ροπές, απόλυτες ροπές, κεντρικές ροπές, απόλυτες κεντρικές ροπές και εντροπία. Επίσης από τα παραπάνω χαρακτηριστικά μπορούμε να υπολογίσουμε ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά όπως είναι: η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, η μεταβλητότητα, η λοξότητα, η κύρτωση και η ενέργεια.

### Εύρεση πολλαπλών κατωφλίων με προσέγγιση του ιστογράμματος με ρητές συναρτήσεις

Σε μεγάλο αριθμό περιπτώσεων τα αντικείμενα που περιέχονται σε μια εικόνα με πολλά επίπεδα του γκρι, έχουν κοντινή μεταξύ τους φωτεινότητα. Για παράδειγμα, σε εικόνες κειμένου (έγγραφα) γνωρίζουμε ότι τα γράμματα θα έχουν φωτεινότητα κοντά στο μαύρο ενώ το φόντο θα έχει φωτεινότητα υψηλή. Σε ένα τέτοιο ιστόγραμμα μπορούμε να διακρίνουμε δύο λόφους (hills) και μια κοιλάδα (valley) μεταξύ τους. Είναι φανερό ότι ο αριστερός λόφος αντιπροσωπεύει τα εικονοστοιχεία που πιθανότατα ανήκουν στους χαρακτήρες, ενώ αντίθετα ο δεξιός λόφος αντιστοιχεί σε εικονοστοιχεία που ανήκουν πιθανότατα στο φόντο.

Αυτό που δεν μπορούμε με σαφήνεια να πούμε είναι που ανήκουν τα εικονοστοιχεία της κοιλάδας. Για τα εικονοστοιχεία αυτά δεχόμαστε ότι μπορούν να ανήκουν και στους χαρακτήρες αλλά και στο φόντο. Όμως, είναι σαφές ότι όσο πιο κοντά στον αριστερό λόφο βρίσκεται ένα εικονοστοιχείο τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα να αποτελεί εικονοστοιχείο κάποιου χαρακτήρα και το αντίστροφο. Αν προσδιορίσουμε με μια κατάλληλη μέθοδο με μια τιμή κατωφλίου  $T$  στην περιοχή της κοιλάδας, τότε μπορούμε να διαχωρίσουμε την εικόνα και να τη μετατρέψουμε σε δυαδική σύμφωνα με τη σχέση:

$$b(m, n) = \begin{cases} 1, & \text{αν } f(m, n) > T \\ 0, & \text{αν } f(m, n) \leq T \end{cases}$$

όπου  $(m, n)$  οι συντεταγμένες του εικονοστοιχείου  $f(m, n)$ . Έτσι, στην τελική δυαδική εικόνα, οι χαρακτήρες θα έχουν εικονοστοιχεία με τιμή 1 ενώ τα εικονοστοιχεία του φόντου θα έχουν 0.

Η διαδικασία που αναπτύχθηκε παραπάνω ανήκει στις μεθόδους του απόλυτου κατωφλίου. Είναι όμως πιθανό να έχουμε εικόνες που περιέχουν αντικείμενα με διαφορετικές μεταξύ τους φωτεινότητες. Στην περίπτωση αυτή μιλάμε για πολλών επιπέδων κατώφλια (multilevel thresholding). Αν υπάρχουν  $n$  αντικείμενα με διαφορετικές φωτεινότητες, τότε στο ιστόγραμμα της εικόνας θα υπάρχουν πιθανότατα  $n$  λόφοι και  $n-1$  κοιλάδες. Συνεπώς, απαιτείται ο προσδιορισμός  $n-1$  κατωφλίων. Αν λοιπόν  $T_i, i=1, \dots, n-1$  είναι τα κατώφλια, τότε η τελική εικόνα μετά την πολυκατωφλίωση προκύπτει από τη σχέση:

$$b(n, m) = \begin{cases} L_1, & \text{αν } f(n, m) \leq T_1 \\ L_2, & \text{αν } T_1 \leq f(n, m) \leq T_2 \\ \dots \\ L_{n-1}, & \text{αν } f(n, m) > T_{n-1} \end{cases}$$

Όπου  $L_i, i=1, \dots, n-1$  τα επίπεδα του γκρι της τελικής εικόνας  $b(n, m)$  που συνήθως ταυτίζονται με τη μέση τιμή του ιστογράμματος στο διάστημα μεταξύ των κατωφλίων.

### Εκτίμηση του βέλτιστου αριθμού αποχρώσεων

Ένα σημαντικό και δύσκολο ζήτημα για τις τεχνικές πολυκατωφλίωσης είναι η εκτίμηση του βέλτιστου πλήθους των κατωφλίων. Εάν το πλήθος τους δεν εκτιμηθεί σωστά, τότε οι τεχνικές αποτυγχάνουν και παρουσιάζεται επικάλυψη αντικειμένων στην εικόνα που προκύπτει. Η ύπαρξη μιας μόνο τιμής απόχρωσης για όλα τα εικονοστοιχεία ενός αντικειμένου αποτελεί ιδανική περίπτωση και μπορεί να επιτευχθεί σε εικόνες που έχουν σχεδιασθεί στον Η/Υ. Τυχαία γεγονότα όπως ο θόρυβος ή τα σφάλματα περιφερειακών συσκευών (εκτυπωτές, σαρωτές, κάμερες, κ.λ.π) δημιουργούν επιπλέον αποχρώσεις με αποκλίνουσες τιμές. Για αυτό μπορούμε να υποθέσουμε ότι κάθε κλάση προέρχεται από την κύρια απόχρωση ενός αντικειμένου και άλλες δευτερεύουσες, σύμφωνα με μια κανονική κατανομή. Ένας τρόπος να εκτιμήσουμε το βέλτιστο αριθμό αποχρώσεων σε μια εικόνα είναι να θεωρήσουμε το κανονικοποιημένο ιστόγραμμα της ως ένα άθροισμα κανονικών κατανομών. Δηλαδή ότι η κανονικοποιημένη συνάρτηση  $H(l)$  του ιστογράμματος προσεγγίζεται με μια συνάρτηση  $H_j(l)$ , που είναι γραμμικός συνδυασμός των συναρτήσεων πυκνότητας πιθανότητας των κανονικών κατανομών  $J$  κλάσεων. Η βέλτιστη τιμή του  $J$  σε μια δεδομένη περιοχή τιμών  $[1, J_{\max}]$  ελαχιστοποιεί το σφάλμα προσαρμογής μεταξύ των συναρτήσεων  $H(l)$  και  $H_j(l)$ .

## Ανίχνευση κλειστών χρωματικών περιοχών (color segmentation)

Παρακάτω αναφέρουμε τα βήματα που ακολουθούνται κατά τη διαδικασία της ανίχνευσης κλειστών χρωματικών περιοχών (color segmentation). Ο αλγόριθμος αυτός εφαρμόστηκε στις εικόνες που λήφθηκαν από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS, ως μια αρχική προσέγγιση επεξεργασίας τους. Στον αλγόριθμο αυτό λοιπόν, ισχύει ότι:

α) Από την εικόνα χρησιμοποιούμε μόνο την απόχρωση (Hue). Αρχικά φορτώνουμε τις δύο εικόνες με την imread.

β) Βρίσκουμε το ιστόγραμμα και ορίζουμε thresholds πάνω σε αυτό. Το ιστόγραμμα το εξάγουμε μέσω της εντολής imhist. Χρησιμοποιούμε τη διαδικασία του peakiness detection algorithm.

Αναφέρουμε κάποια πράγματα για τον peakiness detection algorithm: Αρχικά βρίσκουμε τα δύο μεγαλύτερα maxima  $peak_1$ ,  $peak_2$  στο ιστόγραμμα που βρίσκονται τουλάχιστον κατά μια απόσταση  $d$  (εδώ  $d=15$ ) μεταξύ τους (η απόσταση αυτή  $d$  ορίζεται από το χρήστη).

Βρίσκουμε το χαμηλότερο σημείο (num) στο ιστόγραμμα που βρίσκεται ανάμεσα στα  $peak_1$  και  $peak_2$ .

Ορίζουμε ως peakiness την τιμή:  $\min\{H(peak_1), H(peak_2)\}/H(num)$ .

Παίρνουμε μετά το συνδυασμό ( $peak_1$ ,  $peak_2$ , num) με το υψηλότερο peakiness.

Ορίζουμε ως κατώφλι (threshold) στην εικόνα το  $T=num$ .

Έπειτα επαναλαμβάνουμε την ίδια διαδικασία και για το υπόλοιπο διάλυσμα ώσπου και να βρούμε 3 κατώφλια για να διαχωρίσουμε τις περιοχές.

γ) Σε κάθε μία περιοχή του ιστογράμματος δίνουμε ένα label και ένα επίπεδο μονόχρωμης έντασης, για 5 labels δώσαμε τις τιμές 10, 50, 150, 250 και 400.

δ) Δημιουργήσαμε μια νέα μονόχρωμη εικόνα (έντασης) με βάση τις παραπάνω τιμές έντασης ως εξής: Για κάθε pixel της έγχρωμης εικόνας βρίσκουμε την περιοχή του ιστογράμματος Hue που ανήκει. Με βάση το label της περιοχής αυτής δίνουμε την αντίστοιχη τιμή έντασης στο pixel αυτό στην καινούρια ασπρόμαυρη εικόνα.

ε) Στην όλη διαδικασία, ορίσαμε εμείς τα ενδιάμεσα thresholds που πιθανά χρειάζονται.

Αυτό που παρατηρήσαμε από τις αλλαγές του  $d$  ήταν πως για πολύ μικρές τιμές του  $d$  η εικόνα τελικά δεν είχε τόσο καλή ευκρίνεια γιατί τα thresholds που προσεγγίζει ο αλγόριθμος «έπεφταν» εκτός των περιοχών που είχε κάθε αντικείμενο στην εικόνα. Αντίθετα, για μεγαλύτερα  $d$  τα thresholds «έπεφταν» μέσα στα όρια των χρωματικών περιοχών και επομένως είχαμε πολύ καλύτερο αποτέλεσμα. Ενδεικτικά την καλύτερη προσέγγιση την πήραμε για  $d=15$ .

## Σύγκριση του αλγορίθμου ανίχνευσης κλειστών χρωματικών περιοχών (color segmentation) με ένα αλγόριθμο ανίχνευσης κλειστών ακμών (canny edge detector)

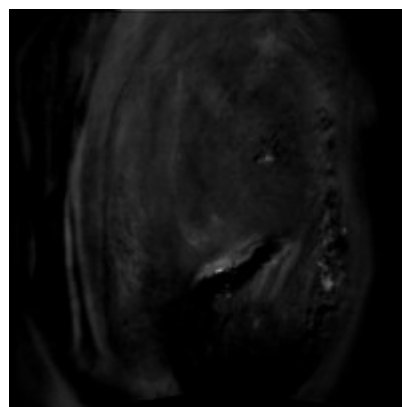
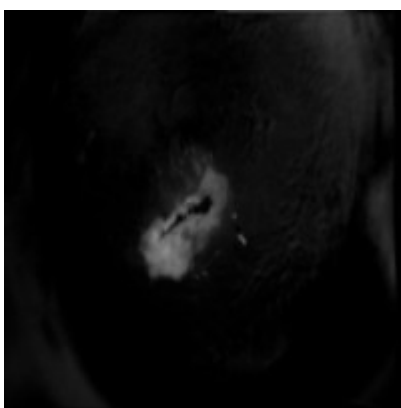
Η μέθοδος ανίχνευσης των χρωματικών περιοχών υπερτερεί σημαντικά της μεθόδου του canny edge detector και αυτό γιατί σε εικόνες με πολλά περιγράμματα και αντικείμενα η παρακολούθηση των ακμών για να εξάγουμε το αποτέλεσμα είναι πιο πολύπλοκη και συνάμα δε δίνει την ακριβή εικόνα.

Αντιθέτως, η μέθοδος ανίχνευσης των χρωματικών περιοχών είναι αρκετά πιο εύκολη σε υλοποίηση, δεν έχει τη χρονική πολυπλοκότητα του αλγορίθμου canny edge detector και το αποτέλεσμα δίνει μια αρκετά καλή αναπαράσταση των αντικειμένων μεταξύ τους.

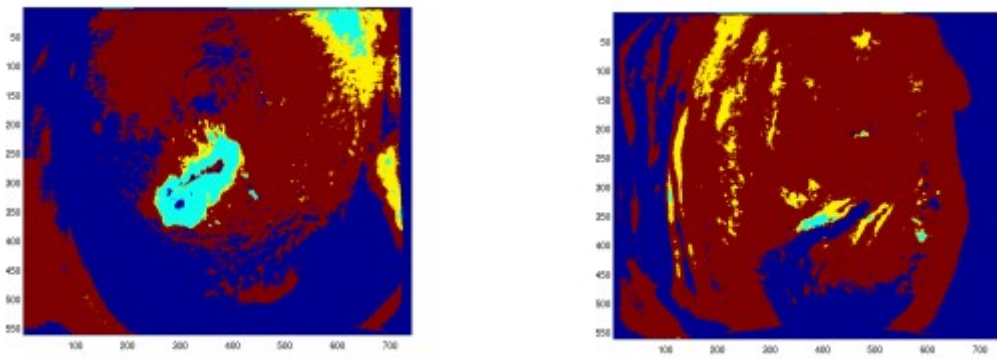
Στην περίπτωση τώρα των εξεταζόμενων εικόνων αυτό που μπορούμε να πούμε είναι πως οι δύο αλγόριθμοι δεν ήταν το ίδιο καλοί επειδή η προκειμένη εικόνα δεν είχε τόσες πολλές ακμές. Το αποτέλεσμα με την εφαρμογή του canny edge detector δεν ήταν ικανοποιητικό αφού οι περιοχές δεν ξεχώριζαν μεταξύ τους.

Η εφαρμογή του αλγορίθμου ανίχνευσης χρωματικών περιοχών όμως έδωσε ένα πολύ καλό αποτέλεσμα αλλά σε αυτή την περίπτωση επειδή το χρωματικό περιεχόμενο κάθε περιοχής ήταν πολύ κοντά το ένα στο άλλο η επιλογή των κατωφλίων έπρεπε να γίνει προσεκτικά.

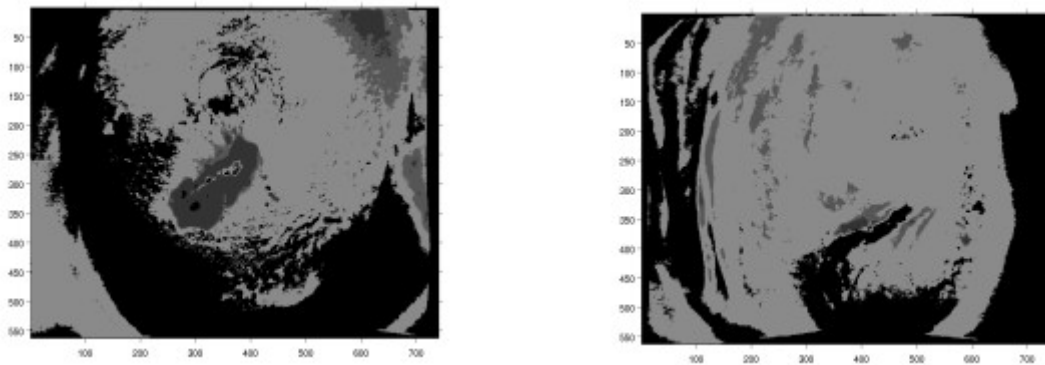
Οι εικόνες που προέκυψαν μετά από την εφαρμογή του αλγορίθμου ανίχνευσης κλειστών χρωματικών περιοχών (color segmentation) για μια true positive και μιας true negative εικόνας του νοσοκομείου Αλεξάνδρα είναι οι παρακάτω (οι εικόνες που χρησιμοποιήσαμε ήταν οι ασθενείς 16\_72 που είναι true positive και η 9\_65 που είναι true negative):



Εικόνα 109: Οι subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές αλγορίθμου ανίχνευσης κλειστών χρωματικών περιοχών



Εικόνα 110: Color segmented images



Εικόνα 111: Black and white segmented images

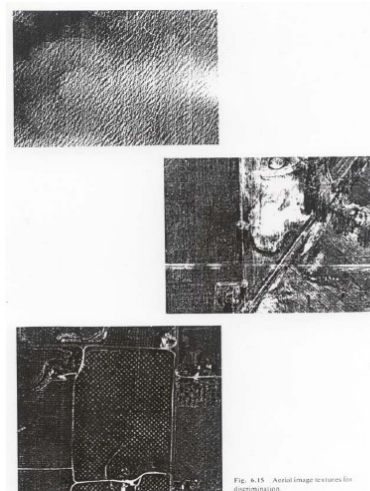
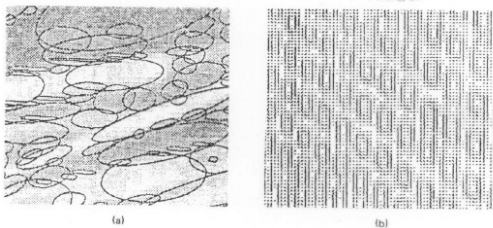
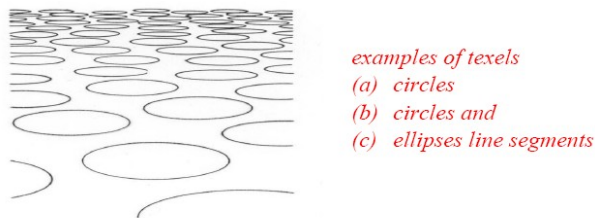
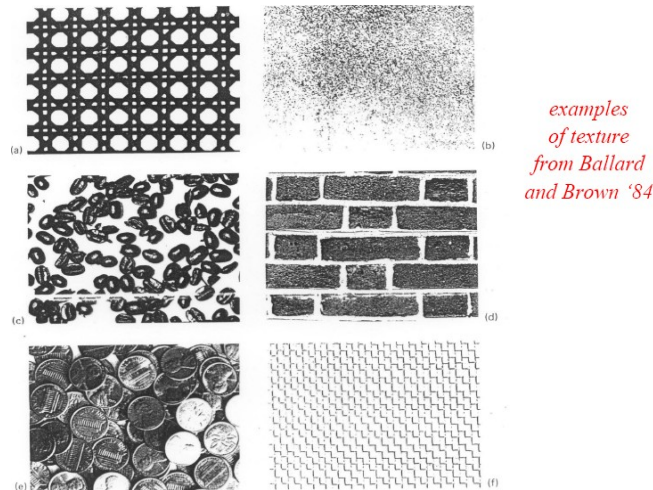
Η παραπάνω μεθοδολογία αν και διαχωρίζει τις χρωματικές περιοχές έντασης μεταξύ τους, εντούτοις δε μας δίνει τις παραμέτρους που θέλουμε να εξάγουμε για την αντικειμενική ποσοτικοποίηση κάθε εικόνας. Παρόλα αυτά, μας δίνει μια πρώτη εντύπωση των χρωματικών περιοχών (περιοχών έντασης χρώματος) από τις οποίες αποτελείται η κάθε εικόνα.

## Υφή

Ως υφή ορίζονται επαναλαμβανόμενα πρότυπα τοπικών διακυμάνσεων έντασης πάνω σε μια επιφάνεια. Ως δείγμα υφής ορίζεται το ένα texel. Τα texels έχουν παρόμοια σχήμα, παρόμοια κατανομή έντασης και πιθανόν παρόμοιο προσανατολισμό ή σχήμα (όπως τα γεωμετρικά σχήματα, οι γραμμές, οι κουκκίδες, τα σημεία). Διαφορετικές εφαρμογές παρουσιάζουν και διαφορετική υφή.

## Ανάλυση υφής

Η ανάλυση στην οποία παρατηρείται κάθε εικόνα, ορίζει και το βαθμό στον οποίο γίνεται αντιληπτή η υφή. Οι αλλαγές υφής εξαρτώνται από την απόσταση από την οποία παρατηρείται η εικόνα. Για παράδειγμα, όταν παρατηρείται ένα πάτωμα με πλακάκια από μεγάλη απόσταση, η υφή σχηματίζεται από την τοποθέτηση των πλακιδίων. Όταν η ίδια εικόνα παρατηρείται από κοντινότερη απόσταση, μόνο μερικά πλακίδια βρίσκονται εντός του πεδίου όρασης και η υφή σχηματίζεται από την τοποθέτηση κουκκίδων, γραμμών κ.α από τα οποία αποτελείται κάθε πλακίδιο.



Εικόνα 112: Παραδείγματα υφής

## Ανάλυση υφής

Τα βασικά βήματα ανάλυσης υφής είναι τα παρακάτω:

1. Τμηματοποίηση (Segmentation): ορίζονται τα όρια των περιοχών υφής (με μεθόδους βασισμένες στα χαρακτηριστικά των περιοχών και των ορίων τους).
2. Κατηγοριοποίηση (Classification): αναγνωρίζεται μια περιοχή υφής (βρίσκονται οι πιο όμοιες από τις πολλαπλές κλάσεις υφής, εξάγονται και κατηγοριοποιούνται τα texels). Η κατηγοριοποίηση είναι είτε δομική (structural), όπου τα texels μπορεί να είναι αρκετά μεγάλα και να διακρίνονται από το περιβάλλον τους, ή στατιστική (statistical) που περιγράφει το επίπεδο κατανομής του γκρι της περιοχής υφής.
3. Ανάκτηση του σχήματος από την υφή (χρησιμοποιούνται παραλλαγές του σχήματος και του προσανατολισμού των texels για να εκτιμηθεί το σχήμα της επιφάνειας και ο προσανατολισμός της).

## Χαρακτηριστικά υφής

Η υφή (texture) παίζει ένα σημαντικό ρόλο σε πολλά θέματα τεχνητής όρασης, όπως είναι η επιθεώρηση επιφάνειας, η ανάκτηση και ταξινόμηση εικόνων, ο προσανατολισμός επιφάνειας και ο προσδιορισμός σχημάτων. Η υφή είναι ένα φαινόμενο που είναι διαδεδομένο, εύκολο να αναγνωριστεί από τον άνθρωπο αλλά δύσκολο να καθοριστεί. Η κλίμακα με την οποία παρατηρούμε μια εικόνα καθορίζει το αν έχουμε εικόνα υφής ή όχι. Για παράδειγμα, ένα φύλλο που καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος μιας εικόνας είναι ένα αντικείμενο, αλλά το φύλλωμα ενός δέντρου που παρατηρείται από απόσταση δημιουργεί μια υφή. Επίσης, παρατηρώντας την εικόνα μιας σκεπής με κεραμίδια από μεγάλη απόσταση παρατηρούμε την υφή που δημιουργούν τα κεραμίδια αλλά τα σχήματα μεταξύ των κεραμιδιών δε διακρίνονται. Όταν η ίδια σκηνή παρατηρείται από κοντινότερη απόσταση, έτσι ώστε μόνο μερικά κεραμίδια είναι μέσα στο πεδίο όρασης, αρχίζουμε να διακρίνουμε το σχήμα της πλέξης το οποίο προκύπτει από τη θέση των λεπτομερών σχεδίων τα οποία στοιχειοθετούν κάθε κεραμίδι. Το ίδιο μπορούμε να πούμε και για περιοχές κειμένου όταν αυτές ιδωθούν από απόσταση. Εδώ κάθε τοπική δομή αποτελείται από ένα σύνολο συνδεδεμένων εικονοστοιχείων τα οποία αντιπροσωπεύουν κάθε χαρακτήρα. Η διαδικασία της τοποθέτησης των χαρακτήρων σε γραμμές και η τοποθέτηση των γραμμών σε σειρές ως στοιχεία τη εικόνας έχουν ως αποτέλεσμα μια διατεταγμένη υφή. Συνεπώς, η υφή σε μια εικόνα μπορεί να προκύψει από διαφορετικές πηγές.

Διάφοροι συγγραφείς έχουν προσπαθήσει να καθορίσουν ποιοτικά το τι είναι υφή. Σύμφωνα με τον Hawkins η υφή εμφανίζεται να εξαρτάται από τρία συστατικά:

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

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

Όπως αναλύθηκε, δεν υπάρχει κανένας κοινά αποδεκτός ποσοτικός καθορισμός της οπτικής υφής. Κατά συνέπεια, οι ερευνητές που επιδιώκουν να βρουν ένα ποσοτικό μέτρο της υφής έχουν αναγκαστεί να ψάξουν διαισθητικά για χαρακτηριστικά γνωρίσματα υφής και να προσπαθήσουν έπειτα να αξιολογήσουν την απόδοση τους από τις τεχνικές που εφάρμοσαν.

### Τμηματοποίηση εικόνων υφής

Σε ορισμένες περιπτώσεις το φόντο μέσα στο οποίο ευρίσκονται αντικείμενα έχει τη μορφή υφής (texture). Επειδή στις περιπτώσεις αυτές έχουμε μεγάλη πυκνότητα ακμών, τεχνικές τμηματοποίησης που βασίζονται στα όρια δεν είναι αποτελεσματικές. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται εδώ βασίζονται στον προσδιορισμό χαρακτηριστικών της υφής όπως για παράδειγμα είναι στατιστικά, μορφολογικά και φασματικά χαρακτηριστικά. Με τον έλεγχο των χαρακτηριστικών αυτών μπορεί να γίνει ομαδοποίηση των διαφόρων μορφών. Πάντως, η εφαρμογή της παραπάνω μεθοδολογίας δεν οδηγεί πάντα σε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Υπάρχουν εδώ πολλά προβλήματα που απαιτούν καλύτερες λύσεις.

### Φίλτρα υφής του Matlab και εφαρμογή τους στις εικόνες

Στο toolbox του Matlab υπάρχουν τρεις συναρτήσεις ανάλυσης υφής που φιλτράρουν μια εικόνα χρησιμοποιώντας βασικές, στατιστικές μετρικές, όπως το εύρος, η τυπική απόκλιση και η εντροπία. Η εντροπία είναι ο στατιστικός υπολογισμός της τυχαιότητας. Αυτά τα στατιστικά μέτρα μπορούν να χαρακτηρίσουν την υφή μιας εικόνας επειδή μπορούν να παρέχουν πληροφορία για την τοπική μεταβλητότητα των τιμών έντασης των pixels της εικόνας.

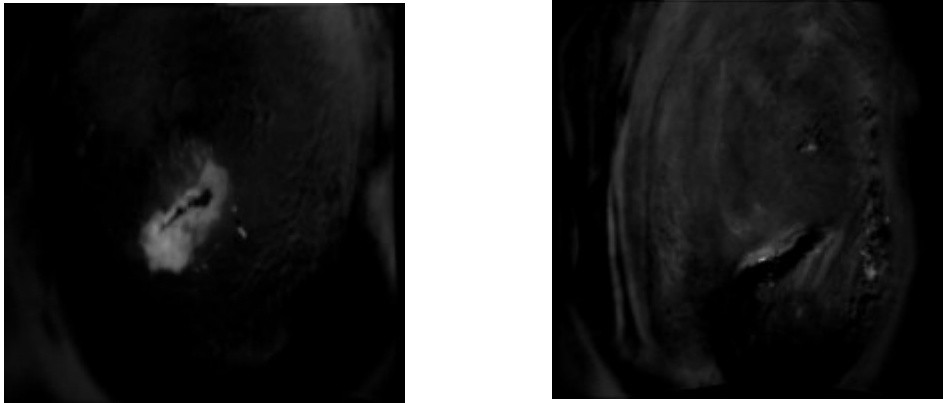
Για παράδειγμα, σε περιοχές με ομαλή υφή, το εύρος των τιμών στη γειτονιά ενός pixel θα έχει μικρή τιμή, ενώ σε περιοχές με τραχιά υφή το εύρος θα είναι μεγαλύτερο. Παρόμοια, ο υπολογισμός της τυπικής απόκλισης των pixels σε μια γειτονιά μπορεί να υποδηλώνει το βαθμό μεταβλητότητας των τιμών των pixels σε αυτή την περιοχή.

Οι τρεις στατιστικές συναρτήσεις φιλτραρίσματος υφής είναι:

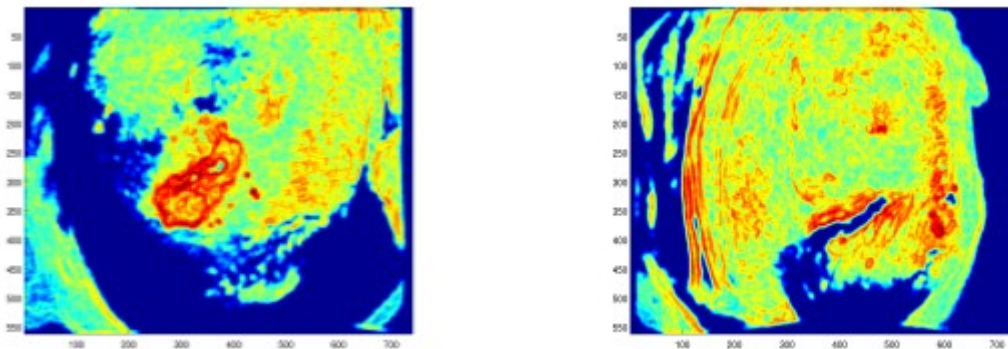
- rangefilt: υπολογίζει το τοπικό εύρος μιας εικόνας
- stdfilt: υπολογίζει την τοπική τυπική απόκλιση μιας εικόνας
- entropylilt: υπολογίζει την τοπική εντροπία μιας grayscale εικόνας

Όλες αυτές οι συναρτήσεις λειτουργούν με παρόμοια τρόπο: ορίζουν μια γειτονιά γύρω από ένα pixel ενδιαφέροντος και υπολογίζουν τα στατιστικά για αυτή τη γειτονιά. Η rangefilt για παράδειγμα, χρησιμοποιεί μια 3x3 γειτονιά, αλλά ο χρήστης μπορεί να ορίσει και γειτονιές διαφορετικών σχημάτων και μεγεθών. Οι stdfilt και entropyfilt συναρτήσεις λειτουργούν παρόμοια, ορίζοντας μια γειτονιά γύρω από ένα pixel ενδιαφέροντος και υπολογίζουν τα στατιστικά στοιχεία για αυτή τη γειτονιά, ώστε να αποφασιστεί η τιμή του pixel στην εικόνα εξόδου. Η stdfilt συνάρτηση υπολογίζει την τυπική απόκλιση όλων των τιμών τη γειτονιάς. Η entropyfilt συνάρτηση υπολογίζει την εντροπία της γειτονιάς και αντιστοιχίζει αυτή την τιμή στο pixel εξόδου. Σημειώνουμε, ότι από προεπιλογή η συνάρτηση entropyfilt ορίζει μια 9x9 γειτονιά γύρω από το pixel ενδιαφέροντος. Για να γίνει υπολογισμός την εντροπίας ολόκληρης της εικόνας, πρέπει να γίνει χρήση της συνάρτησης entropy.

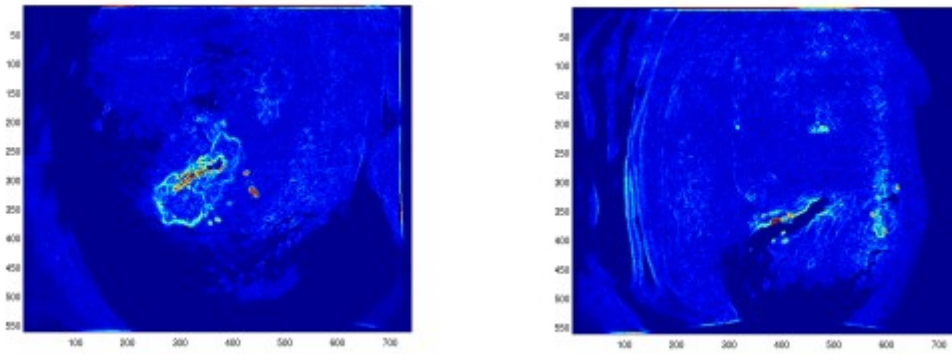
Οι εικόνες που προέκυψαν μετά από την εφαρμογή του αλγορίθμου υφής για μια true positive και μιας true negative εικόνας του νοσοκομείου Αλεξάνδρα είναι οι παρακάτω (οι εικόνες που χρησιμοποιήσαμε ήταν οι ασθενείς 16\_72 που είναι true positive και η 9\_65 που είναι true negative):



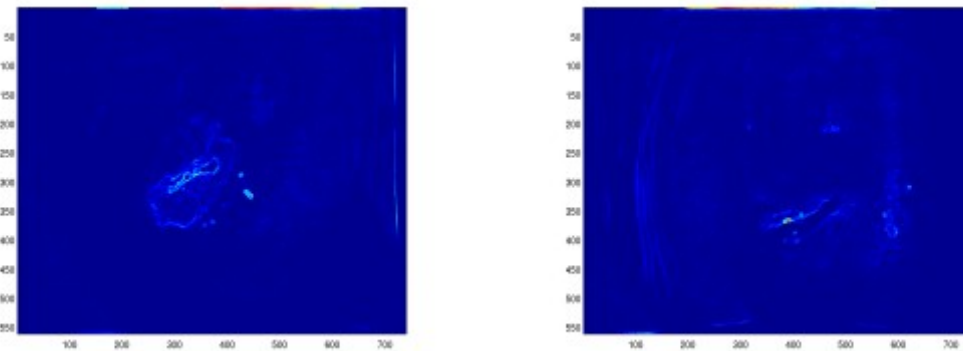
Εικόνα 113: Οι subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές αλγορίθμου υφής



Εικόνα 114: Εικόνες μετά την εφαρμογή entropyfilt



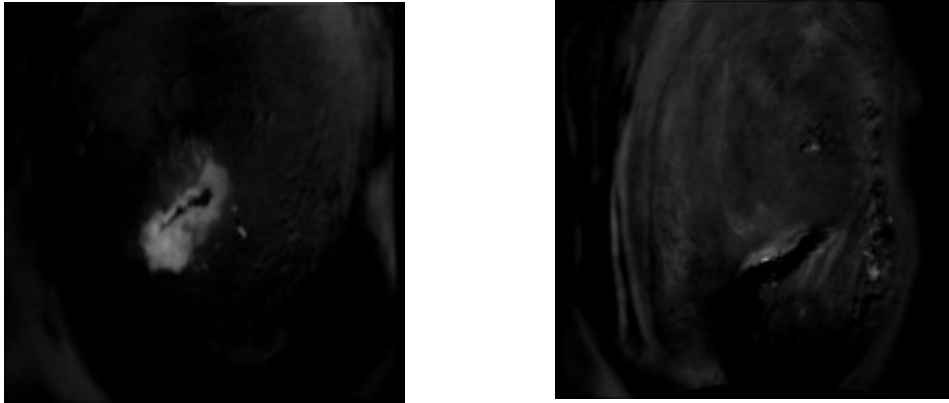
Εικόνα 115: Εικόνες μετά την εφαρμογή rangefilt



Εικόνα 116: Εικόνες μετά την εφαρμογή stdfilt

Η εφαρμογή φίλτρων υψής, χρησιμοποιήθηκε στα πρώτα στάδια μελέτης της διπλωματικής εργασίας, με σκοπό να μελετηθεί η υφή των subtracted εικόνων. Με τον τρόπο αυτό μας δόθηκε μια πρώτη προσέγγιση των ορίων των περιοχών υψής της εικόνας καθώς και του σχήματος και του προσανατολισμού των περιοχών αυτών.

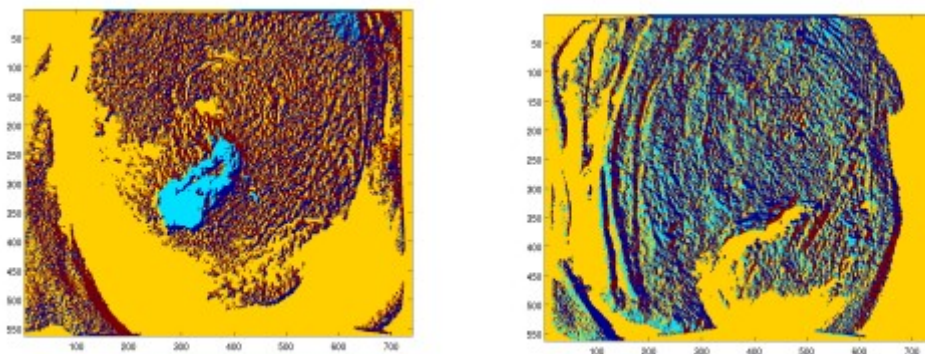
Στο σημείο αυτό θα παραθέσουμε δύο χαρακτηριστικές εικόνες μιας true positive και μιας true negative του νοσοκομείου Αλεξάνδρα όπως προέκυψαν μετά την εφαρμογή σε αυτές των ταξινομητών K-means και C-means. Οι εικόνες που χρησιμοποιήσαμε ήταν για τις ασθενείς 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative):



Εικόνα 117: subtracted εικόνες 16\_72 (true positive) και 9\_65 (true negative) για εφαρμογή σε αυτές classifiers K-means και C-means

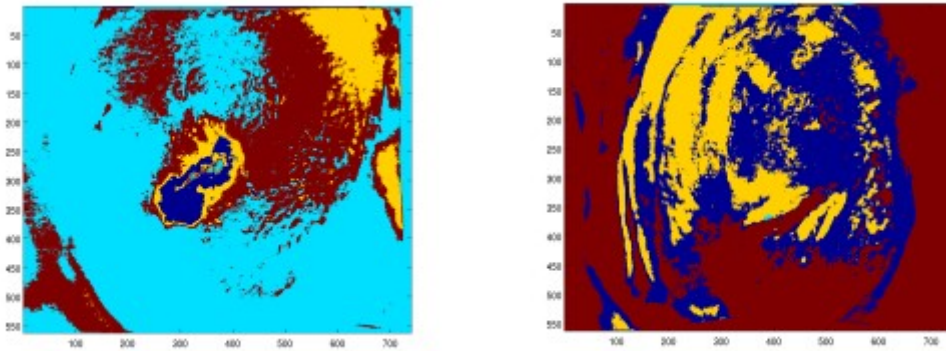
Οι εικόνες που προκύπτουν μετά την εφαρμογή των ταξινομητών K-means και C-means (με ορίσματα την ένταση του χρώματος, το magnitude και το theta του gradient και την υφή) είναι:

### K-means (ένταση, magnitude, theta)



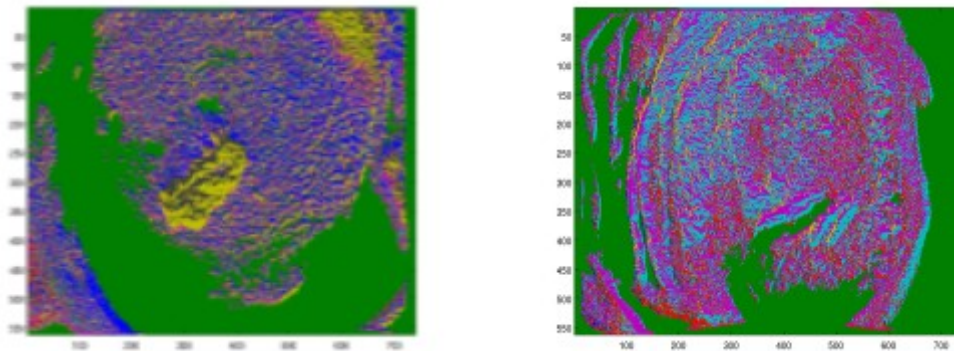
Εικόνα 118: Μετά τον K-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient

### K-means (ένταση, magnitude, theta, υφή)



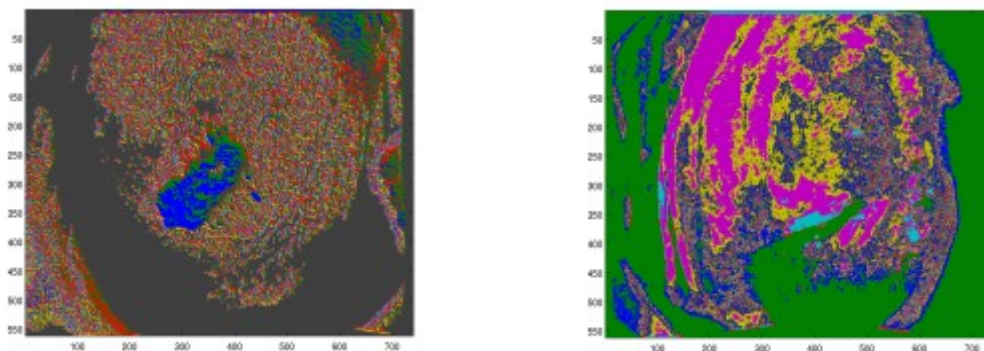
Εικόνα 119: Μετά τον K-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient και υφή

### C-means (ένταση, magnitude, theta)



Εικόνα 120: Μετά τον C-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient

### C-means (ένταση, magnitude, theta, υφή)



Εικόνα 121: Μετά τον C-means με ορίσματα ένταση χρώματος, magnitude και theta του gradient και υφή

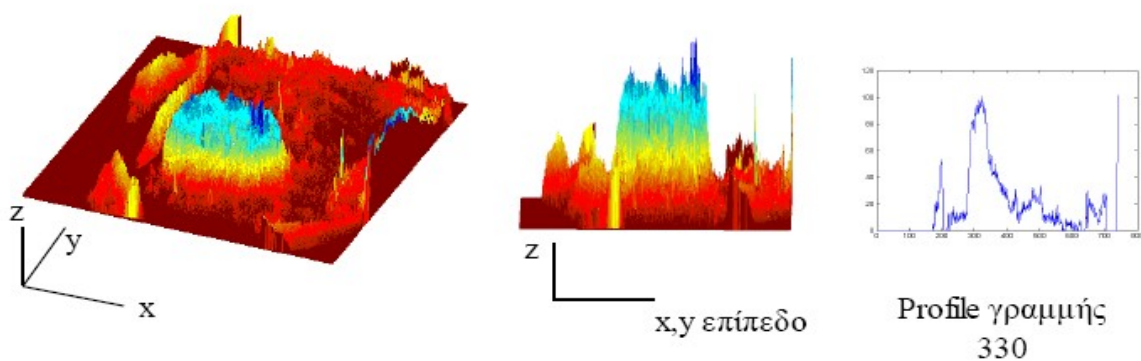
Καμία από τις παραπάνω μεθόδους δεν εφαρμόστηκε ως αλγόριθμος για την τελική εξαγωγή των χαρακτηριστικών της subtracted εικόνας. Η παραπάνω μεθοδολογία αν και διαχωρίζει τις χρωματικές περιοχές έντασης μεταξύ τους, εντούτοις δε μας δίνει τις παραμέτρους που θέλουμε να εξάγουμε για την αντικειμενική ποσοτικοποίηση κάθε εικόνας. Παρόλα αυτά, μας δίνει μια πρώτη εντύπωση των χρωματικών περιοχών (περιοχών έντασης χρώματος) από τις οποίες αποτελείται η κάθε εικόνα. Έτσι, παρατηρούμε μέσω της μεθόδου της ταξινόμησης σε ποια κατηγορία-κλάση ανήκει κάθε περιοχή (κάθε pixel) της εικόνας καθώς και ποιες από αυτές τις περιοχές ανήκουν στην ίδια κατηγορία-κλάση ώστε να αναμένουμε να παρουσιάζουν συγγενή χαρακτηριστικά.

## Spatial profiles

Μια μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραμετροποίηση του contrast (της αντίθεσης) και της ανθρώπινης αντίληψης των δεδομένων ιατρικών εικόνων είναι η μέθοδος χωρικής αναπαράστασης (spatial profiles) που γενικά εκφράζει την κατανομή διαφόρων μεγεθών στο χώρο. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί και για τη μέτρηση της διαμέτρου της στεφανιαίας αρτηρίας από αγγειόγραμμα [8].

Πιο συγκεκριμένα, το μέγεθος, η χωρική 'κατανομή' του οποίου μας ενδιαφέρει είναι η ένταση της εικόνας. Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται τα χωρικά χαρακτηριστικά της εικόνας και την κατανομή της έντασης στις χωρικές συντεταγμένες  $x$  και  $y$ .

Η μέθοδος αυτή επιλέγεται διότι αναζητείται η ποσοτικοποίηση του demarcation, χαρακτηριστικό το οποίο εξαρτάται από τη χωρική κατανομή της έντασης (δηλαδή του AW) στη subtracted εικόνα. Για το λόγο αυτό εκμεταλλευόμαστε τις διαφορετικές διακυμάνσεις τιμών έντασης της εικόνας στο χώρο.

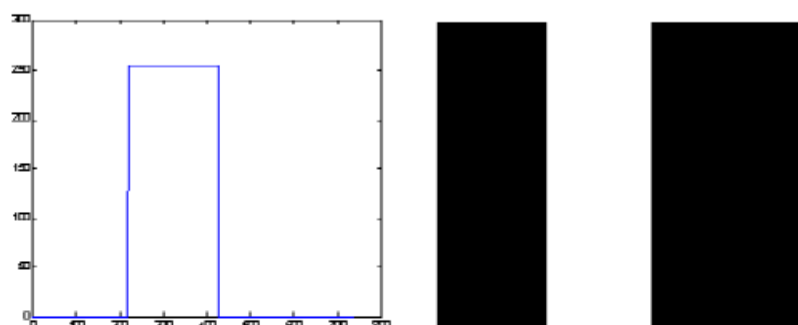


Εικόνα 122: Spatial profiles

Κάθε spatial profile προκύπτει αν φανταστούμε τη subtracted εικόνα στον τρισδιάστατο χώρο με τον άξονα  $z$  να περιέχει τις τιμές έντασης και  $x$  και  $y$  τα pixel, κοιτάζοντας την εικόνα από πλάγια όψη ώστε τα  $x$  και  $y$  να ορίζουν ένα επίπεδο και στον  $z$  άξονα να απεικονίζονται οι εντάσεις. Εξάγοντας τα ψηφιακά αυτά σήματα ανά γραμμές και ανά στήλες παίρνουμε τα spatial profiles γραμμών και στηλών αντίστοιχα. Τα αναφερόμενα απεικονίζονται στις ακόλουθες εικόνες.

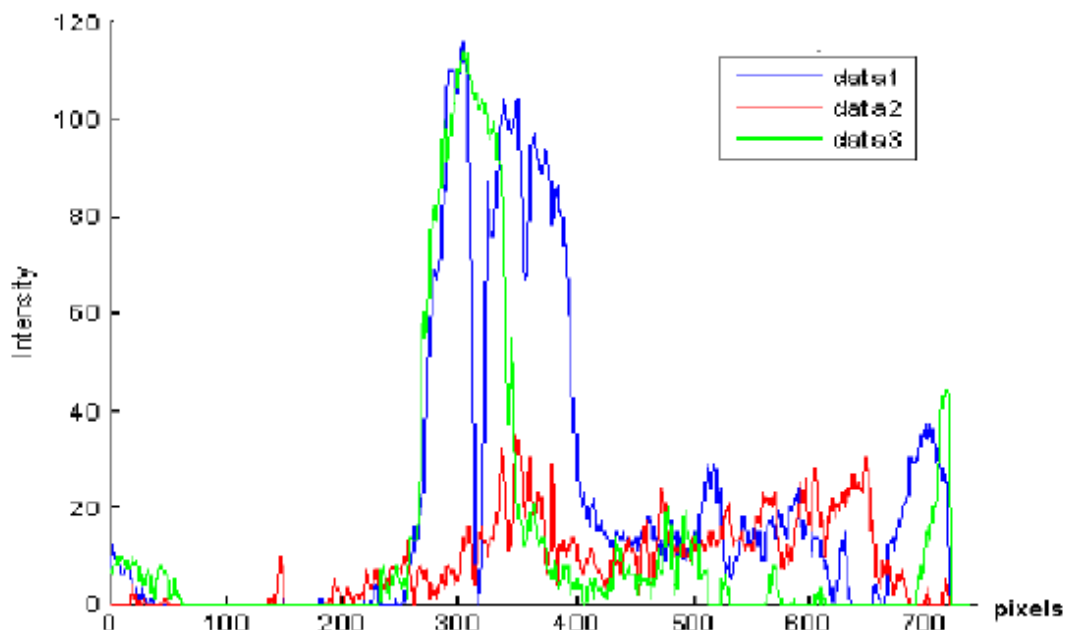
Τα spatial profiles των γραμμών και των στηλών δεν είναι τίποτα άλλο παρά ψηφιακά σήματα που εκφράζουν για κάθε γραμμή και στήλη της εικόνας, την τιμή της έντασης του κάθε pixel στο 2D χώρο, όπου στο  $x$ -άξονα απεικονίζονται τα pixel της εικόνας και στον  $y$ -άξονα απεικονίζονται οι εντάσεις των αντίστοιχων pixels. Τα spatial profiles όλων των γραμμών και όλων των στηλών δίνουν τη συνολική 3D εικόνα.

Ως παράδειγμα, spatial profile αναφέρουμε ιδανικά το παρακάτω. Αν μπορούσε μια εικόνα να έχει σε όλες τις γραμμές της το profile της πρώτης εικόνας, η εικόνα θα ήταν όπως φαίνεται η δεύτερη.



Εικόνα 123: Spatial profile γραμμής και εικόνα προς εξαγωγή spatial profile

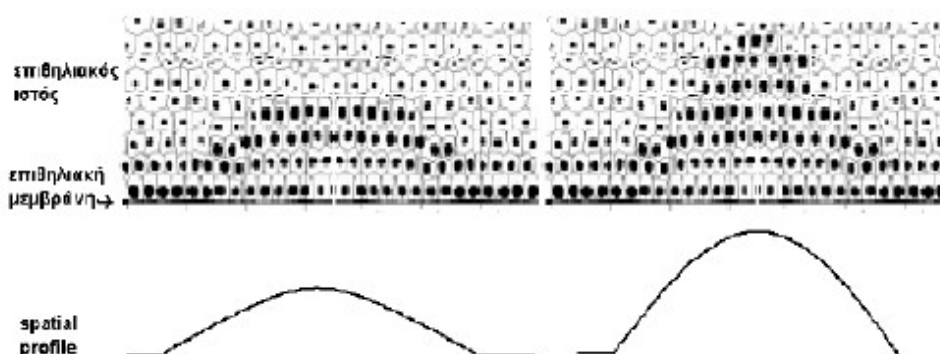
Γενικά τα profiles που εξάγονται μπορούν να έχουν οποιαδήποτε μορφή. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται τρία τυχαία profiles γραμμών της subtracted εικόνας για την ασθενή 16\_72 από το νοσοκομείο Αλεξάνδρα.



Εικόνα 124: Spatial profiles 3 τυχαίων γραμμών της εικόνας (ασθενής 16\_72 νοσοκομείο Αλεξάνδρα)

### Ερμηνεία των profiles στον επιθηλιακό ιστό

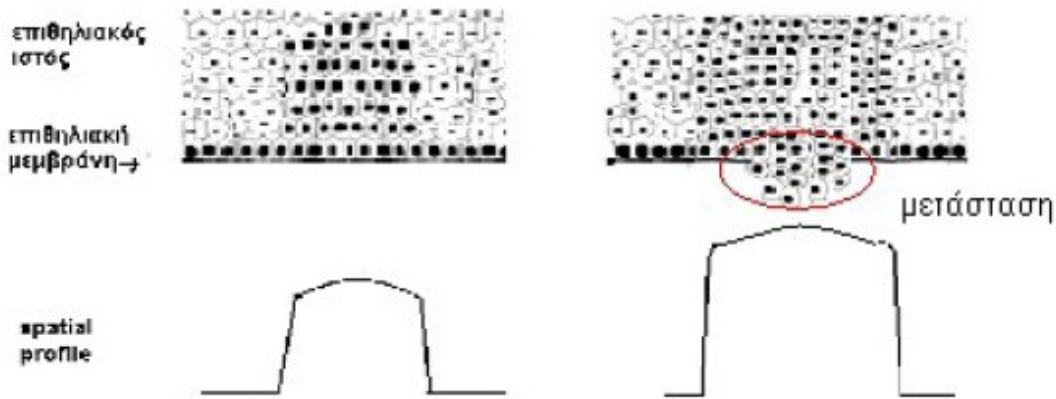
Τα παθογόνα κύτταρα του επιθηλιακού ιστού ανάλογα με την ποσότητα και την τοπολογία τους στο επιθήλιο δίνουν ένα τρόπο και ένα ποσοστό ασπρίσματος (AW) μετά τον ψεκασμό του οξικού οξέος. Στη συνέχεια αναφέρεται η σχέση της μορφής των spatial profiles με την τοπολογία των παθογόνων κυττάρων. Υποθέτοντας ότι τα κύτταρα απεικονίζονται με έντονο μαύρο χρώματος πυρήνα και ότι είναι δυνατή η απεικόνιση της πλάγιας όψης του επιθηλίου, παρακάτω παρουσιάζονται υποθετικά profiles και ερμηνεύονται με βάση την κατάσταση του επιθηλίου.



Εικόνα 125: Υποθετικά profiles για καρκινικά κύτταρα που εκτείνονται στα πλάγια του επιθηλίου

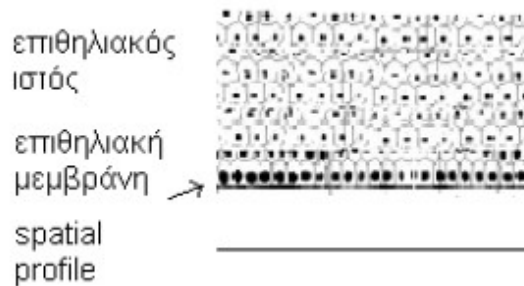
Τα παθογόνα κύτταρα στην παραπάνω εικόνα τείνουν να εξαπλωθούν στα πλάγια του επιθηλίου και η αντίδραση τους με το οξικό οξύ δίνει αχνό AW οπότε τα αντίστοιχα profiles παρουσιάζουν μικρή κλίση ενώ η μέγιστη τιμή των profiles εξαρτάται από το πλήθος των παθογόνων κυττάρων κατά βάθος του ιστού (ένταση AW).

Στην περίπτωση που τα παθογόνα κύτταρα εξαπλώνονται κατά βάθος του ιστού τα αντίστοιχα profiles παρουσιάζονται παρακάτω με φανερά πιο μεγάλη κλίση και μέγιστη τιμή που εξαρτάται από το πλήθος των παθογόνων κυττάρων αντίστοιχα.



Εικόνα 126: Υποθετικά profiles για καρκινικά κύτταρα που εκτείνονται στο βάθος του επιθηλίου

Τα πιο επικίνδυνα profiles είναι αυτά με μεγάλη κλίση και peak τιμή διότι υποδηλώνουν πιθανή μετάσταση του καρκίνου. Ο φυσιολογικός μη-παθογόνος ιστός ιδανικά θα είχε το profile:



Εικόνα 127: Spatial profile φυσιολογικού – μη παθογόνου ιστού

Τα profiles αυτά είναι υποθετικά. Ο καθρεπτισμός των profiles στον άξονα x αντιπροσωπεύει την τοπολογία των παθογόνων κυττάρων μέσα στο επιθήλιο. Οποιαδήποτε μορφή-τοπολογία βλάβης γίνεται αντιληπτή μέσω του AW και του demarcation, λόγω του ποσού και της θέσης των παθογόνων κυττάρων που αντιδρούν με το οξικό οξύ. Από τα αναφερόμενα το demarcation μπορεί να λειτουργήσει με την έννοια της πρόβλεψης της κατεύθυνσης των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο. Η απόδειξη του φαινομένου αυτού απαιτεί ιατρικές και χρονοβόρες έρευνες που δεν είναι στα πλαίσια του μηχανικού.

## Ερμηνεία Χαρακτηριστικών και Εξαγωγή Παραμέτρων

Στις εικόνες των ασθενών αναζητούνται χαρακτηριστικά που να εκφράζουν το demarcation της αλλοίωσης. Εξάγονται χαρακτηριστικά (feature extraction) σε κάθε εικόνα που αποδίδουν με μαθηματικούς αριθμούς αυτό που η ανθρώπινη όραση αντιλαμβάνεται ως demarcation στην εικόνα. Η διαδικασία αυτή γίνεται για την ποσοτικοποίηση του demarcation της βλάβης.

Κάθε υποπεριοχή της εικόνας που ασπρίζει μετά τον ψεκασμό του οξικού οξέος αποτυπώνεται στην εικόνα ως περιοχή υψηλής έντασης. Όσο περισσότερο ασπρίζει μια υποπεριοχή τόσο πιο μεγάλη η ένταση της εικόνας στην υποπεριοχή αυτή και τόσο πιο επικίνδυνη η εξέλιξη της πάθησης του ασθενή.

Οι εντάσεις στην subtracted εικόνα σε σχέση με το χάρτη του DYSIS ύστερα από μετρήσεις δείχνει ότι, εντάσεις με τιμές 0-20 δε χρωματίζονται στο χάρτη DYSIS, τιμές με ένταση 20-50 είναι μπλε ανοικτό, τιμές με ένταση 50-60 αρχίζουν να γίνονται σκούρο μπλε, τιμές με ένταση 60-75 γίνονται πράσινες, τιμές με ένταση 75-95 γίνονται κόκκινες και τιμές από 95 και πάνω χρωματίζονται άσπρες. Η αντιστοιχία των χρωμάτων στο χάρτη με τις αλλοιώσεις αναφέρονται συγκεντρωμένες και στον παρακάτω πίνακα:

<u>Τιμές έντασης</u>	<u>Χάρτης DYSIS</u>
0-20	χωρίς χρώμα
20-50	μπλε ανοικτό
50-60	σκούρο μπλε
60-75	πράσινο
75-95	κόκκινο
95-...	άσπρο

Πίνακας 13: Αντιστοιχία των χρωμάτων στο χάρτη DYSIS

Υπάρχει περίπτωση η άσπρη υποπεριοχή (αν υπάρχει) στο χάρτη του DYSIS να περιστοιχίζεται από τα υπόλοιπα χρώματα όπως κόκκινο, πράσινο και μπλε σκούρο (άρα από μικρότερες τιμές έντασης) σε μεγάλη έκταση. Σε αυτή την περίπτωση το contrast (η αντίθεση) της subtracted εικόνας δεν είναι πολύ μεγάλο γιατί το άσπρο κάποιες υποπεριοχής της σβήνει ομαλά καθώς απομακρυνόμαστε από αυτήν.

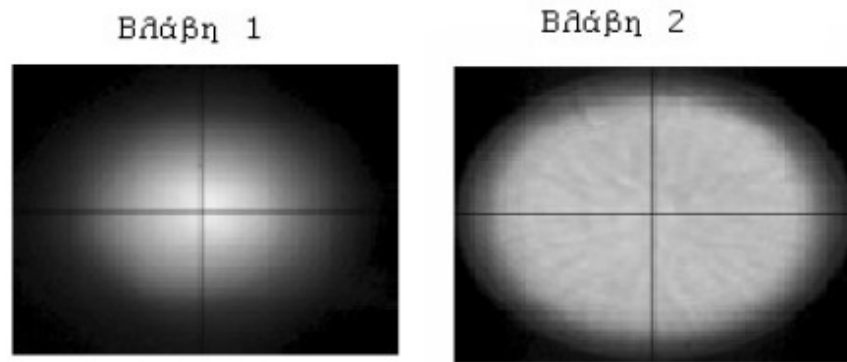
Το demarcation της βλάβης σε τέτοιες περιπτώσεις είναι μικρό και πιθανολογούμε ότι τα παθογόνα κύτταρα έχουν την τάση εξέλιξης-μετάδοσης κατά μήκος του επιθηλιακού ιστού. Μικρή τιμή του demarcation ερμηνεύεται ως πιθανή τάση κατεύθυνσης των παθογόνων κυττάρων προς τα 'πλάγια' του ιστού, παρατήρηση που έχει την έννοια της πρόβλεψης.

Στην αντίθετη περίπτωση, η οποία θεωρείται και πιο επικίνδυνη, η άσπρη υποπεριοχή (αν υπάρχει) στο χάρτη DYSIS δεν περιστοιχίζεται από άλλα χρώματα σε μεγάλη έκταση ή από χρώματα μικρών εντάσεων όπως μπλε και μαύρο. Το contrast (αντίθεση) της subtracted εικόνας στην περίπτωση αυτή θα είναι μεγαλύτερο. Το demarcation της βλάβης σε τέτοιες περιπτώσεις είναι μεγάλο και πιθανολογείται ότι τα παθογόνα κύτταρα έχουν την τάση εξέλιξης-μετάδοσης κατά βάθος του επιθηλιακού ιστού -περίπτωση μετάστασης-, η οποία δεν ανιχνεύεται με γυμνό μάτι. Οι περιπτώσεις αυτές είναι και οι πιο επικίνδυνες από ιατρικής πλευράς διότι μπορεί η ιατρική εγχείρηση

να μη φτάσει στο κατάλληλο βάθος του επιθηλίου ώστε να αφαιρεθούν τα καρκινικά κύτταρα τα οποία εξελίσσονται κατά την κατεύθυνση αυτή και να προκαλέσουν πιθανώς μετάσταση στο μέλλον σπάζοντας τον επιθηλιακό ιστό.

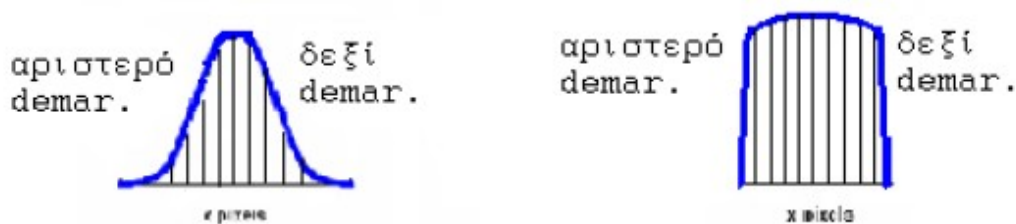
Οι μαθηματικοί αριθμοί που θα προκύψουν από την εξαγωγή χαρακτηριστικών (feature extraction) 'μετρούν' το demarcation των subtracted εικόνων το οποίο εν συνεχεία παρέχει και την πρόβλεψη κατεύθυνσης των παθογόνων κυττάρων όπως αναφέρθηκε.

Τα παραπάνω αναλύονται μέσω του κώδικα που θα αναλύσουμε παρακάτω. Για την ανάλυση παρουσιάζονται ιδανικά παραδείγματα εικόνων. Έστω λοιπόν, οι subtracted εικόνες παρακάτω οι οποίες έχουν AW ίσης έντασης στο κέντρο τους.



Εικόνα 128: Low demarcated βλάβη – High demarcated βλάβη

Η πρώτη εικόνα αναφέρεται στην πρώτη περίπτωση όπου το demarcation της βλάβης είναι μικρότερο και οι εντάσεις 'σβήνουν' σταδιακά στα άκρα ενώ η βλάβη της δεύτερης εικόνας έχει μεγαλύτερο demarcation και η ένταση της μεταβάλλεται απότομα στα όρια παθογόνων-υγιών κυττάρων. Αναζητούνται χαρακτηριστικά τα οποία το εκφράζουν. Εξάγοντας τα spatial profiles της γραμμής στο κέντρο της κάθε εικόνας προκύπτει:

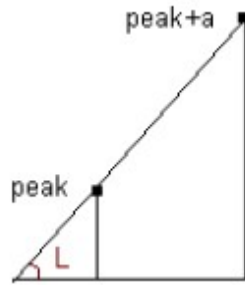


Εικόνα 129: Spatial profile low contrast εικόνας και spatial profile high contrast εικόνας

Το πρώτο profile είναι μια καμπάνα που παίρνει τη μέγιστη τιμή της (peak) στο κέντρο και με διασπορά που καθορίζει πόσο απότομα μηδενίζεται η ένταση. Στο δεύτερο profile η μέγιστη τιμή διατηρείται για κάποιο διάστημα και παίρνει επίσης μια peak τιμή έντασης η οποία μηδενίζεται πολύ απότομα στα άκρα της βλάβης.

Το demarcation εξαρτάται όχι μόνο από τις κλίσεις του εκάστοτε profile οι οποίες εκφράζουν την απότομη ή μη αλλαγή έντασης, αλλά και από τη μέγιστη τιμή της έντασης (peak) του διότι ως οπτικό χαρακτηριστικό της εικόνας το οποίο γίνεται αντιληπτό μέσω του contrast (αντίθεσης). Όσο μεγαλύτερο το  $\Delta I$  της υποπεριοχής με ένταση  $I + \Delta I$ , με  $I$  να εκφράζει την ένταση του γενικού background, τόσο πιο αντιληπτό το contrast (η αντίθεση) της εικόνας. Μπορεί διαφορετικά profiles να έχουν ίση τιμή κλίσης αλλά οπτικά η βλάβη και το demarcation δε γίνονται το ίδιο αντιληπτά.

Σχηματικά:



Εξάγονται τα ακόλουθα χαρακτηριστικά ανά εικόνα από οποία εξαρτάται το demarcation:

1. η peak τιμή της εικόνας η οποία εκφράζει το βαθμό ασπρίσματος που γίνεται αντιληπτό
2. η γεωμετρική κλίση από τις μικρές τιμές έντασης μέχρι την (τις) peak τιμή (τιμές) στα όρια της βλάβης

Η βλάβη οριοθετείται από τις κλίσεις αυτές, οι τιμές των οποίων εκφράζουν την απότομη ή μη αλλαγή της έντασης. Κλίση με μεγάλη τιμή αποδεικνύει και απότομη αλλαγή της έντασης άρα στην ιατρική εικόνα ερμηνεύεται ως έντονο demarcation της βλάβης δίνοντας την πρόβλεψη για κατεύθυνση των καρκινικών κυττάρων προς το βάθος του ιστού, ενώ κλίση με μικρότερη τιμή σημαίνει μικρότερο demarcation της βλάβης με πρόβλεψη για κατεύθυνση των καρκινικών κυττάρων στα πλάγια του ιστού.

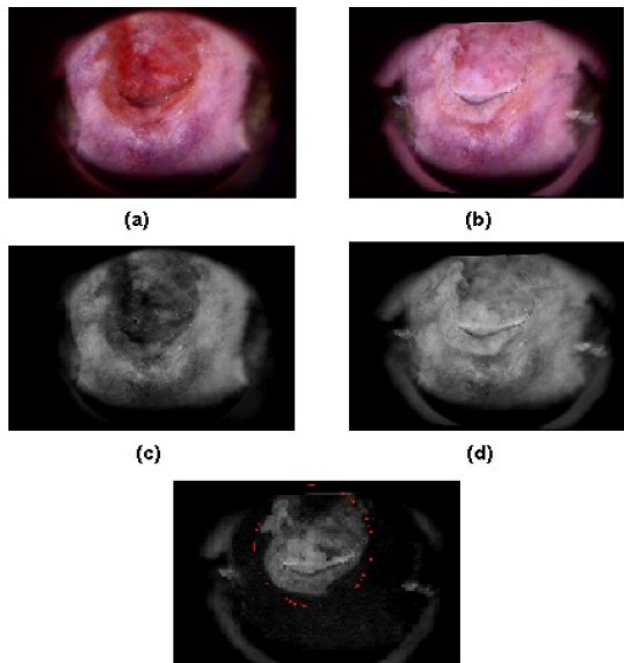
## Βήματα του αλγορίθμου εξαγωγής χαρακτηριστικών

Τα δεδομένα μας είναι οι ψηφιακές subtracted, grayscale στο πράσινο εικόνες bitmap μεγέθους 407KB, διαστάσεων 562X740 που έχουν ληφθεί από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS κατά τη γυναικολογική εξέταση. Οι εικόνες αυτές προκύπτουν από όσα αναφέρονται παρακάτω και περιέχουν το μέγιστο AW σε όλα τα pixels.

Το DYSIS απεικονίζει ψηφιακά τον ιστό κάθε γυναίκας που υποβάλλεται στην εξέταση από την χρονική στιγμή  $t=0$  όπου δεν έχει ψεκαστεί το οξικό οξύ ανά 5 s μέχρι την χρονική στιγμή  $t=240$  s. Το μέγιστο AW συμβαίνει τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  όπου οι καμπύλες δίνουν το μέγιστο peak. Το DYSIS λύνει το πρόβλημα των αυθόρμητων κινήσεων των ιστών είτε της ασθενούς κάνοντας ευθυγράμμιση (registration) όλων των εικόνων που λαμβάνει. Οι εικόνες που επεξεργαζόμαστε στην εργασία είναι εικόνες που αναφέρονται στις χρονικές στιγμές  $t=0$  και  $t=\tau$ .

Έχει αποδειχτεί ότι η μέγιστη αντίθεση μεταξύ παθογόνου και μη παθογόνου ιστού είναι ορατή στο μήκος κύματος  $\lambda=525\pm 15\text{nm}$ . Για το λόγο αυτό οι RGB λαμβανόμενες εικόνες από το DYSIS γίνεται grayscale στο πράσινο. Εν συνεχεία η τελική εικόνα επεξεργασίας μας (subtracted) προκύπτει από τη χρονική στιγμή  $t=\tau$  αφαιρώντας την εικόνα την χρονική στιγμή  $t=0$  με σκοπό τον αποκλεισμό άσπρων εκ γενετής περιοχών που πιθανόν να ερμηνευτούν ως AW. Η αφαίρεση γίνεται ανά pixel. Η subtracted εικόνα περιέχει μόνο την αλλαγή που συνέβη ύστερα από χρόνο  $t=\tau$  άρα μόνο το AW μαζί με θόρυβο εικόνας ο οποίος εκτός του συνηθισμένου ψηφιακού θορύβου προέρχεται και από εργαλεία εξέτασης.

Κάθε subtracted εικόνα αναφέρεται σε μία ασθενή. Η διαδικασία απόκτησης της subtracted αναφέρεται στην παρακάτω εικόνα. Η RGB εικόνα (a) απεικονίζει τον τράχηλο της μήτρας τη χρονική στιγμή  $t=0$  ενώ η (b) την  $t=\tau$  του μέγιστου AW. Η εικόνα (c) είναι η grayscale της (a) ενώ η (d) της (b). Η subtracted είναι η εικόνα (e) όπου το AW είναι ότι φαίνεται στον κόκκινο κύκλο. Ο άσπρος κύκλος και οι κουκκίδες είναι θόρυβος από ανακλάσεις των εργαλείων εξέτασης.

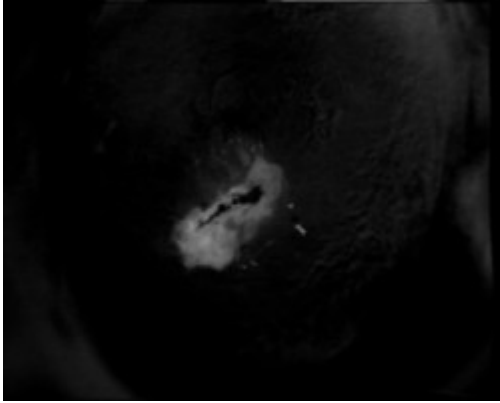


Εικόνα 130: Τρόπος εξαγωγής των subtracted εικόνων

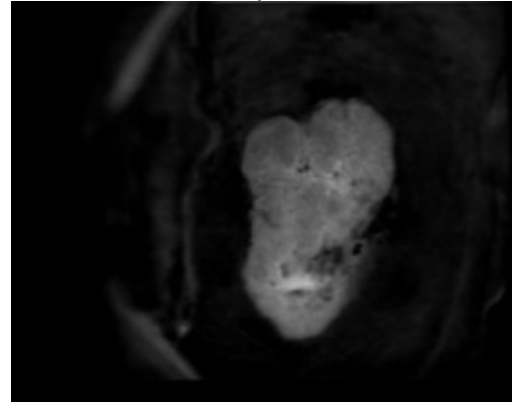
Οι εικόνες που επεξεργαζόμαστε στην εργασία είναι οι subtracted και κάποια παραδείγματα τέτοιων εικόνων φαίνονται παρακάτω (τόσο για την περίπτωση true positive όσο και για την περίπτωση true negative ασθενή):

### True positive ασθενείς

Ασθενής 16\_72

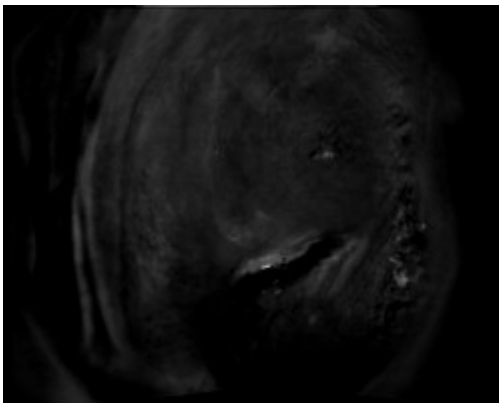


Ασθενής 84\_208

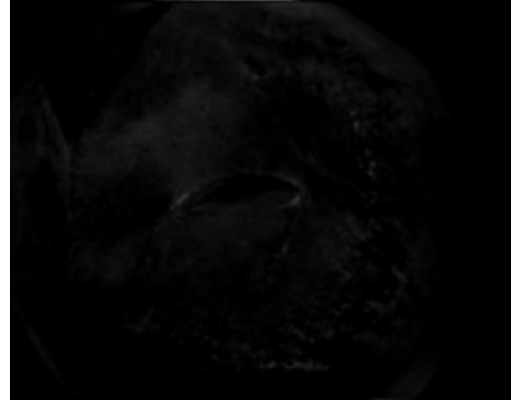


### True negative ασθενείς

Ασθενής 9\_65



Ασθενής 10\_66



Εικόνα 131: Παραδείγματα subtracted εικόνων

Η εικόνας αρχικά διαβάζεται από το MATLAB και φορτώνεται ως πίνακας, όπου κάθε καταχώρισή του περιέχει τις grayscale τιμές έντασης κάθε pixel. Την αρχική μας εικόνα την ονομάζουμε  $X$ . Στη συνέχεια εμφανίζουμε την αρχική εικόνα.

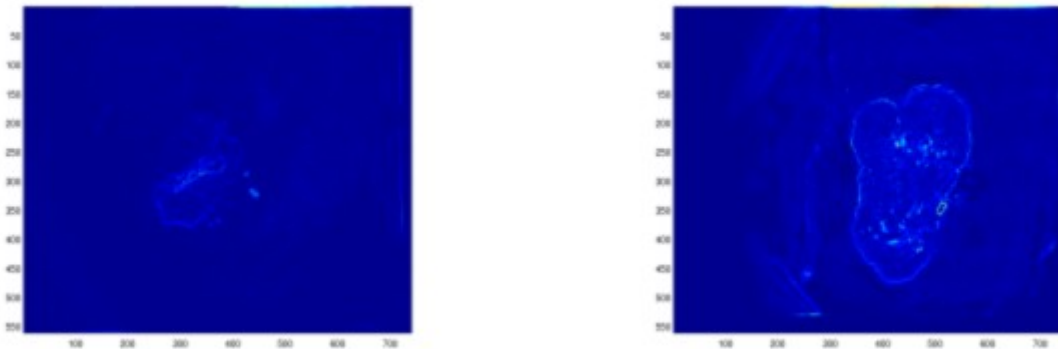
Το επόμενο, και πολύ σημαντικό βήμα του αλγορίθμου εξαγωγής χαρακτηριστικών είναι ο υπολογισμός της τιμής του gradient της εικόνας  $X$ . Στο σημείο αυτό, λαμβάνουμε τις  $x$  και  $y$  συνιστώσες του δύο διαστάσεων αριθμητικού gradient της εικόνας. Το  $s_{ix}$  αντιστοιχεί στο  $\partial X/\partial x$ , τις διαφορές στη  $x$  (οριζόντια) κατεύθυνση. Το  $s_{iy}$  αντιστοιχεί στο  $\partial X/\partial y$ , τις διαφορές στην  $y$  (κάθετη) κατεύθυνση. Η απόσταση ανάμεσα στα σημεία σε κάθε κατεύθυνση θεωρείται ότι είναι μία. Έτσι έχοντας λάβει τις τιμές του gradient και στις δύο συνιστώσες  $x$  και  $y$  (και ως προς τις δύο κατευθύνσεις δηλαδή, κάθετη και οριζόντια), μπορούμε να υπολογίσουμε το μέγεθος του gradient συνολικά και ως προς τις δύο αυτές

κατευθύνσεις λαμβάνοντας απλά την τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των  $s_{ix}$  και  $s_{iy}$ .

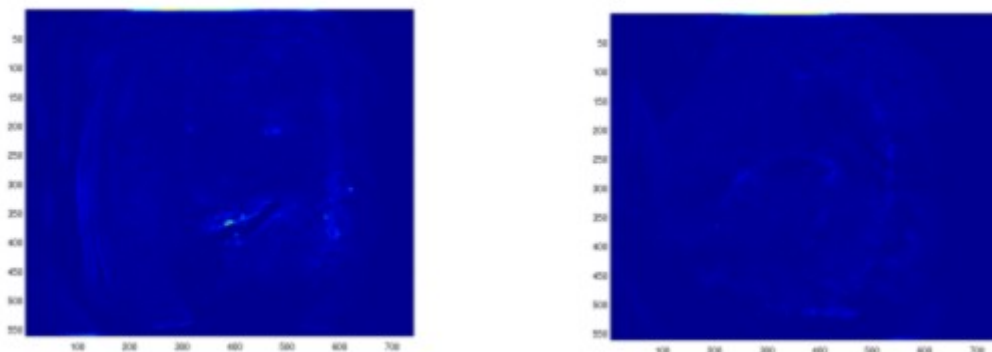
Στη συνέχεια εμφανίζουμε την εικόνα που μας δίνει το gradient της αρχικής εικόνας  $X$ . Παρατηρώντας την εικόνα αυτή επιβεβαιώνουμε και την επιλογή μας να εκμεταλλευτούμε τα πλεονεκτήματα που μας δίνει το gradient για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών της εικόνας. Επίσης στο σημείο αυτό υπολογίζουμε τις μέγιστες τιμές τόσο της έντασης της αρχικής εικόνας, όσο και του gradient.

Οι εικόνες που προκύπτουν μετά τον υπολογισμό του gradient των τεσσάρων παραπάνω εικόνων είναι οι εξής:

#### True positive ασθενείς



#### True negative ασθενείς



Εικόνα 132: Εικόνες gradient των subtracted εικόνων

Προχωράμε μετά στον υπολογισμό ενός μεγέθους που μας δίνει ένα συνδυασμό των παραμέτρων έντασης και gradient.

Το demarcation μιας εικόνας, εξαρτάται όχι μόνο από την απότομη αλλαγή ή μη αλλαγή έντασης (κλίση) στα όρια της βλάβης αλλά και από τη μέγιστη τιμή (peak). Αν και τα δύο αυτά μεγέθη έχουν μεγάλες τιμές το demarcation της βλάβης αναμένεται μεγάλο. Για το λόγο αυτό επιθυμούμε μια γραμμική σχέση μεταξύ των peak τιμών και των κλίσεων. Βασιζόμενοι σε αυτό υπολογίζουμε μια παράμετρο που εκφράζει το συνδυασμό των τιμών έντασης και gradient μιας εικόνας.

Η παράμετρος αυτή ονομάζεται  $y$  και υπολογίζεται ως εξής:

$$y = 70\% * XX + 30\% * s_{ii}$$

όπου τα μεγέθη  $XX$  και  $s_{ii}$  προέκυψαν μετά από κανονικοποίηση των μεγεθών  $X$  και  $s_i$ . Το μέγεθος  $X$  κανονικοποιήθηκε ως προς την τιμή 230 ( $XX = X/230$ ) που αυτή η τιμή είναι και η μέγιστη τιμή έντασης που παρουσιάζουν οι αρχικές εικόνες, το δε μέγεθος  $s_i$  κανονικοποιήθηκε ως προς  $\sqrt{2}$ . Αυτό έγινε επειδή το μέγεθος  $s_i$  είναι η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των  $s_{ix}$  και  $s_{iy}$ . Τα  $s_{ix}$  και  $s_{iy}$  εκφράζουν γωνίες άρα η μέγιστη τιμή που μπορούν να λάβουν είναι 1. Άρα το μέγεθος  $s_i$  μπορεί να λάβει ως μέγιστη τιμή :

$$s_i = \sqrt{1+1} = \sqrt{2}$$

Συνοψίζουμε λοιπόν λέγοντας ότι το μέγεθος  $XX$  είναι:

$$XX = \frac{X}{230}$$

και το μέγεθος  $s_{ii}$  είναι:

$$s_{ii} = \frac{s_i}{\sqrt{2}} = \frac{s_i}{1.4}$$

Όλη η παραπάνω διαδικασία έγινε ώστε όταν υπολογίζουμε το συνδυασμό των δύο παραπάνω παραμέτρων να έχουμε το ίδιο εύρος τιμών και τα δύο μεγέθη να είναι συγκρίσιμα και προσθέσιμα. (η παράμετρος της έντασης κυμαίνεται πλέον μετά την κανονικοποίηση από 0 έως 1 και η παράμετρος του gradient κυμαίνεται από 0 έως  $\sqrt{2}$ ). και να μπορούν μετά να εφαρμοστούν σε αυτές τις παραμέτρους τα αντίστοιχα βάρη 70% και 30%.

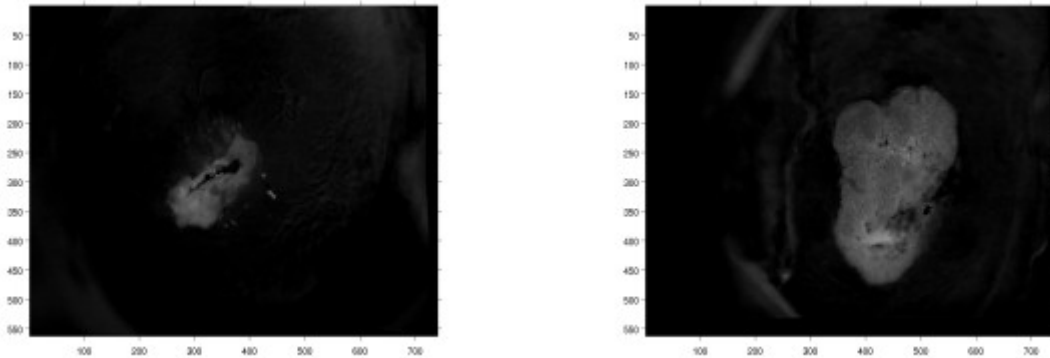
Η επιλογή των βαρών 70% και 30% αντίστοιχα σε κάθε παράμετρο έγινε μετά από δοκιμές διαφόρων συνδυασμών βαρών. Δοκιμάστηκε τόσο ο συνδυασμός 50%-50% όσο και ο συνδυασμοί 20%-80% αλλά και 80%-20%. Για παράδειγμα ο συνδυασμός 50%-50% ανά χαρακτηριστικό έγινε για δύο λόγους, διότι η αντίληψη του demarcation εξαρτάται εξίσου από τα δύο αυτά χαρακτηριστικά και το ποσοστό 50% μπορεί να διαχωρίσει καλύτερα τις positive (high grade) και negative (low grade) βλάβες.

Όμως παρατηρήθηκε ότι με τον παραπάνω συνδυασμό δε δινόταν αρκετά μεγάλο ποσοστό στην παράμετρο της έντασης ενώ αντίστοιχα δινόταν μεγάλο ποσοστό στην παράμετρο του gradient. Έτσι συνέβαινε να εμφανίζονται ως παθογενείς κάποιες low grade εικόνες με ίδιο βαθμό παθογένειας όπως και οι high grade εικόνες. Αυτό οδηγούσε σε λανθασμένα συμπεράσματα καθώς φάνηκε ότι ήταν αναγκαίο η απόδοση μεγαλύτερου ποσοστού στην παράμετρο ένταση. Για τον ίδιο λόγο φυσικά αποκλείστηκε και ο συνδυασμός 20%-80%.

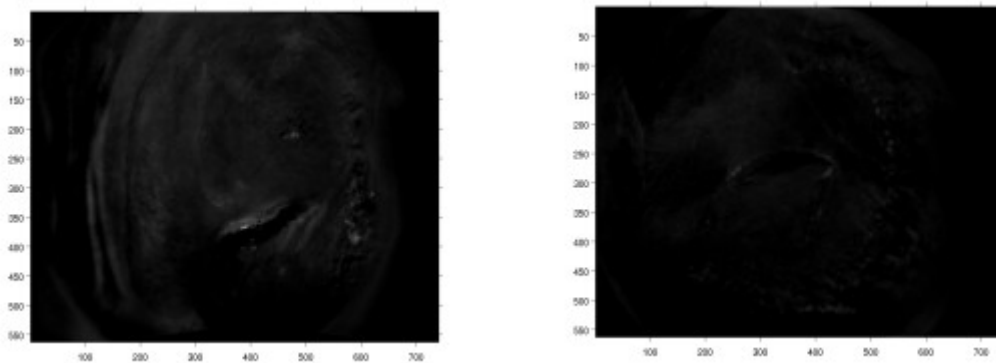
Στην περίπτωση του συνδυασμού 80%-20%, παρατηρήσαμε ότι αρχίσαμε να χάνουμε πληροφορία από την παράμετρο gradient, οπότε τελικά καταλήξαμε ότι ο πιο ελκυστικός συνδυασμός ήταν αυτός του 70% ποσοστό για την παράμετρο ένταση και 30% ποσοστό για την παράμετρο gradient.

Στο τέλος της παραπάνω διαδικασίας εμφανίζουμε την εικόνα του συνδυασμού των δύο παραμέτρων ένταση και gradient (την οποία ονομάσαμε  $\gamma$ ). Οι εικόνες που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία είναι οι εξής:

### True positive ασθενείς



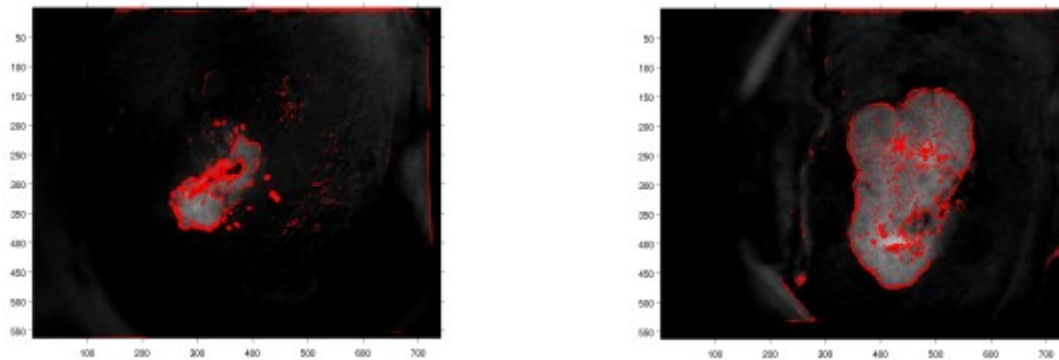
### True negative ασθενείς



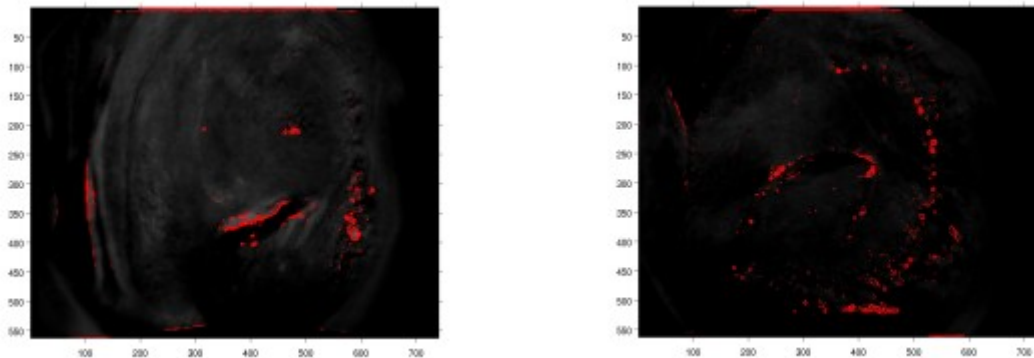
Εικόνα 133: Εικόνες που έχουν προκύψει μετά την εφαρμογή των βαρών 70% ένταση – 30% gradient

Ένα επόμενο βήμα του αλγορίθμου εξαγωγής χαρακτηριστικών ήταν η εφαρμογή μιας τιμής κατώφλιου στην εικόνα του gradient. Θέσαμε ως κατώφλι στην εικόνα του gradient, την τιμή 0.04. Έτσι σαρώνοντας την αρχική εικόνα τόσο κατά τις γραμμές όσο και κατά τις στήλες τις, διαλέγαμε εκείνα τα pixels της που είχαν gradient μεγαλύτερο από 0.04. Τα pixels αυτά τα ψευδοχρωματίζαμε σε έναν άλλο πίνακα (εδώ `rgbimage2`) με κόκκινο χρώμα. Τον πίνακα `rgbimage2` τον κατασκευάσαμε να έχει ίδιες διαστάσεις με τον πίνακα της αρχικής εικόνας (τον `X`), εκμεταλλευόμενοι τη δυνατότητα αναπαραγωγής πινάκων που μας δίνει η MATLAB. Οι εικόνες που προκύπτουν από την παραπάνω διαδικασία είναι οι εξής:

#### True positive ασθενείς



#### True negative ασθενείς



Εικόνα 134: Ψευδοχρωματισμένες εικόνες για τα pixels της subtracted εικόνας που έχουν gradient μεγαλύτερο από 0.04

Παράλληλα όμως θέλαμε και να καταμετρήσουμε τα pixels αυτά που έχουν gradient μεγαλύτερο από το παραπάνω κατώφλι. Αυτό έγινε χρησιμοποιώντας μια μεταβλητή  $k$ . Η μεταβλητή αυτή αρχικοποιήθηκε στο 0 ( $k=0$ ). Έπειτα μέσα στην επαναληπτική διαδικασία σάρωσης του πίνακα  $X$  για τον έλεγχο των τιμών των gradient των pixels του, προσαυξάναμε κατά ένα ( $k=k+1$ ), την τιμή της μεταβλητής  $k$ . Κάθε φορά λοιπόν που συναντήσουμε pixel με τιμή gradient μεγαλύτερη από 0.04 και το ψευδοχρωματίζαμε ως κόκκινο και το καταμετρήσαμε.

Καταλήξαμε έτσι να εμφανίσουμε στο σημείο αυτό μια εικόνα που είναι ίδιων διαστάσεων με την αρχική, που έχει ψευδοχρωματισμένα τα pixels με τα επιθυμητά gradient σύμφωνα με το κατώφλι που θέσαμε και μας δίνει την πληροφορία του πόσα pixels (σε αριθμό) είναι αυτά.

Στη συνέχεια πρέπει να συνδυαστούν τα δύο παραπάνω βήματα ώστε να μπορέσουμε να προχωρήσουμε στην εξαγωγή των χαρακτηριστικών της εικόνας. Πρέπει δηλαδή να συνδυάσουμε τόσο την πληροφορία των pixels με τα υψηλά gradient ( $\text{gradient} > 0.04$ ) τόσο την πληροφορία που μας παρέχει η εικόνα  $\gamma$  (με τα βάρη 70%-30%). Με τον τρόπο αυτό θα μπορέσουμε να δημιουργήσουμε ομάδες (κλάσεις) από pixels της εικόνας, τα οποία θα παρουσιάζουν κάποια χαρακτηριστικά. Έπειτα θα επεξεργαστούμε κατάλληλα αυτές τις κλάσεις για να μπορέσουμε και να αποδώσουμε κάποιες τιμές demarcation αλλά και να διαχωρίσουμε τις high grade από τις low grade αλλοιώσεις.

Αρχικά σαρώνουμε τον πίνακα της αρχικής εικόνας κατά όλες τις στήλες και όλες τις γραμμές του. Θέτουμε ως πρώτο έλεγχο ροής του αλγορίθμου, τα pixels με τα επιθυμητά gradient. Με τον τρόπο αυτό επεξεργαζόμαστε μόνο εκείνα τα pixels με gradient μεγαλύτερο από 0.04, δηλαδή εκείνα τα pixels που έχουμε ψευδοχρωματίσει κόκκινα.

Έπειτα χωρίζουμε σε τέσσερις κλάσεις τον πίνακα  $\gamma$  (τον πίνακα με το συνδυασμό των τιμών έντασης και gradient). Η μέγιστη τιμή που μπορεί να λάβει ο πίνακας  $\gamma$  έχουμε θέσει να είναι η τιμή 1. Παρόλο που η μέγιστη τιμή του πίνακα  $\gamma$  μπορεί να είναι η  $\sqrt{2}$ , αν η τιμή του gradient είναι  $\sqrt{2}$  και η τιμή της έντασης 1, επειδή αυτή η περίπτωση δεν παρουσιάζεται παρά μόνο σε πολύ λίγες περιπτώσεις κρατάμε ως μέγιστη τιμή του πίνακα  $\gamma$  την τιμή 1 για όλες τις εικόνες.

Έχοντας τη μέγιστη τιμή που μπορεί να λάβει ο πίνακας  $\gamma$  χωρίζουμε τον πίνακα αυτό σε τέσσερα διαστήματα τιμών, τέσσερις κλάσεις. Οι κλάσεις αυτές είναι:

- 1η κλάση: από 0 έως  $\text{max}_y/12$
- 2η κλάση: από  $\text{max}_y/12$  έως  $\text{max}_y/6$
- 3η κλάση: από  $\text{max}_y/6$  έως  $\text{max}_y/3$
- 4η κλάση: από  $\text{max}_y/3$  έως  $\text{max}_y$

και λαμβάνοντας ως  $\text{max}_y=1$  οι παραπάνω σχέσεις γίνονται:

- 1η κλάση: από 0 έως  $1/12$
- 2η κλάση: από  $1/12$  έως  $1/6$
- 3η κλάση: από  $1/6$  έως  $1/3$
- 4η κλάση: από  $1/3$  έως 1

Θέλουμε σε αυτό το σημείο να βρούμε ποια και πόσα από τα pixels με το gradient μεγαλύτερο από 0.04 ανήκουν σε κάθε μία από τις παραπάνω τέσσερις κλάσεις.

Αν λοιπόν κάποιο από τα pixels που μας ενδιαφέρει (ψευδοχρωματισμένο κόκκινο pixel) έχει τιμή  $y$  (τιμή συνδυασμού των τιμών έντασης και gradient) μεταξύ 0 έως  $\max\_y/12$  ή διαφορετικά μεταξύ 0 έως  $1/12$  τότε το pixel αυτό το καταχωρούμε σε έναν πίνακα `rgbimage3`, και το ψευδοχρωματίζουμε με σκούρο μπλε χρώμα.

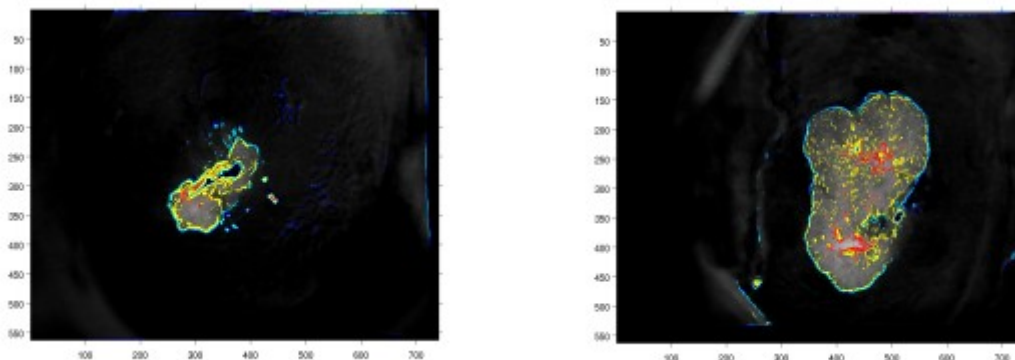
Αν κάποιο από τα pixels που μας ενδιαφέρει (ψευδοχρωματισμένο κόκκινο pixel) έχει τιμή  $y$  μεταξύ  $\max\_y/12$  έως  $\max\_y/6$  ή διαφορετικά μεταξύ  $1/12$  έως  $1/6$  τότε το pixel αυτό το καταχωρούμε στον πίνακα `rgbimage3`, και το ψευδοχρωματίζουμε με σιέλ χρώμα.

Αν κάποιο από τα pixels που μας ενδιαφέρει (ψευδοχρωματισμένο κόκκινο pixel) έχει τιμή  $y$  μεταξύ  $\max\_y/6$  έως  $\max\_y/3$  ή διαφορετικά μεταξύ  $1/6$  έως  $1/3$  τότε το pixel αυτό το καταχωρούμε στον πίνακα `rgbimage3`, και το ψευδοχρωματίζουμε με κίτρινο χρώμα.

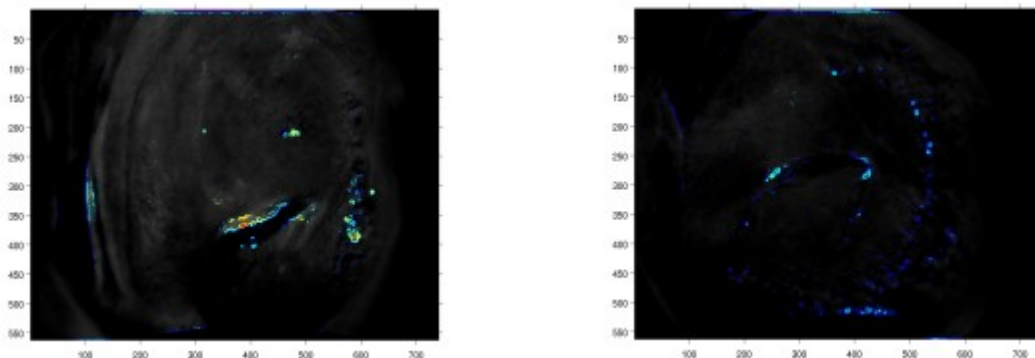
Αν κάποιο από τα pixels που μας ενδιαφέρει (ψευδοχρωματισμένο κόκκινο pixel) έχει τιμή  $y$  μεταξύ  $\max\_y/3$  έως  $\max\_y$  ή διαφορετικά μεταξύ  $1/3$  έως 1 τότε το pixel αυτό το καταχωρούμε στον πίνακα `rgbimage3`, και το ψευδοχρωματίζουμε με κόκκινο χρώμα.

Ο πίνακας `rgbimage3`, τον κατασκευάσαμε να έχει ίδιες διαστάσεις με τον πίνακα της αρχικής εικόνας (τον  $X$ ), εκμεταλλευόμενοι τη δυνατότητα αναπαραγωγής πινάκων που μας δίνει η MATLAB. Οι εικόνες που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία είναι οι εξής:

#### True positive ασθενείς



#### True negative ασθενείς



Εικόνα 135: Ψευδοχρωματισμένες εικόνες με τις τέσσερις κλάσεις (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη)

Παράλληλα θέλουμε να καταμετρήσουμε πόσα είναι τα ψευδοχρωματισμένα σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινα και κόκκινα pixels. Αυτό έγινε χρησιμοποιώντας μια μεταβλητή  $l$ ,  $m$ ,  $n$  και  $t$  αντίστοιχα για κάθε κατηγορία ψευδοχρώματος. Οι μεταβλητές αυτές αρχικοποιήθηκαν στο 0 ( $l=0$ ,  $m=0$ ,  $n=0$ ,  $t=0$ ). Κάθε φορά που κάποια pixel αντιστοιχούσε σύμφωνα με τα παραπάνω κριτήρια σε μια από τις παραπάνω τέσσερις κλάσεις η αντίστοιχη μεταβλητή προσαυξανόταν κατά 1 ( $l=l+1$ ,  $m=m+1$ ,  $n=n+1$ ,  $t=t+1$ ).

Έχοντας καταμετρήσει πόσα pixels (σε αριθμό) αντιστοιχούν σε κάθε κλάση, θέλουμε να γνωρίζουμε και τι τιμή έντασης  $y$  έχουν αυτά τα pixels. Αυτό μας ενδιαφέρει πολύ, επειδή από αυτές τις τιμές έντασης θα μπορέσουμε μετά να εξάγουμε κάποιες αριθμητικές παραμέτρους που θα είναι αντιπροσωπευτικές τις κάθε εικόνες και θα διαχωρίζουν κάθε εικόνα από τις υπόλοιπες, αποδίδοντας αντικειμενικές τιμές demarcation.

Κατασκευάζουμε τέσσερα διανύσματα γραμμής, τα  $entasi1$ ,  $entasi2$ ,  $entasi3$ , και  $entasi4$ . Τα διανύσματα αυτά αρχικοποιούνται στον 0. Στη συνέχεια κάθε ένα από αυτά τα διανύσματα λαμβάνει διαστάσεις  $1 \times l$ ,  $1 \times m$ ,  $1 \times n$ , και  $1 \times t$  αντίστοιχα για κάθε μία από τις παραπάνω τέσσερις κλάσεις. Κάθε καταχώριση των παραπάνω διανυσμάτων αποθηκεύει την τιμή  $y$  εκείνου του pixel που ανήκει:

- πρώτον στην κατηγορία των pixels με gradient μεγαλύτερα από 0.04
- δεύτερον στην πρώτη, δεύτερη, τρίτη ή τέταρτη κλάση ανάλογα με το τι χρώμα έχει ψευδοχρωματιστεί από την παραπάνω διαδικασία

Έτσι τα τέσσερα διανύσματα έχουν τις τιμές  $y$  για τα pixels κάθε μίας κλάσης. Οπότε στο σημείο αυτό μπορούμε να εμφανίσουμε την εικόνα  $rgbimage3$ , όπου θα είναι ψευδοχρωματισμένη όπως περιγράφηκε παραπάνω και για την οποία θα γνωρίζουμε πόσα pixels της, με gradient μεγαλύτερο του 0.04,

- είναι σκούρα μπλε (δηλαδή έχουν τιμή  $y$  μεταξύ 0 έως  $max\_y/12$ ),
- πόσα είναι σιέλ (δηλαδή έχουν τιμή  $y$  μεταξύ  $max\_y/12$  έως  $max\_y/6$ ),
- πόσα είναι κίτρινα (δηλαδή έχουν τιμή  $y$  μεταξύ  $max\_y/6$  έως  $max\_y/3$ ) και
- πόσα είναι κόκκινα (δηλαδή έχουν τιμή  $y$  μεταξύ  $max\_y/3$  έως  $max\_y$ )

Θα γνωρίζουμε επίσης και την ακριβή τιμή  $y$  κάθε σκούρου μπλε, σιέλ, κίτρινου και κόκκινου ψευδοχρωματισμένου pixel.

Σε επόμενο βήμα κατά την υλοποίηση του αλγορίθμου θέλουμε να σχεδιάσουμε με τη μορφή ιστογράμματος τα αποτελέσματα που λάβαμε παραπάνω, όσο αφορά τον αριθμό των pixels κάθε κλάσης.

Για να γίνει αυτό αρχικά κατασκευάζουμε ένα διάνυσμα στήλης  $H$  το οποίο έχει διαστάσεις  $length(entasi1)+length(entasi2)+length(entasi3)+length(entasi4) \times 1$ . Δηλαδή είναι ένα διάνυσμα στήλης το οποίο αποτελείται από όλα τα στοιχεία των τεσσάρων παραπάνω διανυσμάτων  $entasi1$ ,  $entasi2$ ,  $entasi3$  και  $entasi4$ .

Στο διάνυσμα αυτό  $H$ , έχουμε καταφέρει να συνενώσουμε (merge) τα παραπάνω τέσσερα διανύσματα ώστε να μπορέσουμε να απεικονίσουμε μετά στο ιστόγραμμα την κατανομή των εντάσεων των pixels κάθε κλάσης.

Επίσης για λόγους καλύτερης οπτικοποίησης του αποτελέσματος που λαμβάνουμε χωρίζουμε το ιστογράμμα στις τέσσερις κλάσεις με κόκκινες διαχωριστικές γραμμές ώστε να φανεί πόσα pixels περιέχει η κάθε κλάση (παρατηρώντας μόνο το ιστογράμμα), καθώς και τα όρια μεταξύ των κλάσεων. Τα όρια τα έχουμε θέσει εμείς και είναι οι τιμές:

$\max\_y/12$  (για την κλάση από 0 έως  $\max\_y/12$ )  
 $\max\_y/6$  (για την κλάση από  $\max\_y/12$  έως  $\max\_y/6$ )  
 $\max\_y/3$  (για την κλάση από  $\max\_y/6$  έως  $\max\_y/3$ )

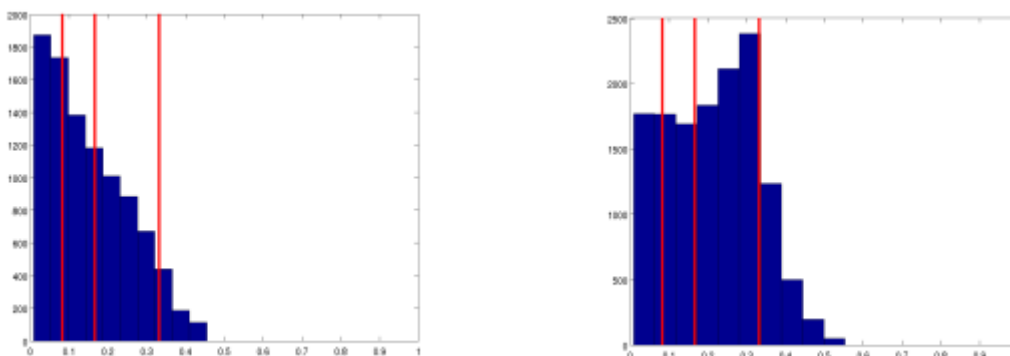
Σημείωση:

Η κλάση από  $\max\_y/3$  έως  $\max\_y$  είναι η τελευταία και φτάνει μέχρι το τέλος του ιστογράμματος, οπότε δια χρειάζεται επιπλέον διαχωριστική γραμμή.

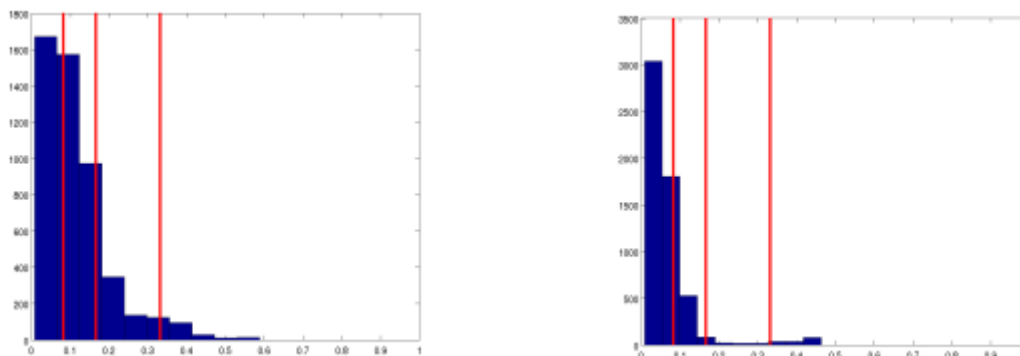
Επίσης θέσαμε ως όριο το οριζόντιου άξονα x του ιστογράμματος την τιμή 1, δηλαδή ο άξονα x εκτείνεται από 0 έως 1 σε όλα τα ιστογράμματα όλων των εικόνων. Όσο αφορά τον άξονα y αυτός διαφέρει μεταξύ των εικόνων, οπότε τον αφήσαμε να εκτείνεται στο εύρος που του αναλογεί (διαφορετικό για κάθε εικόνα, αφού ο αριθμός των pixels που μπορεί να περιέχει μια κλάση δεν είναι κάποιο σταθερό ή κοινό νούμερο για όλες τις εικόνες, αλλά διαφοροποιείται από εικόνα σε εικόνα).

Τα ιστογράμματα που προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία είναι τα εξής:

True positive εικόνες



True negative ασθενείς



Εικόνα 136: Ιστογράμματα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Στο σημείο αυτό αναφέρουμε το θεωρητικό υπόβαθρο των εννοιών μέση τιμή, τυπική απόκλιση και median τιμή, μιας και είναι οι στατιστικές παράμετροι που θεωρήσαμε ικανές να μας δώσουν τα επιθυμητά εξαγόμενα χαρακτηριστικά από κάθε εικόνα. Έχουμε λοιπόν να ισχύει ότι:

### Μέση τιμή

Στη στατιστική, ο όρος μέση τιμή έχει δύο έννοιες:

- η αριθμητική μέση τιμή (όπου διακρίνεται στη γεωμετρική μέση τιμή και στην αρμονική μέση τιμή)
- η αναμενόμενη τιμή (expected value) μιας τυχαίας μεταβλητής που επίσης ονομάζεται μέσος πληθυσμός (population mean)

Για μια τυχαία μεταβλητή  $X$ , η μέση τιμή είναι η αναμενόμενη (expectation) τιμή του  $X$ . Σημειώνουμε ότι δεν υπάρχει ορισμένη μέση τιμή για κάθε κατανομή πιθανότητας. Για ένα σύνολο δεδομένων, η μέση τιμή είναι το άθροισμα των παρατηρήσεων διαιρούμενο με τον αριθμό των παρατηρήσεων. Η μέση τιμή ενός συνόλου αριθμών  $x_1, x_2, \dots, x_N$  συνήθως σημειώνεται ως  $\bar{x}$  [12].

Η μέση τιμή περιγράφει την κεντρική τοποθεσία των δεδομένων και συχνά συνοδεύεται από τον όρο διακύμανση που περιγράφει την έκταση των δεδομένων. Η μέση αριθμητική τιμή, που είναι και αυτή που χρησιμοποιούμε στην υλοποίηση του αλγορίθμου, υπολογίζεται ως εξής:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Η μέση τιμή είναι ο αριθμητικός μέσος όρος ενός συνόλου τιμών, ή μιας κατανομής, και δε συμπίπτει πάντα με τη μεσαία τιμή ή την πιο πιθανή τιμή του συνόλου ή της κατανομής.

### Τυπική απόκλιση

Στη θεωρία των πιθανοτήτων και της στατιστικής, η τυπική απόκλιση ενός στατιστικού πληθυσμού, ενός συνόλου δεδομένων ή μιας κατανομής πιθανοτήτων είναι η τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης. Η τυπική απόκλιση είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μέγεθος της μεταβλητότητας ή διασποράς, όντας αλγεβρικά περισσότερο ελατό, αλλά πρακτικά λιγότερο αυτοδύναμο από ότι η αναμενόμενη απόκλιση ή η απόλυτη μέση απόκλιση.

Η τυπική απόκλιση δείχνει πόση απόκλιση υπάρχει από τη μέση τιμή. Μια χαμηλής τιμής τυπική απόκλιση υποδηλώνει ότι τα δεδομένα τείνουν πολύ κοντά στη μέση τιμή, ενώ μια υψηλή τυπική απόκλιση υποδηλώνει ότι τα δεδομένα εκτείνονται σε ένα μεγάλο εύρος τιμών.

Αν λοιπόν  $X$  είναι μια τυχαία μεταβλητή με μέση τιμή  $\mu$ :

$$E[X]=\mu$$

Εδώ ο τελεστής  $E$  υποδηλώνει το μέσο όρο ή αναμενόμενη τιμή του  $X$ . Η τυπική απόκλιση του  $X$  είναι η ποσότητα [12]:

$$\sigma = \sqrt{E[(X - \mu)^2]}$$

Το παραπάνω, η τυπική απόκλιση  $\sigma$  (σίγμα) είναι η τετραγωνική ρίζα των μέσων τιμών του  $(X-\mu)^2$ .

Στην περίπτωση όπου το  $X$  λαμβάνει τυχαίες τιμές ενός πεπερασμένου συνόλου δεδομένων  $x_1, x_2, \dots, x_N$ , με κάθε τιμή να έχει την ίδια πιθανότητα, η τυπική απόκλιση είναι:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(x_1 - \mu)^2 + (x_2 - \mu)^2 + \dots + (x_N - \mu)^2}{N}}$$

ή χρησιμοποιώντας την έκφραση με το άθροισμα:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}$$

Η τυπική απόκλιση μιας κατανομής πιθανότητας είναι η ίδια όπως μιας τυχαίας μεταβλητής που έχει αυτή την κατανομή. Δεν έχουν όλες οι τυχαίες μεταβλητές τυπική απόκλιση, αφού οι απαιτούμενες μέσες τιμές δεν υπάρχουν.

### Median τιμή

Στη θεωρία των πιθανοτήτων και της στατιστικής, η median τιμή περιγράφεται ως η αριθμητική τιμή που διαχωρίζει το υψηλότερο μισό ενός δείγματος, ενός πληθυσμού ή μιας κατανομής πιθανότητας από το χαμηλότερο μισό. Η median τιμή μιας πεπερασμένης λίστας αριθμών, μπορεί να βρεθεί διευθετώντας όλες τις παρατηρήσεις από τη χαμηλότερη στην υψηλότερη τιμή και λαμβάνοντας τη μεσαία τιμή.

Αν υπάρχει άρτιος αριθμός παρατηρήσεων, δεν υπάρχει μοναδική μεσαία τιμή, η median τιμή ορίζεται μετά ως η μέση τιμή των δύο μεσαίων τιμών. Σε ένα δείγμα δεδομένων, ή ένα πεπερασμένο πληθυσμό, μπορεί να μην υπάρχει κανένα στοιχείο στο δείγμα που να είναι ίσο με τη median τιμή (στην περίπτωση του άρτιου μεγέθους) και αν υπάρχει ένα τέτοιο στοιχείο, μπορεί να υπάρχουν περισσότερα από ένα που η median τιμή να μην είναι ακριβώς ίδια με το στοιχείο του δείγματος.

Παρόλα αυτά η τιμή της median τιμής αποφασίζεται μοναδικά με τον κλασικό ορισμό. Στο ανώτατο όριο στο ήμισυ του πληθυσμού υπάρχουν τιμές μικρότερες από τη median τιμή και στο ανώτατο όριο στο ήμισυ υπάρχουν τιμές μεγαλύτερες από τη median τιμή. Αν και οι δύο ομάδες περιέχουν λιγότερο από το μισό πληθυσμό, τότε κάποιος από

τον πληθυσμό είναι ακριβώς ίσος με τη median τιμή. Για παράδειγμα,  $a < b < c$  τότε η median τιμή της λίστας  $\{a, b, c\}$  είναι η  $b$  και αν  $a < b < c < d$  τότε η median τιμή της λίστας  $\{a, b, c, d\}$  είναι η μέση τιμή των  $b$  και  $c$  (δηλαδή  $(b+c)/2$ ). Σημειώνουμε ότι η median τιμή κάποιας μεταβλητής  $X$  ορίζεται ως  $\mu_{1/2}(X)$

## Επιλογή των τελικών παραμέτρων κάθε εικόνας

Σκοπός της εργασίας είναι να αποδίδονται σε κάθε ασθενή (σε κάθε subtracted εικόνα) τιμές τελικών παραμέτρων που προκύπτουν συναρτήσει του αριθμού των pixels κάθε κλάσης και κάποιων στατιστικών παραμέτρων όπως είναι η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση και η median τιμή. Αυτές οι τελικοί παράμετροι θα εκφράζουν και το demarcation της βλάβης.

Στο αυτό λοιπόν το στάδιο επεξεργασίας των εικόνων για την εξαγωγή χαρακτηριστικών, προσπαθήσαμε να εξάγουμε κάποιες στατιστικές παραμέτρους οι οποίες να αποδίδουν έναν αντικειμενικό, αριθμητικό χαρακτηρισμό σε κάθε εικόνα, ώστε να ξεπεραστεί ο υποκειμενικός παράγοντας κατά την εξέταση των παραπάνω ιατρικών εικόνων.

Ως κατάλληλες στατιστικές παραμέτρους κρίναμε τη μέση τιμή, την τυπική απόκλιση και τη median τιμή της κάθε κλάσης. Κάποια παραδείγματα μέσω των τιμών, τυπικών αποκλίσεων και median τιμών για εικόνες (true positive και true negative) του νοσοκομείου Αλεξάνδρα είναι τα εξής:

### True positive ασθενείς

#### Ασθενής 16\_72

<b>pixels class1=2994</b> mean class1=0.0453 std class1=0.0217 median class1=0.0451	<b>pixels class2=2661</b> mean class2=0.1217 std class2=0.0247 median class2=0.1208	<b>pixels class3=3226</b> mean class3=0.2398 std class3=0.0463 median class3=0.2357	<b>pixels class4=595</b> mean class4=0.3756 std class4=0.0329 median class4=0.3659
--	--	--	---

#### Ασθενής 84\_208

<b>pixels class1=2430</b> mean class1=0.0487 std class1=0.0201 median class1=0.0494	<b>pixels class2=2605</b> mean class2=0.1245 std class2=0.0240 median class2=0.1239	<b>pixels class3=6442</b> mean class3=0.2553 std class3=0.0477 median class3=0.2611	<b>pixels class4=2060</b> mean class4=0.3844 std class4=0.0451 median class4=0.3699
--	--	--	--

### True negative ασθενείς

Ασθενής 9\_65

<b>pixels class1=2162</b> mean class1=0.0488 std class1=0.0198 median class1=0.0504	<b>pixels class2=1881</b> mean class2=0.1203 std class2=0.0232 median class2=0.1186	<b>pixels class3=719</b> mean class3=0.2199 std class3=0.0452 median class3=0.2050	<b>pixels class4=207</b> mean class4=0.3967 std class4=0.0603 median class4=0.3774
--	--	---	---

Ασθενής 10\_66

<b>pixels class1=4372</b> mean class1=0.0434 std class1=0.0191 median class1=0.0417	<b>pixels class2=1058</b> mean class2=0.1061 std class2=0.0184 median class2=0.1009	<b>pixels class3=80</b> mean class3=0.2286 std class3=0.0509 median class3=0.2046	<b>pixels class4=145</b> mean class4=0.4122 std class4=0.0362 median class4=0.4302
--	--	--	---

Σε τελευταίο στάδιο κατά την υλοποίηση του αλγορίθμου εστιάζουμε το ενδιαφέρον μας στην τρίτη και τέταρτη κλάση pixels κάθε εικόνας. Αυτό το κάνουμε επειδή αυτές οι δύο κλάσεις είναι που μπορούν να διαχωρίσουν τις true negative από τις true positive εικόνες καθώς και τα περιστατικά της ίδιας κατηγορίας μεταξύ τους.

Έτσι υπολογίζουμε το άθροισμα των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης καθώς και το άθροισμα των γινομένων των median τιμών της τρίτης και τέταρτης κλάσης με τον αριθμό των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

### True positive ασθενείς

Ασθενής 16\_72

$$\text{pixels class3} + \text{pixels class4} =$$

**3821**

$$\text{median3} * \text{pixels class3} + \text{median4} * \text{pixels class4} =$$

**1355.4135**

---

Ασθενής 84\_208

$$\text{pixels class3} + \text{pixels class4} =$$

**8502**

$$\text{median3} * \text{pixels class3} + \text{median4} * \text{pixels class4} =$$

**3741.929**

True negative ασθενείς

Ασθενής 9\_65

pixels class3+pixels class4=  
926

median3\*pixels class3+median4\*pixels class4=  
354.4086

---

Ασθενής 10\_66

pixels class3+pixels class4=  
225

median3\*pixels class3+median4\*pixels class4=  
161.3658

## Αποτελέσματα - Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Η χρήση οξικού οξέος εντοπίζει τα (προ)-καρκινικά κύτταρα μέσω του AW και η οπτική επιθεώρηση οδηγεί σε διάγνωση του σταδίου αλλοίωσης. CIN I, II, III ή καρκίνου (κολποσκοπήση). Πειράματα στην Κίνα το 1997 απέδειξαν ότι η οπτική επιθεώρηση του AW εξισώνεται στον παράγοντα ευαισθησία (sensitivity) με την κυτταρολογία [14]. Ένα από τα χαρακτηριστικά της οπτικής επιθεώρησης του AW (σύμφωνα με το RCI) είναι και το demarcation το οποίο για πρώτη φορά μετρείται με μαθηματικούς δείκτες στα πλαίσια αυτής της διπλωματικής εργασίας.

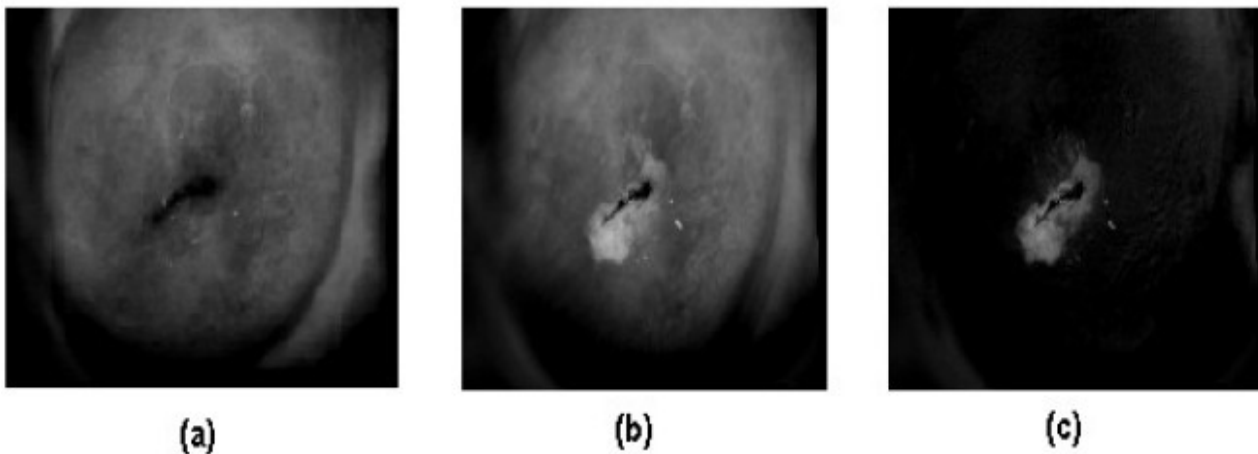
Οι τελικές παράμετροι sum και D εκφράζουν αριθμητικά το demarcation κάθε subtracted εικόνας που προκύπτει από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS. Για κάθε ασθενή που υπόκειται στη γυναικολογική εξέταση με το DYSIS μπορούν να εξαχθούν οι παράμετροι αυτοί του demarcation εξασφαλίζοντας αντικειμενικότητα του χαρακτηριστικού και παρέχοντας την έννοια της πρόβλεψης των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο.

Η μαθηματική παράμετρος D δίνει μια γενική εκτίμηση του demarcation της βλάβης. Αναμένονται μεγάλες τιμές της σε εικόνες με γενικά έντονο demarcation (high grade βλάβες) ενώ μικρές τιμές σε χαμηλό (low grade βλάβες). Με βάση τις τιμές της παραμέτρου αυτής γίνεται στη συνέχεια διαχωρισμός low και high grade βλαβών. Η παράμετρος D δίνει μια πρώτη γενική εικόνα του demarcation ενώ η παράμετρος sum αναφέρεται σε πιο τοπικό επίπεδο.

Εκμεταλλευόμενοι τα χωρικά χαρακτηριστικά των παραμέτρων μπορεί να προσδιοριστεί σα μελλοντική δουλειά η θέση του χειρότερου demarcation στην εικόνα. Όλες οι παράμετροι δίνουν μια πιθανή πρόβλεψη της κατεύθυνσης των (προ)-καρκινικών κυττάρων στο επιθήλιο τόσο στις low-grade όσο και στις high-grade βλάβες. Γενικότερα, όσο μεγαλύτερες οι τιμές των παραμέτρων σε κάθε εικόνα, τόσο πιο επικίνδυνη είναι η βλάβη.

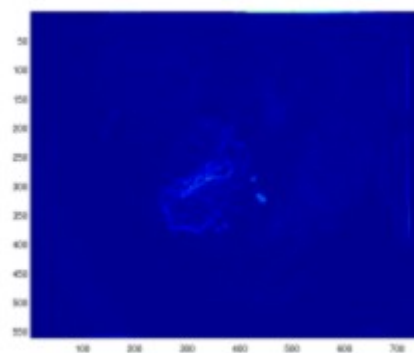
Τα αποτελέσματα που ακολουθούν προέκυψαν από εικόνες ασθενών από το Νοσοκομείο Αλεξάνδρα που υποβλήθηκαν σε γυναικολογική εξέταση με το ιατρικό μηχάνημα DYSIS. Αναλύονται 3 επιβεβαιωμένες και με βιοψία περιπτώσεις ασθενών: δύο υψηλού κινδύνου νεοπλασίες -high grade- (true positive) και μια χαμηλού -low grade- (true negative). Λαμβάνοντας σαν είσοδο τις προεπεξεργασμένες εικόνες subtracted.bmp και τρέχοντας το λογισμικό όπου υλοποιούνται οι αναφερόμενοι αλγόριθμοι και αποθηκεύονται όλες τις παραμέτρους και εξαγόμενες εικόνες, προκύπτουν τα παρακάτω.

Αναλύουμε την εικόνα του ασθενή 16\_72 του νοσοκομείου Αλεξάνδρα. Η subtracted εικόνα είναι η εικόνα που προκύπτει από την αφαίρεση των δύο πρώτων εικόνων, θεωρώντας ότι σε κάθε pixel υπάρχει το μέγιστο AW:



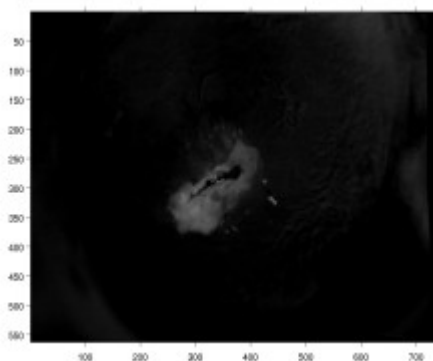
Εικόνα 137: Ασθενής 16\_72 (a) Grayscale εικόνα t=0 (b) Εικόνα t=max (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Στη συνέχεια εμφανίζουμε την εικόνα gradient που προκύπτει από την παραπάνω εικόνα:



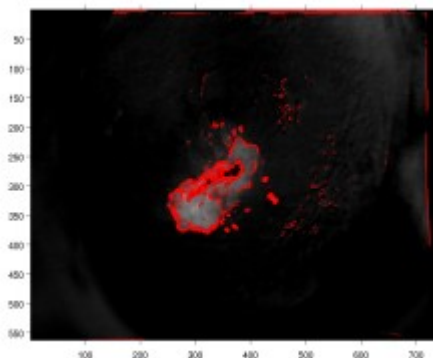
Εικόνα 138: Εικόνα gradient της subtracted εικόνας του ασθενή 16\_72

Στη συνέχεια, υπολογίζουμε για την παραπάνω εικόνα, την εικόνα με τα βάρη (ποσοστά 70% ένταση – 30% gradient) και προκύπτει η παρακάτω εικόνα:



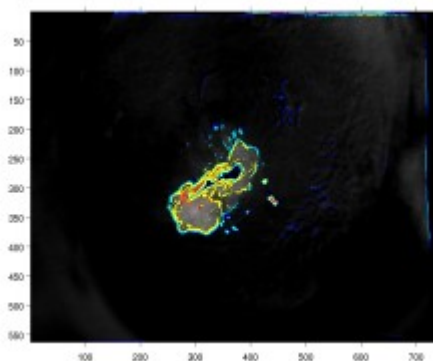
Εικόνα 139: Εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή ποσοστών 70% ένταση – 30% gradient στη subtracted εικόνα 16\_72

Στη συνέχεια παρουσιάζουμε την ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels.



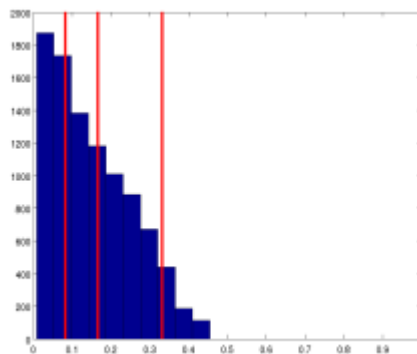
Εικόνα 140: Ψευδοχρωματισμένη εικόνα για τα pixels της subtracted εικόνας 16\_72 που έχουν gradient μεγαλύτερο από 0.04

Στο σημείο αυτό εμφανίζουμε την ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη).



Εικόνα 141: Ψευδοχρωματισμένη εικόνα της subtracted εικόνας 16\_72 με τις τέσσερις κλάσεις (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη)

Τέλος, εμφανίζουμε το ιστόγραμμα της εικόνας με χωρισμένες όλες τις περιοχές, ανάλογα με την τιμή της έντασης των pixels.



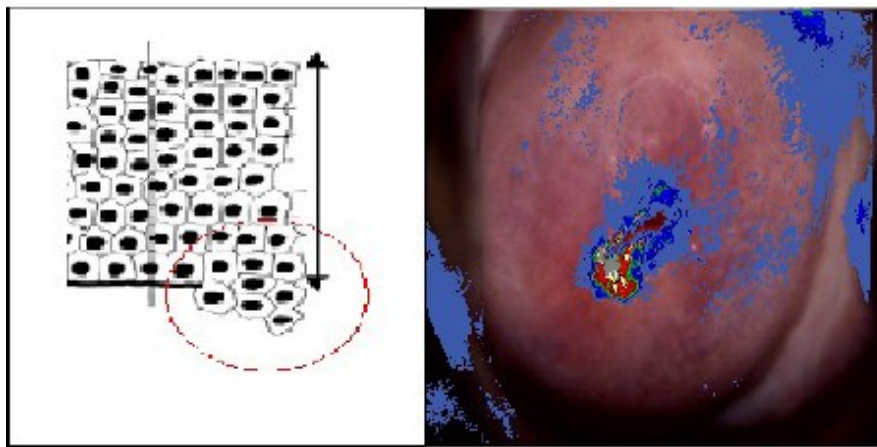
Εικόνα 142: Ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels για την ασθενή 16\_72

Εμφανίζουμε στο σημείο αυτό, τις τιμές των παραμέτρων sum (άθροισμα των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης) και D (το άθροισμα των γινομένων των median τιμών της τρίτης και τέταρτης κλάσης με τον αριθμό των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης).

Αποτελέσματα για την ασθενή 16\_72:

<b>Sum</b>	3821
<b>D</b>	1355.4135

Η κίτρινη και κόκκινη κλάση της παραπάνω ψευδοχρωματισμένης εικόνας, απεικονίζει το χειρότερο demarcation που αποτυπώνεται στην παράμετρο D. Επίσης δίνουμε και την εικόνα που ερμηνεύει την κατάσταση των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο καθώς και την εικόνα που δίνει την επιβεβαίωση από το χάρτη DYSIS.



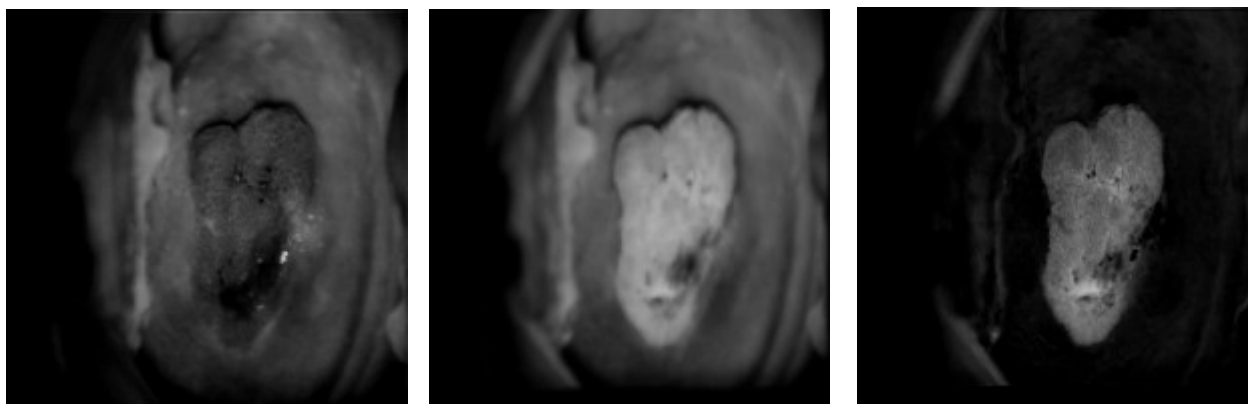
Εικόνα 143: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 16\_72

Οι τιμές των παραμέτρων sum και D για την παραπάνω ασθενή είναι υψηλές. Η τιμή της παραμέτρου D ίση με 1355.4135 αποτυπώνει αριθμητικά το απότομο demarcation του AW της συνολικής βλάβης. Το χειρότερο demarcation παρουσιάζεται στον κατακόρυφο άξονα, όπου από μαύρη περιοχή μηδενικής έντασης υπάρχει απότομη αλλαγή σε AW πολύ μεγάλης έντασης.

Η υποκειμενική και περιγραφική αντίληψη του demarcation αντικαθίσταται σύμφωνα με την εργασία από την ποσοτική έκφραση AW με γενικό demarcation: sum=3821 και τοπικά 1355.4135 (εκφράζοντας το χειρότερο ενδεχόμενο της βλάβης). Σύμφωνα με αυτό, η αντίληψη του demarcation είναι πιο αντικειμενική και οι εξαγόμενες τελικές παράμετροι μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την κατηγοριοποίηση.

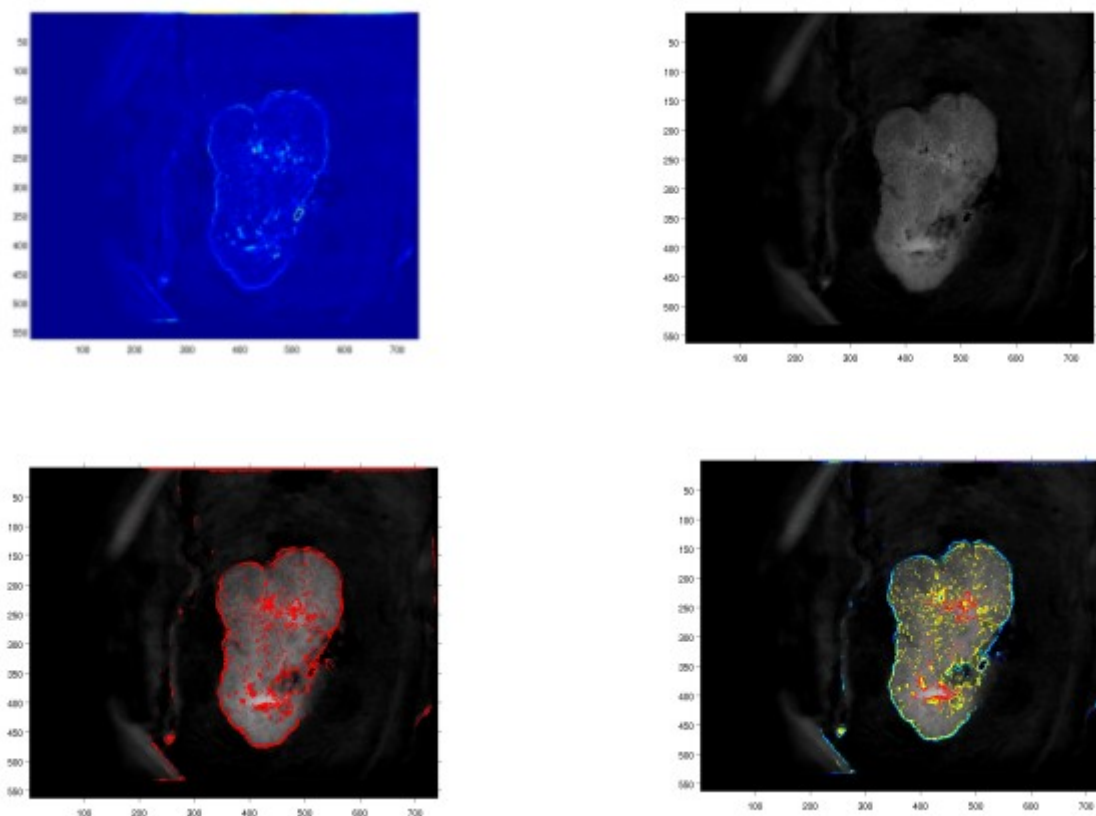
Η πρόβλεψη για τη βλάβη αυτή λόγω των μεγάλων τιμών όλων των παραμέτρων υποδηλώνει (προς το παρόν εμπειρικά) ότι τα παθογόνα κύτταρα έχουν τάση κατεύθυνσης προς το βάθος του επιθηλιακού ιστού, τείνοντας να σπάσουν την επιθηλιακή μεμβράνη προκαλώντας πιθανή μετάσταση. Ο χάρτης DYSIS παρουσιάζεται για επιβεβαίωση.

Αναλύοντας μια ακόμα περίπτωση και συγκεκριμένα της ασθενούς 84\_208 του νοσοκομείου Αλεξάνδρα, προκύπτουν τα ακόλουθα αποτελέσματα (και πάλι η subtracted εικόνα είναι η εικόνα που προκύπτει από την αφαίρεση των δύο πρώτων εικόνων, θεωρώντας ότι σε κάθε pixel υπάρχει το μέγιστο AW):

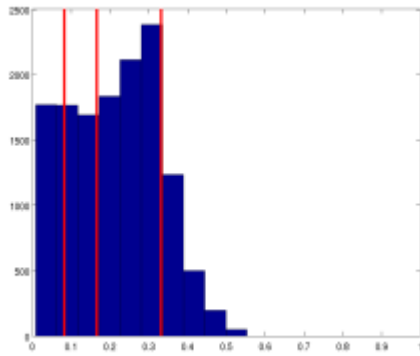


Εικόνα 144: Ασθενής 84\_208 (a) Grayscale εικόνα t=0 (b) Εικόνα t=max (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Στη συνέχεια εμφανίζουμε όλες τις εικόνες που προκύπτουν μετά την εφαρμογή του αλγορίθμου (εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση – 30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστόγραμμα της εικόνας με χωρισμένες όλες τις περιοχές):



Εικόνα 145: Για την ασθενή 84\_208: εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση.



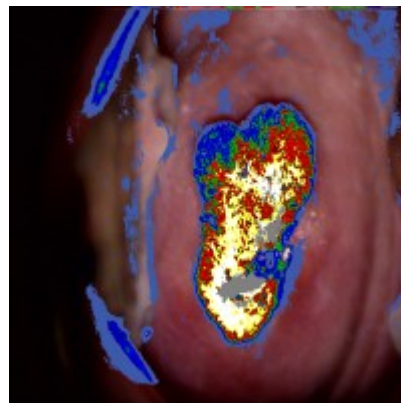
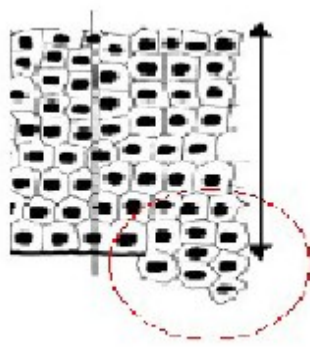
Εικόνα 146: Ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels για την ασθενή 84\_208

Εμφανίζουμε στο σημείο αυτό, τις τιμές των παραμέτρων sum (άθροισμα των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης) και D (το άθροισμα των γινομένων των median τιμών της τρίτης και τέταρτης κλάσης με τον αριθμό των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης).

Αποτελέσματα για την ασθενή 84\_208:

<b>Sum</b>	8502
<b>D</b>	3741.929

Η κίτρινη και κόκκινη κλάση της παραπάνω ψευδοχρωματισμένης εικόνας, απεικονίζει το χειρότερο demarcation που αποτυπώνεται στην παράμετρο D. Επίσης δίνουμε και την εικόνα που ερμηνεύει την κατάσταση των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο καθώς και την εικόνα που δίνει την επιβεβαίωση από το χάρτη DYSIS.



Εικόνα 147: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 84\_208

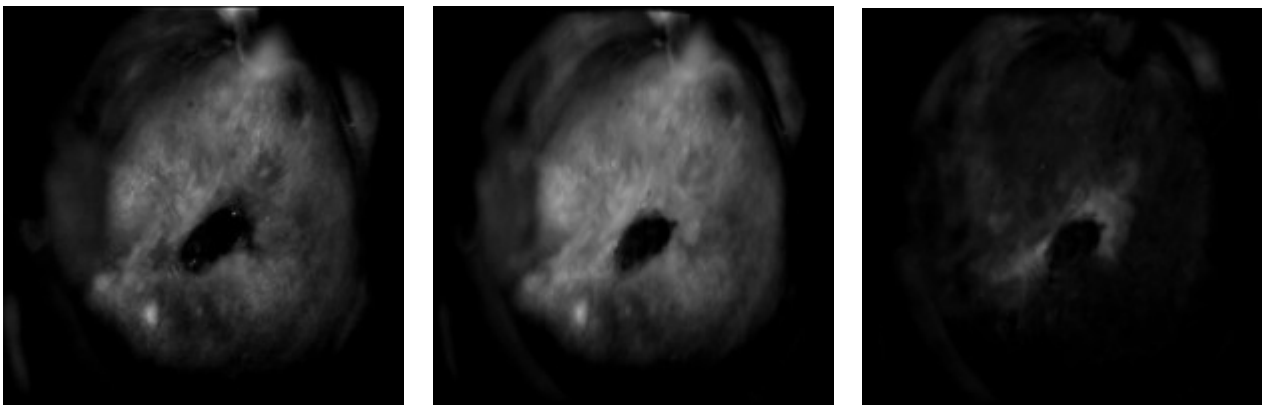
Οι τιμές των παραμέτρων sum και D για την παραπάνω ασθενή είναι ακόμα πιο υψηλές σε σχέση με της ασθενούς 16\_72. Η τιμή της παραμέτρου D ίση με 3741.929 αποτυπώνει αριθμητικά το απότομο demarcation του AW της συνολικής βλάβης. Το χειρότερο demarcation παρουσιάζεται στον κατακόρυφο άξονα, όπου από μαύρη περιοχή μηδενικής έντασης υπάρχει απότομη αλλαγή σε AW πολύ μεγάλης έντασης.

Η υποκειμενική και περιγραφική αντίληψη του demarcation αντικαθίσταται σύμφωνα με την εργασία από την ποσοτική έκφραση AW με γενικό demarcation:  $sum=8502$  και τοπικά 3741.929 (εκφράζοντας το χειρότερο ενδεχόμενο της βλάβης). Σύμφωνα με αυτό, η αντίληψη του demarcation είναι πιο αντικειμενική και οι εξαγόμενες τελικές παράμετροι μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την κατηγοριοποίηση.

Η πρόβλεψη για τη βλάβη αυτή λόγω των μεγάλων τιμών όλων των παραμέτρων υποδηλώνει (προς το παρόν εμπειρικά) ότι τα παθογόνα κύτταρα έχουν τάση κατεύθυνσης προς το βάθος του επιθηλιακού ιστού, τείνοντας να σπάσουν την επιθηλιακή μεμβράνη προκαλώντας πιθανή μετάσταση. Ο χάρτης DYSIS παρουσιάζεται για επιβεβαίωση.

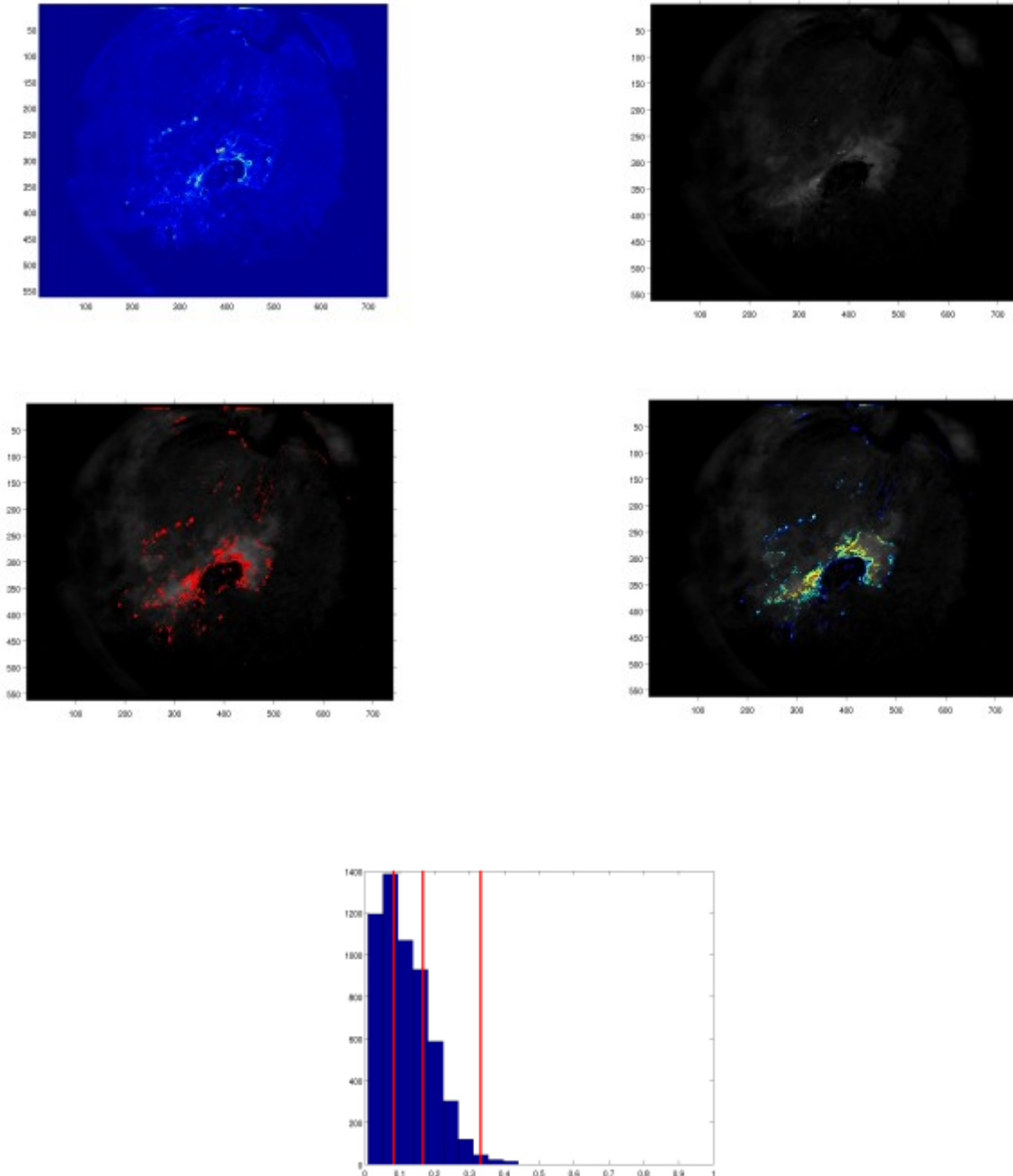
Εδώ οι τιμές των παραμέτρων είναι αρκετά πιο υψηλές σε σχέση με την ασθενή 16\_72, αναμενόμενο σύμφωνα με τη μέση ανθρώπινη οπτική αντίληψη του demarcation της βλάβης. Το AW έχει μεγαλύτερη ένταση από την ασθενή 16\_72 ενώ δεν είναι καθόλου ομαλά οριοθετημένο δίνοντας μια γενική παράμετρο του demarcation D ίση με 3741.929. Δεδομένου ότι όσο μεγαλύτερες οι τιμές των παραμέτρων τόσο πιο επικίνδυνη η βλάβη, των αναφερομένων, και της μέσης οπτικής αντίληψης των εικόνων, οι παράμετροι ανταποκρίνονται ικανοποιητικά.

Αναλύουμε μια ακόμα, αλλά διαφορετική περίπτωση και συγκεκριμένα της ασθενούς 54\_139 του νοσοκομείου Αλεξάνδρα, για την οποία προκύπτουν τα ακόλουθα (για μια ακόμη φορά η subtracted εικόνα είναι η εικόνα που προκύπτει από την αφαίρεση των δύο πρώτων εικόνων, θεωρώντας ότι σε κάθε pixel υπάρχει το μέγιστο AW):



Εικόνα 148: Ασθενής 54\_139(a) Grayscale εικόνα  $t=0$  (b) Εικόνα  $t=\max$  (acetowhitening) σε όλα τα pixels (c) subtracted εικόνα

Στη συνέχεια εμφανίζουμε και πάλι όλες τις εικόνες που προκύπτουν μετά την εφαρμογή του αλγορίθμου (εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση – 30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστόγραμμα της εικόνας με χωρισμένες όλες τις περιοχές):

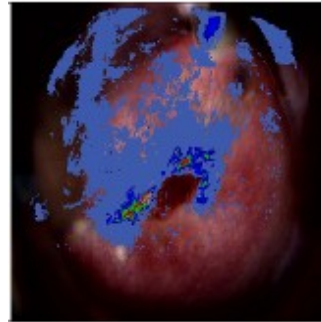
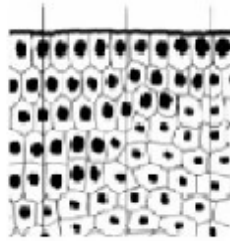


Εικόνα 149: Για την ασθενή 54\_139: εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Αποτελέσματα για την ασθενή 54\_139:

<b>Sum</b>	1382
<b>D</b>	326.2192

Η κίτρινη και κόκκινη κλάση της παραπάνω ψευδοχρωματισμένης εικόνας, απεικονίζει το χειρότερο demarcation που αποτυπώνεται στην παράμετρο D. Επίσης δίνουμε και την εικόνα που ερμηνεύει την κατάσταση των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο καθώς και την εικόνα που δίνει την επιβεβαίωση από το χάρτη DYSIS.

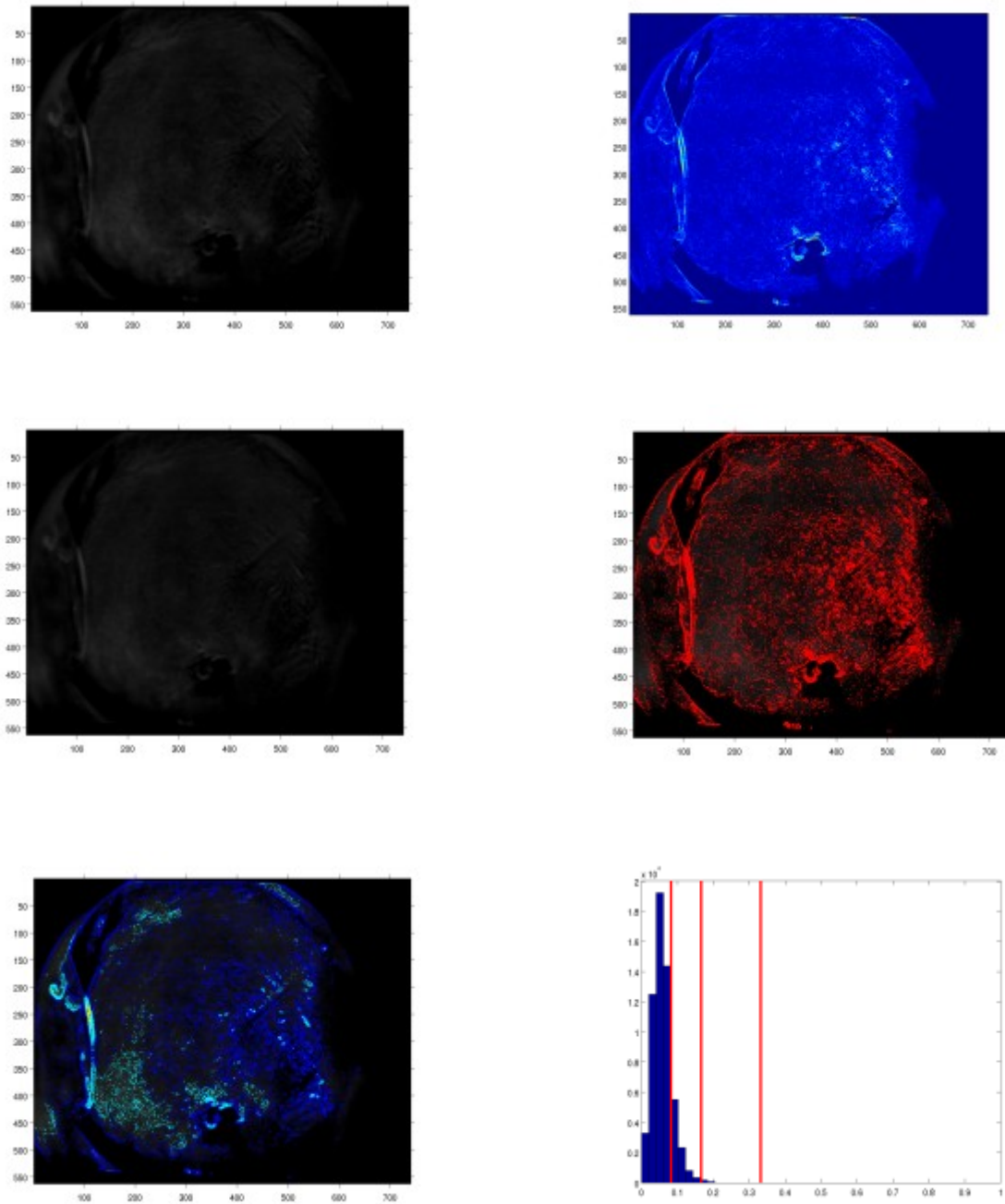


Εικόνα 150: Επιθηλιακός ιστός και χάρτης DYSIS για την ασθενή 54\_139

Οι τιμές των παραμέτρων στην περίπτωση αυτή είναι μικρότερες σε σχέση με τις ασθενείς 16\_72 και 84\_208, αναμενόμενο σύμφωνα με τη μέση ανθρώπινη οπτική αντίληψη του demarcation της βλάβης. Το AW έχει μικρότερη ένταση από τις δύο προηγούμενες ασθενείς ενώ είναι ομαλά οριοθετημένο δίνοντας μια γενική παράμετρο του demarcation D ίση με 326.2192. Ο χάρτης DYSIS επιβεβαιώνει την ύπαρξη μικρότερων εντάσεων σε σχέση με τις ασθενείς 16\_72 και 84\_208 λόγω της έλλειψης άσπρου και εκτεταμένου κόκκινου χρώματος. Επίσης το μπλε χρώμα εδώ είναι απλωμένο σε μεγάλη έκταση γύρω από τη βλάβη.

Η ποσοτική έκφραση του demarcation σύμφωνα με την εργασία είναι AW με γενικό demarcation 1382 και τοπικά η χειρότερη περίπτωση demarcation 326.2192 ενώ η πρόβλεψη των ενδιάμεσων τιμών των παραμέτρων και της τιμής του D υποδηλώνει επικίνδυνη τάση εξέλιξης των (προ)-καρκινικών κυττάρων κατά μήκος του επιθηλιακού ιστού με υποψία εξέλιξης σε ορισμένα σημεία κατά τον κατακόρυφο άξονα της εικόνας, κατά βάθος του επιθηλίου.

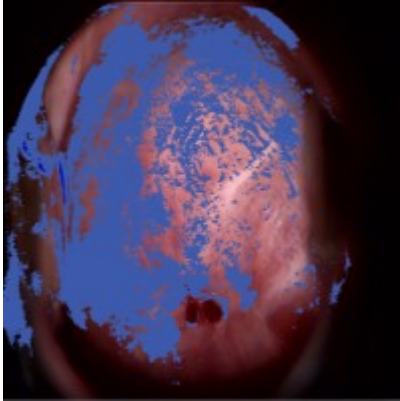
Για true negative περίπτωση και συγκεκριμένα της ασθενούς 28\_107 του νοσοκομείου Αλεξάνδρα προκύπτουν τα ακόλουθα:



Εικόνα 151: Για την ασθενή 28\_107: subtracted εικόνα, εικόνα gradient, εικόνα με τα βάρη-ποσοστά 70% ένταση-30% gradient, ψευδοχρωματισμένη εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή του κατωφλίου 0.04 για τα gradient των pixels, ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τα pixels που ανήκουν σε κάθε μια κλάση και το ιστογράμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels

Αποτελέσματα για την ασθενή 28\_107:

<b>Sum</b>	197
<b>D</b>	35.1860



Εικόνα 152: Χάρτης DYSIS για την ασθενή 28\_107

Οι τιμές όλων των παραμέτρων της ασθενούς 28\_107 είναι μικρές. Το demarcation είναι μικρό σύμφωνα με τη μέση οπτική αντίληψη. Λόγω των μικρών τιμών η βλάβη μπορεί να χαρακτηριστεί ως low-grade γεγονός που αποδεικνύεται και από το χάρτη του DYSIS. Η ποσοτική έκφραση του demarcation είναι AW με demarcation 197 και στη χειρότερη περίπτωση 35.1860 και με πρόβλεψη εξέλιξης των παθογόνων κυττάρων κατά πλάτος του ιστού.

## Αποτελέσματα – Στατιστική Ανάλυση Αποτελεσμάτων

Επιλέγονται όλοι οι ασθενείς (true positive και true negative) από τα νοσοκομεία Αλεξάνδρα, Hammersmith και StMarys που υποβλήθηκαν στην εξέταση αρχικά με το ιατρικό μηχάνημα DYSIS και στη συνέχεια με βιοψία. Για κάθε subtracted εικόνα για όλους τους ασθενείς εξάγονται οι ακόλουθες τιμές τελικών παραμέτρων του demarcation:

Sum=άθροισμα pixels 3ης και 4ης κλάσης (κίτρινης και κόκκινης κλάσης)

Demarcation (D)=median3\*pixels3+median4\*pixels4 (το άθροισμα των γινομένων των median τιμών της τρίτης και τέταρτης κλάσης με τον αριθμό των pixels της τρίτης και τέταρτης κλάσης)

Τα παρακάτω αποτελέσματα χωρίς την οπτική παρατήρηση των εικόνων είναι εν μέρη 'ανούσια' από ιατρικής πλευράς αλλά χρησιμοποιούνται για στατιστική προσέγγιση.

### True positive Αλεξάνδρα

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
13-69	5242	1174.8987
16-72	3821	1355.4135
54-139	1382	326.2192
57-151	9625	2494.2394
63-160	8677	4206.6172
66-164	7624	2407.7673
76-195	3031	1065.7195
80-199	9070	1827.7324
84-208	8502	3741.929
85-210	2907	591.7870
94-225	8936	2084.579
118-254	4475	1499.9642
120-256	13443	4086.2294
122-258	5908	1543.8323
136-274	11893	4522.5155
171-321	10011	2933.9586
176-329	4352	944.5366

True negative Αλεξάνδρα

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
9-65	926	354.4086
10-66	225	161.3658
14-70	2971	798.2115
15-71	3319	1323.4939
28-107	197	35.1860
31-112	1028	410.9906
32-113	1267	581.6077
35-117	518	369.4562
36-118	826	173.1016
38-120	3257	1700.7652
39-121	651	139.8406
40-122	4114	882.0035
41-123	3531	1048.9205
45-128	342	272.3469
47-130	869	229.6487
48-131	5255	2413.5972
52-136	1373	614.8150
55-149	2547	1543.8577
56-150	658	575.4398
59-153	722	169.4872
64-162	5724	2372.1944
68-167	876	493.8361
69-168	172	61.3640
71-170	3282	659.9704
72-172	2085	578.1824
73-191	1930	499.9676
74-192	1391	258.1531
78-197	4692	963.4903
81-203	3581	1430.1447
83-207	2694	795.4331
87-212	1020	379.1354
89-216	266	57.8559
90-219	12697	2664.5971
91-220	1143	542.1082

93-224	12017	2721.4691
98-230	1054	503.7477
99-231	500	99.9206
100-232	1837	436.4122
102-234	5661	1679.6622
103-235	13099	3657.1945
104-237	1741	473.9672
105-239	3492	1510.0728
106-241	761	425.0337
107-242	3643	1281.9898
108-243	1550	514.7713
110-246	257	83.4499
112-248	5866	1624.0427
113-249	15723	4582.6341
114-250	2281	470.6567
115-251	271	49.7568
119-255	3491	700.9404
121-257	3514	835.6434
123-259	1477	534.8302
124-260	1689	864.7805
125-261	2229	436.5805
126-262	6608	2118.1878
128-264	1188	322.2664
129-265	691	177.5487
131-267	3092	924.3766
135-273	4604	1230.7489
137-276	638	184.0958
138-277	1609	794.6778
139-278	2164	593.6514
140-279	1892	769.8597
141-280	701	483.3854
144-287	5220	1157.7637
145-288	810	266.8545
146-289	1611	362.0541
148-291	5119	1513.4453
149-292	1081	711.0317

152-295	633	143.8470
153-296	1749	820.3854
154-297	3078	733.0946
155-298	84	17.6344
156-299	2528	652.8184
157-300	2061	457.2020
158-301	3107	587.2836
162-306	526	108.9574
164-308	2570	1310.3957
166-310	1489	617.6894
167-312	1122	413.2368
169-317	676	412.4269
173-323	3500	913.8676
174-325	330	58.2201
175-328	405	273.2010
178-333	677	123.5851

True positive Hammersmith

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
32-86	2910	1116.6734
35-87	5845	1467.9875
44-98	5869	1358.3254
48-103	3434	801.1388
52-110	27471	8447.9918
69-131	12319	6315.5592
70-132	8514	2441.407
72-134	2568	601.7993
76-139	4571	1323.5809
77-140	6505	1776.5306
78-141	2894	623.9135
81-144	11358	4772.1497
83-146	14582	4741.8939
124-213	9087	2362.6352
136-232	12245	3740.1087
140-236	7580	2647.8097
143-248	21469	9420.7003
154-259	4578	1321.6653
155-261	4642	1681.3369
180-304	6967	2546.8741
184-308	19755	8887.0663
185-309	25931	13168.8748
187-312	5314	2229.356
188-313	6389	1814.0915

True negative Hammersmith

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
33-85	872	265.7790
36-89	20211	10761.3157
37-90	4795	2274.3413
41-95	381	120.0147
42-96	1758	352.3633
45-99	780	278.6180
54-112	4304	1953.293
56-114	4040	1293.9482
59-117	2242	545.3266
67-129	4460	1140.1393
71-133	8925	3082.6731
86-150	359	86.5669
88-153	9187	3436.7204
91-157	493	135.0405
96-163	824	173.3140
112-183	769	175.4337
118-205	1880	710.1288
119-206	1560	422.1139
120-207	819	248.2569
122-210	6312	1840.0048
125-214	4730	1257.719
129-218	2706	912.2582
133-224	1974	497.2657
135-231	5226	1594.531
138-234	2232	1022.7263
144-249	2529	744.8295
147-252	789	386.9341
152-257	2186	824.1246
159-266	1285	345.2580
162-269	601	136.7470
182-306	2184	825.3677
189-315	13578	5979.6109
190-316	624	270.6990

True positive StMarys

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
38-100	12037	3771.2388
44-108	1751	485.5471
51-114	3312	1390.6324
53-116	3958	941.4986
59-136	2913	687.3092
68-145	2122	702.7447
78-155	4708	1915.5203
79-156	4673	1836.2427
88-168	6385	2069.0854
94-174	1497	430.0870
96-176	5044	1811.2482
111-197	4847	1653.3462
115-201	5686	1861.7036
127-217	5536	2175.5988
139-231	7301	2454.9929

True negative StMarys

Ασθενής	Sum	Demarcation (D)
28-90	390	149.6953
29-91	1646	408.0345
30-92	1964	547.4909
32-94	2273	659.2233
33-95	1571	436.1759
36-98	413	148.9461
39-101	553	201.2923
41-104	658	158.9143
42-105	941	269.9985
43-106	2938	638.3572
52-115	815	358.8947
54-117	1445	396.7768
60-137	2169	705.8656

61-138	2783	701.3524
62-139	2390	699.5183
65-142	826	259.9760
66-143	851	205.9332
70-147	866	287.1503
72-149	669	204.1310
74-151	2495	591.3620
80-158	3908	1018.8475
83-163	3721	1792.1412
85-165	1716	827.8433
90-170	5187	3366.1561
93-173	2518	927.4640
98-178	2542	615.5620
99-179	2086	717.2421
100-180	3328	1036.4756
106-189	2900	838.3954
107-190	423	106.8122
112-198	1562	696.6052
114-200	849	210.8181
116-202	2500	995.9631
118-204	979	271.1742
120-207	1979	441.8062
121-208	1129	452.8856
122-211	1224	406.8469
126-216	859	264.3174
128-218	6674	1730.4403
129-219	6249	1984.5074
132-223	2981	937.6549
134-225	589	353.0079
136-228	1536	482.8060
138-230	2296	638.4842

## Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Η ανάλυση γίνεται για την κατανόηση των τιμών των παραμέτρων σε γνωστές περιπτώσεις ασθενών. Σύμφωνα με τους παραπάνω πίνακες, οι μέσες τιμές  $\mu$  και τυπικές αποκλίσεις  $\sigma$  των παραμέτρων Sum και Demarcation (D) στις high και low grade βλάβες είναι:

High grade	Sum	Demarcation (D)
mean ( $\mu$ )	7561.8929	2617.9322
STDEV ( $\sigma$ )	5587.636	2467.1004

Low grade	Sum	Demarcation (D)
mean ( $\mu$ )	2600.4356	868.3014
STDEV ( $\sigma$ )	2955.4079	1162.178

Οι μέσες τιμές των low grade περιπτώσεων όλων των παραμέτρων είναι μικρότερες σε σχέση με τις high grade. Για να αποφασιστεί αν είναι στατιστικά σημαντική διαφορά πραγματοποιείται T-test μεταξύ των low (true positive) και high (true negative) grade νεοπλασιών για τις τελικές παραμέτρους Sum και Demarcation (D) που είναι και οι δύο κύριες παράμετροι ποσοτικοποίησης.

### T-test

Πραγματοποιείται Two Samples T-test το οποίο χρησιμοποιείται όταν εξετάζουμε τη διαφορά μεταξύ δύο ομάδων και επιθυμούμε να γνωρίζουμε αν αυτή είναι στατιστικώς σημαντική (significantly different) ή αν προέκυψε τυχαία. Το τεστ γίνεται με βάση ένα βαθμό ελευθερίας (degree of freedom) ο οποίος εξαρτάται από τον αριθμό του πληθυσμού του δείγματος και χρησιμοποιείται για να καθοριστεί η critical value στον πίνακα Student's t-Distribution.

Η critical value είναι η τιμή πάνω από την οποία αποφασίζεται ότι το τεστ απέρριψε τη μηδενική υπόθεση (null hypothesis). Τα βήματα του τεστ είναι:

- Καθορισμός της μηδενικής υπόθεσης (null hypothesis)  $H_0$  η οποία ορίζει μία αρχική σχέση μεταξύ των μέσων τιμών. Καθορισμός της υπόθεσης που αναζητείται

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

- Καθορισμός του επιπέδου σημαντικότητας (significance level) alpha: καθορίζει την πιθανότητα τα δεδομένα να προέρχονται από την ίδια ομάδα με ίδια μέση τιμή. Καθορισμός της critical value και του βαθμού ελευθερίας (degree of freedom)  $df$  ( $df = n_1 + n_2 - 2$ ) σύμφωνα με τον πίνακα Student's t-Distribution

- Υπολογισμός των στατιστικών παραμέτρων t του τεστ σύμφωνα με τα δείγματα  $n_1$ ,  $n_2$  των δύο ομάδων. Για την περίπτωση του Two Samples T-test ισχύει:

$$t = \frac{\text{mean}_1 - \text{mean}_2}{sX - X}$$

όπου:

$$sX - X = \sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}$$

- Απαραίτητη η γνώση των μέσω τιμών  $\text{mean}_1$ ,  $\text{mean}_2$  των δύο ομάδων, των τυπικών τους αποκλίσεων  $s_1^2$ ,  $s_2^2$  και του αριθμού των δειγμάτων  $n_1$ ,  $n_2$  για κάθε ομάδα.
- Απόφαση απόρριψης της μηδενικής υπόθεσης  $H_0$  σύμφωνα με την τιμή της t και την critical value σύμφωνα με τον πίνακα Student's t-Distribution και το δεύτερο βήμα. Αν  $t > \text{critical value}$  απορρίπτεται η  $H_0$  και γίνεται δεκτή η  $H_1$ .

Το T-test για τις παραμέτρους Sum και Demarcation (D) για τις δύο ομάδες low και high grade με  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$  και  $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$  έδωσε:

Παράμετρος: Sum	High grade (group 1)	Low grade (group 2)
mean	7561.8929	2600.4356
$\sigma/s^2$	5587/31214569	2955/8732025
n	56	163

Alpha level	0.001
df	217
t	6.35
Διαχωρίσιμα?	ΝΑΙ

Επειδή  $t=6.35$ , τιμή μεγαλύτερη από 3.31 σύμφωνα με τον πίνακα Student's t-Distribution για  $df=217$  και  $\alpha=0.001$ , εξάγεται το συμπέρασμα ότι για την παράμετρο Sum η διαφορά των μέσω τιμών των high grade (group 1) και low grade (group 2) είναι στατιστικώς σημαντική. Για την παράμετρο Demarcation (D):

Παράμετρος: Demarcation (D)	High grade (group 1)	Low grade (group 2)
mean	2617.9322	868.3014
$\sigma/s^2$	2467/6086089	1162/1350244
n	56	163

Alpha level	0.001
df	217
t	5.12
Διαχωρίσιμα?	ΝΑΙ

Ομοίως, για την παράμετρο Demarcation (D) η διαφορά των μέσων τιμών των high και low grade νεοπλασιών είναι στατιστικώς σημαντική (με πολύ καλή ακρίβεια  $\alpha=0.001$ ) επειδή  $t=5.12$  μεγαλύτερο του 3.31.

Γενικό συμπέρασμα: οι low και high grade περιπτώσεις νεοπλασιών είναι διαχωρίσιμες με τις τιμές των παραμέτρων Sum και Demarcation (D).

## Συμπεράσματα

Στα προηγούμενα έχουν εξαχθεί συμπεράσματα για όσα αφορούν την εργασία αυτή. Συνοψίζοντας αναφέρεται ότι: έχουν βρεθεί για πρώτη φορά ποσοτικές οπτικές παράμετροι που σχετίζονται με το demarcation, οι παράμετροι της εργασίας ανταποκρίνονται ικανοποιητικά στη μέση οπτική αντίληψη του demarcation. Οι αναμενόμενες τιμές των παραμέτρων επαληθεύονται, δίνοντας σε βλάβες με έντονο demarcation μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με όσες έχουν άτονο demarcation. Το κύριο εξαγόμενο συμπέρασμα της εργασίας για τη διαχωρισιμότητα (διάκριση) μεταξύ low και high grade νεοπλασιών σύμφωνα με τις παραμέτρους του demarcation ανοίγει σειρά ερευνητικών διεργασιών. Πιθανή μελλοντική κλινική απόδειξη της σχέσης του demarcation με την εκτίμηση του ρίσκου μετεξέλιξης νεοπλασμάτων σε καρκίνο μπορεί να οδηγήσει σε ιατρικές καινοτομίες.

Η εργασία αυτή παρέχει την πρώτη προσέγγιση της διαδικασίας αυτής. Επιπρόσθετα, η παραμετροποίηση του demarcation έχει επιτευχθεί και είναι 'αλγοριθμικά αντικειμενική' για κάθε αλλοίωση – βλάβη, με την έννοια ότι πάντα θα δίνει την ίδια τιμή χωρίς να εξαρτάται από την υποκειμενική οπτική αντίληψη του παρατηρητή-ιατρού (που συχνά διαφωνεί και με την αρχική του εκτίμηση). Οι παράμετροι της κλίσης και του πλάτους για κάθε βλάβη μπορούν να λειτουργήσουν σαν επιπρόσθετο αριθμητικό διαγνωστικό κριτήριο της άμεσης οπτικής επιθεώρησης του acetowhitening (AW) για την ανίχνευση των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας, αφού ποσοτικοποιούν μια οπτική παράμετρο διάγνωσης. Μπορεί να προστεθεί μια αντικειμενική, αριθμητική παράμετρος που περιγράφει το demarcation στις κατευθυντήριες γραμμές διάγνωσης (RCI-Reids Colposcopic Index).

## Τεχνικές βελτίωσης-Μελλοντική έρευνα

Η εργασία αυτή παρέχει μια πρώτη μέτρηση του demarcation των εικόνων των ασθενών. Τεχνικές βελτίωσης και μελλοντικής έρευνας θεωρούμε ότι θα δώσουν ικανοποιητικότερα αποτελέσματα και πιθανόν αποτελέσουν μέρος ελέγχου αλλοιώσεων (CIN) σε real-time ιατρικές εφαρμογές.

Η αποδοτικότητα της μεθόδου παραμετροποίησης του demarcation σε σχέση με την άμεση οπτική επιθεώρηση απαιτεί μακροχρόνιους ιατρικούς ελέγχους. Θεωρώντας ότι η αποδοτικότητα θα αποδειχτεί πιο αξιόπιστη, η ενσωμάτωση της μεθόδου σε ολοκληρωμένο κύκλωμα σε υψηλής ανάλυσης ιατρικά μηχανήματα που χρησιμοποιούν ψηφιακές μεθόδους απεικόνισης μπορεί να οδηγήσει σε άμεση παραμετροποίηση του demarcation της βλάβης και να συμπληρώνει τη διάγνωση σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν.

Μελλοντικές έρευνες αποσκοπούν σε:

- 1) Κλινικές δοκιμές για την επιβεβαίωση της προγνωστικής αξίας του demarcation στην εκτίμηση του κινδύνου μετάστασης
- 2) Εκτίμηση της δυνατότητας αύξησης της διαγνωστικής πληροφορίας με το συνδυασμό δυναμικών παραμέτρων και demarcation
- 3) Μελέτη από ιατρικής πλευράς των διακυμάνσεων των εντάσεων των pixels της εικόνας συσχετίζοντας τις διακυμάνσεις αυτές με τη μορφολογία των παθογόνων κυττάρων στο επιθήλιο

Επιπροσθέτως, αναφέρεται ότι οι subtracted εικόνες που είναι σαν είσοδοι στο σύστημα θεωρείται ότι δίνουν το μέγιστο acetowhitening (AW) τη χρονική στιγμή  $t$  σε όλα τα pixels της εικόνας. Το ζήτημα αυτό είναι υπό μελέτη στο Πολυτεχνείο Κρήτης διότι ιδανικά θεωρώντας ότι κάθε pixel αναφέρεται σε ένα κύτταρο του επιθηλίου η χρονική στιγμή  $t$  που συμβαίνει το μέγιστο AW μπορεί να μην είναι ίδια για όλα τα σημεία ή κύτταρα του επιθηλίου.

Υπάρχει το ενδεχόμενο κάποια σημεία του επιθηλίου να δώσουν το μέγιστο AW τη χρονική στιγμή  $t' > t$  (ή  $t' < t$ ) διότι το οξικό οξύ δεν έχει απορροφηθεί σε όλο το βάθος του επιθηλίου όπου υπάρχουν παθογόνα κύτταρα τη χρονική στιγμή  $t$ . Στόχος είναι η 'κατασκευή' της subtracted εικόνας από τις δυναμικές παραμέτρους που περιέχει σε κάθε pixel το μέγιστο AW.

Τέλος, αναφέρεται ότι σε σχέση με προηγούμενη εργασία που είχε υλοποιηθεί σχετικά με την 'ποσοτική ανάλυση της χωρικής κατανομής των εντάσεων δυναμικών οπτικών σημάτων', στην παραπάνω εργασία εφαρμόστηκαν τεχνικές βελτίωσης με κατάλληλη επεξεργασία εικόνας και τεχνικές μηχανικής όρασης ώστε να εντοπιστεί το AW χωρίς να αλλοιώνεται η πληροφορία του και να απαλείφεται ο θόρυβος από όργανα εξέτασης στην υπόλοιπη εικόνα. Ο πειραματισμός με αλλαγές των ποσοστών-βαρών του gradient και της έντασης (20%-80%, 80%-20%, 50%-50%...) των μεγεθών αυτών έχει δοκιμαστεί στην εργασία αυτή, αλλά για την αποδοχή του αντικειμενικότερου ποσοστού είναι απαραίτητα ιατρικά, εργαστηριακά και χρονοβόρα πειράματα που ξεφεύγουν τα πλαίσια μιας διπλωματικής εργασίας. Θεωρούμε ότι σύμφωνα με τις δικές μας δοκιμές και παρατηρήσεις το demarcation εξαρτάται κατά 70% ποσοστό από την παράμετρο ένταση και κατά 30% ποσοστό από την παράμετρο gradient.

## Πρόσθετες πληροφορίες για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Έχει αποδειχθεί ότι ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων είναι ο αιτιολογικός παράγοντας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, σε αντίθεση με πολλούς άλλους καρκινικούς όπου η αιτιοπαθογένεια είναι πολυπαραγοντική.

Θα πρέπει να εφαρμόζονται προγράμματα μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου, που στοχεύουν και καθιστούν δυνατή την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου ή των προκαρκινικών αλλοιώσεων.

Υπάρχει πλέον διαθέσιμο ένα εμβόλιο το οποίο έχει αποδείξει σε κλινικές μελέτες ότι είναι αποτελεσματικό και ασφαλές στην πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και της παθολογίας του τραχήλου που προκαλούνται από τους τύπους 16 και 18 του HPV, που προηγείται πριν και πέρα από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Με την εφαρμογή ενός εμβολιαστικού προγράμματος εφήβων και νεαρών γυναικών θα επιτευχθεί ο στόχος μείωσης των θανάτων, των χειρουργικών επεμβάσεων που απαιτούνται καθώς και των ψυχολογικών και κοινωνικών επιπτώσεων.

Μέσω λοιπόν, του εμβολιασμού και της εξέτασης Παπανικολάου είναι δυνατόν να επιτευχθεί ο έλεγχος του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με τον πιο αποτελεσματικό τρόπο, ενώ παράλληλα υποστηρίζεται και ενισχύεται η προτεραιότητα της δημόσιας υγείας στην αντιμετώπιση του καρκίνου.

## Οικονομικές διαστάσεις – Οφέλη για τη δημόσια υγεία

Ουσιώδη κριτήρια για την απόφαση περί ένταξης ή μη του εμβολίου στο εθνικό πρόγραμμα εμβολιασμών και αποζημίωσης του από τα ασφαλιστικά ταμεία αποτελούν αφενός η κλινική αποτελεσματικότητα στις πληθυσμιακές ομάδες – στόχους και αφετέρου η οικονομική αξιολόγηση της συνιστώμενης εμβολιαστικής στρατηγικής.

Η οικονομική αξιολόγηση της ένταξης ενός εμβολίου ακολουθεί τους γενικά παραδεκτούς κανόνες οικονομικής αξιολόγησης των φαρμακευτικών προϊόντων και των άλλων υγειονομικών παρεμβάσεων διεθνώς, προσαρμοσμένους στις ιδιαιτερότητες των προγραμμάτων δημόσιας υγείας που βασίζονται στον εμβολιασμό.

Η οικονομική αξιολόγηση των υγειονομικών παρεμβάσεων είτε αυτές αφορούν προληπτικές είτε θεραπευτικές υπηρεσίες αφορά την σύγκριση των αξιολογούμενων υγειονομικών παρεμβάσεων ως προς το κόστος και ως προς την αποτελεσματικότητα. Στην περίπτωση του εμβολίου κατά του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας οι δύο κύριες συγκρινόμενες στρατηγικές είναι:

A) Η στρατηγική του εμβολιασμού των πληθυσμιακών ομάδων για τις οποίες το εθνικό πρόγραμμα εμβολιασμών συστήνει τον εμβολιασμό ως υποχρεωτικό, ακολουθούμενο από την εφαρμογή προγράμματος προληπτικής παρακολούθησης με την εξέταση κατά Παπανικολάου, όσο και με την προσθήκη του ιατρικού μηχανήματος DYSIS στα ελληνικά νοσοκομεία για μια πιο αντικειμενική και ασφαλή ως προς την εξαγωγή αποτελεσμάτων διάγνωση.

B) Η στρατηγική που ακολουθείται ως τώρα, δηλαδή η απουσία εμβολιασμού και η εφαρμογή προγράμματος προληπτικής παρακολούθησης με την εξέταση κατά Παπανικολάου, ή μέσω του μηχανήματος DYSIS.

Κάθε μία από τις συγκρινόμενες στρατηγικές έχει μια συγκεκριμένη αποτελεσματικότητα όσο αφορά τη θνησιμότητα από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, την επίπτωση προ-καρκινικών τραχηλικών αλλοιώσεων ή άλλων νοσημάτων, την επίπτωση γεννητικών κονδυλωμάτων. Είναι αναμενόμενο ότι αν ο εμβολιασμός και η εξετάσεις πρόληψης-διάγνωσης είναι αποτελεσματικοί οι αναμενόμενοι θάνατοι και περιπτώσεις εμφάνισης προ-καρκινικών τραχηλικών αλλοιώσεων και γεννητικών κονδυλωμάτων θα είναι πολύ χαμηλότερες στη στρατηγική του εμβολιασμού από ότι στη στρατηγική που δεν τα περιλαμβάνει αυτά.

Επίσης συνήθως στην αξιολόγηση προληπτικών προγραμμάτων λαμβάνεται υπόψη και ο αριθμός των περιστατικών που αποφεύγονται. Τέλος σημαντικοί παράμετροι αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας των συγκρινόμενων παρεμβάσεων είναι οι επιπτώσεις της νόσου στην ποιότητα ζωής του πληθυσμού. Μια υγιής ενήλικη γυναίκα που δεν εκδηλώνει συμπτώματα που οφείλονται στον HPV έχει καλύτερη ποιότητα ζωής από μια γυναίκα που εκδηλώνει γεννητικά κονδυλώματα, προ-καρκινικές τραχηλικές αλλοιώσεις (CIN I, II, III) ή τελικά εκδηλώνει καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καθώς υπόκεινται στο ψυχολογικό κόστος της ανησυχίας για την έκβαση της νόσου, τις επιβαρυντικές επιπτώσεις της ίδιας της νόσου και τις επιβαρυντικές επιπτώσεις της θεραπείας στη σωματική της λειτουργικότητα και στην κοινωνική και ψυχολογική της ευεξία.

Επίσης κάθε μία από τις συγκρινόμενες στρατηγικές επιφέρει ένα οικονομικό κόστος για το σύστημα υγείας που περιλαμβάνει το κόστος εμβολιασμού και ιατρικού εξοπλισμού για τις εξετάσεις (DYSIS), το κόστος της παρακολούθησης των γυναικών, το κόστος της θεραπείας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και των άλλων βλαβών που αναμένεται να εκδηλωθούν στον πληθυσμό με τη μία ή την άλλη στρατηγική. Στο κόστος αυτό πρέπει να προστεθεί και το κόστος της απώλειας ετών ζωής λόγω της πρώιμης θνησιμότητας που επιφέρει η εμφάνιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Το κόστος αυτό δεν είναι μόνο οικονομικό, καθώς η κοινωνία χάνει το συνολικό εισόδημα που θα μπορούσε να προσφέρει μια υγιής, ενήλικη γυναίκα, αλλά και ψυχολογικό. Ο δείκτης οικονομικής αξιολόγησης μιας προληπτικής στρατηγικής προκύπτει από τον ακόλουθο τύπο:

$$\frac{(\text{Κόστος στρατηγικής } A - \text{Κόστος στρατηγικής } B)}{(\text{Αποτελεσματικότητα στρατηγικής } A - \text{Αποτελεσματικότητα στρατηγικής } B)}$$

Σχεδόν πάντοτε το κόστος μετριέται σε νομισματικές μονάδες ενώ η αποτελεσματικότητα μπορεί να μετρηθεί με πολλούς δείκτες όπως αριθμός θανάτων που αναμένεται να επέλθουν με τη μία ή την άλλη στρατηγική, αριθμός γυναικών (περιπτώσεων) που αναμένεται να νοσήσουν από τις αιτίες που προλαμβάνει ο προληπτικός έλεγχος, αριθμός ετών ζωής που σώζονται κ.λ.π.

## Κέντρο πρόληψης και προσυμπτωματικού ελέγχου του γυναικολογικού καρκίνου στο νομό Χανίων

Λόγω της ολοκλήρωσης της παραπάνω εργασίας στο Πολυτεχνείο Κρήτης (Χανιά), θα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρον στο σημείο αυτό να αναφερθούμε, στο πρόγραμμα προσυμπτωματικού ελέγχου που υλοποιείται στο νομό Χανίων.

Οι έρευνες υπηρεσιών υγείας σε όλες σχεδόν τις χώρες του κόσμου, δείχνουν σταθερά ότι η έκβαση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας εξαρτάται από το στάδιο κατά το οποίο θα αρχίσει η θεραπεία. Για το λόγο αυτό, η έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου είναι κρίσιμης σημασίας. Εξ' αιτίας αυτής της διαπίστωσης, τις τελευταίες στις αναπτυγμένες χώρες έχουν αναπτυχθεί προσυμπτωματικοί έλεγχοι του καρκίνου αυτού. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, συνίσταται στην κυτταρολογική εξέταση επιχρίσματος του κόλπου (Pap test).

Στην Ελλάδα δεν έχουν αναπτυχθεί ευρέως προγράμματα προσυμπτωματικών ελέγχων. Πολλές όμως γυναίκες και γιατροί έχουν ευαισθητοποιηθεί και πραγματοποιούν τέτοιους ελέγχους, οι οποίοι είναι αποσπασματικοί και αφορούν κυρίως τον αστικό πληθυσμό των μεγάλων αστικών κέντρων.

Από το 2008 αναπτύσσεται το Εθνικό Σχέδιο Δράσης για τον Καρκίνο 2008-2012. Σκοπός του τρίτου άξονα του Σχεδίου αφορά την έγκαιρη διάγνωση, η οποία αποτελεί τη βάση της δευτερογενούς πρόληψης και στοχεύει στην ανίχνευση του καρκίνου πριν γίνουν εμφανή τα πρώτα συμπτώματά του (προσυμπτωματικός έλεγχος). Είναι η προκαταρκτική εξέταση ασυμπτωματικών ή φαινομενικά υγιών ανθρώπων, οι οποίοι προσκαλούνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα να υποβληθούν σε οικειοθελή έλεγχο με την εφαρμογή κλινικών, παρακλινικών ή εργαστηριακών εξετάσεων, οι οποίες μπορούν να γίνουν εύκολα, φθηνά και γρήγορα με σκοπό να ανιχνευθεί η πιθανότητα των ανθρώπων αυτών να νοσήσουν.

Σύμφωνα με το Εθνικό Σχέδιο Δράσης για τον Καρκίνο 2008-2012, οι αναγνωρισμένες και προτεινόμενες στρατηγικές προσεγγίσεις για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου αφορούν στα ακόλουθα:

- σωστή ενημέρωση, πληροφόρηση και εκπαίδευση με την οποία τα άτομα θα είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα σημάδια της νόσου και να κινητοποιηθούν, ώστε να επισκεφθούν τον ειδικό ιατρό
- προληπτική εξέταση για την ανίχνευση πιθανού καρκίνου στα πρώτα στάδια σε φαινομενικά υγιή άτομα

Σύμφωνα με έρευνες για την αποτελεσματικότητα του προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) και τη διεθνή πρακτική, οι καρκίνοι για τους οποίους ενδείκνυται τέτοιου είδους έλεγχος είναι ο καρκίνος του μαστού, του τραχήλου της μήτρας και του παχέος εντέρου. Στο πλαίσιο αυτό, κρίνεται ότι είναι σημαντική η εφαρμογή ολοκληρωμένων προγραμμάτων πρόληψης του γυναικολογικού καρκίνου, ιδιαίτερα στην επαρχία, λόγω του ότι οι γυναίκες εκεί δεν έχουν εύκολη πρόσβαση σε τέτοιες υπηρεσίες και η ευαισθητοποίησή τους είναι χαμηλότερη. Σύμφωνα με το Εθνικό Σχέδιο Δράσης για τον Καρκίνο 2008-2012, Άξονας 3, Δράση 3 προτείνεται η Δημιουργία Κέντρων Έγκαιρης Διάγνωσης.

Συγκεκριμένα προτείνεται η Δημιουργία αυτόνομων, εκτός νοσοκομειακών υποδομών, κέντρων προσυμπτωματικού πληθυσμού ελέγχου (screening) ορισμένων τύπων καρκίνου (όπως μαστού, μήτρας και παχέος εντέρου), η αποτελεσματικότητα των οποίων είναι καλά τεκμηριωμένη από τη διεθνή βιβλιογραφία και εμπειρία με στόχους:

- Ενημέρωση, πληροφόρηση, ευαισθητοποίηση και εκπαίδευση του πληθυσμού για τη σπουδαιότητα του προληπτικού ελέγχου
- Έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου μέσω της εφαρμογής προγραμμάτων screening
- Η ενθάρρυνση των ατόμων για τακτικό επανέλεγχο ανάλογα με τις προδιαγραφές του προγράμματος
- Βελτίωση του ποσοστού διάγνωσης στα αρχικά στάδια της νόσου

Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι στην επαρχία διαμένει αναλογικά ένας σημαντικός πληθυσμός γυναικών άνω των πενήντα, που αποτελούν για κάποιους καρκίνους την ομάδα κινδύνου. Τα προγράμματα αυτά πρέπει να λειτουργήσουν σε δύο κατευθύνσεις. Πρώτον, στην υιοθέτηση από τον πληθυσμό υγιεινών στάσεων ζωής καθώς και στην ευαισθητοποίηση για την αξία των προσυμπτωματικών ελέγχων, και δεύτερον, στην τακτική χρήση των προσυμπτωματικών ελέγχων που οδηγούν στην έγκαιρη διάγνωση.

#### Περιγραφή του αντικειμένου του έργου

Το προτεινόμενο έργο αφορά στη δημιουργία ενός Κέντρου Πρόληψης και Προσυμπτωματικού Ελέγχου του Γυναικολογικού Καρκίνου στα Χανιά που εφεξής θα ονομάζεται 'Κέντρο Πρόληψης' και θα έχει ως έδρα τη Νομαρχία Χανίων, η οποία θα παραχωρήσει ειδικό χώρο στέγασης του κέντρου. Το Κέντρο Πρόληψης θα στελεχωθεί με μία/έναν υπάλληλο της Διεύθυνσης Υγείας της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης (Ν. Α) Χανίων και μια συμβασιούχο χειρίστρια Η/Υ. Επίσης το κέντρο πρόληψης θα εξυπηρετείται από έναν οδηγό και ένα συνοδό αυτοκινήτου από τη Ν.Α Χανίων. Οι δράσεις του Κέντρου Πρόληψης θα αφορούν:

- Την ενημέρωση των γυναικών για την υιοθέτηση υγιεινών στάσεων ζωής σε σχέση με τη σεξουαλική ζωή και το γυναικολογικό καρκίνο. Αυτή θα γίνει μέσω της έκδοσης ενημερωτικών φυλλαδίων, CD, ανάπτυξη σχετικής ιστοσελίδας, και ενημερωτικών εκπομπών στο τοπικό ραδιόφωνο και την τηλεόραση.
- Την ενημέρωση, πληροφόρηση και εκπαίδευση με την οποία τα άτομα θα είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα σημάδια της νόσου και να κινητοποιηθούν, ώστε να επισκεφθούν το ειδικό ιατρό. Αυτή θα γίνει μέσω της έκδοσης ενημερωτικών φυλλαδίων, CD, ανάπτυξη σχετικής ιστοσελίδας, και ενημερωτικών εκπομπών στο τοπικό ραδιόφωνο και την τηλεόραση.
- Τη διενέργεια έρευνας σε αντιπροσωπευτικό δείγμα γυναικών σε σχέση με την υγεία τους γενικά, τη στάση σε σχέση με τα θέματα αυτά, τους παράγοντες κινδύνου και τη χρήση υπηρεσιών προσυμπτωματικού ελέγχου
- Την προληπτική εξέταση (προσυμπτωματικός έλεγχος) για την ανίχνευση πιθανού γυναικολογικού καρκίνου στα πρώτα στάδια σε φαινομενικά υγιή άτομα:

1. Σε σχέση με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, ο προσυμπτωματικός έλεγχος του θα διενεργηθεί μέσω PAP test, και αφορά τις γυναίκες, ένα χρόνο μετά την έναρξη της σεξουαλικής τους ζωής ή βρίσκονται στην ηλικία των 21 ετών και είναι ετήσιος μέχρι τα 55 και τριετής μετά. Για το σκοπό αυτό θα κληθούν όλες οι γυναίκες μιας επιλεγμένης περιοχής (θα καταχωρηθούν στη βάση δεδομένων από τους εκλογικούς καταλόγους) που είναι μέσα στον ανώτερο πληθυσμό με προσωπικό γράμμα να συμμετάσχουν στο πρόγραμμα αυτό. Επίσης θα το πληροφορηθούν μέσω της έκδοσης ενημερωτικών φυλλαδίων, CD, ανάπτυξη σχετικής ιστοσελίδας, και ενημερωτικών εκπομπών στο τοπικό ραδιόφωνο και την τηλεόραση. Εκτιμάται ότι ο πληθυσμός αναφοράς είναι 6000 γυναίκες και ότι στα τρία χρόνια του προγράμματος θα γίνουν 12000 έλεγχοι. Οι έλεγχοι θα πληρωθούν είτε μέσω του ασφαλιστικού ταμείου εφόσον καλύπτονται, είτε μέσω του προγράμματος, είτε θα γίνουν δωρεάν στο Νοσοκομείο Χανίων.
2. Το εμβόλιο για τον ιό HPV που θεωρείται υπεύθυνος για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας συνιστάται σε κορίτσια 14-15 ετών και μέχρι την ηλικία των 21 ετών εφόσον δεν έχουν εκτεθεί στον ιό. Για το σκοπό αυτό, θα κληθούν από τα μέσα ενημέρωσης όλα τα κορίτσια και οι γυναίκες που είναι μέσα στον ανώτερο πληθυσμό αναφοράς να εμβολιασθούν μέσω του ασφαλιστικού τους ταμείου.
3. Την καταχώρηση και την επικαιροποίηση δεδομένων στη Βάση Δεδομένων από όλο τον πληθυσμό αναφοράς και για κάθε μια ενέργεια των ανωτέρω παραγράφων 1, 2, τους χρόνους κλήσης για τον επόμενο έλεγχο και τα αποτελέσματα των προσυμπτωματικών ελέγχων.
- Την ενημέρωση του Υγειονομικού Χάρτη της χώρας με επιδημιολογικά στοιχεία από τη βάση δεδομένων, δύο φορές το χρόνο ή κάθε φορά που θα ζητηθεί.

Στοιχεία για τις substracted εικόνες

True negatives:

Νοσοκομείο	Εικόνες από ασθενείς
Αλεξάνδρα	86
Hammersmith	33
StMarys	44

True positives:

Νοσοκομείο	Εικόνες από ασθενείς
Αλεξάνδρα	17
Hammersmith	24
StMarys	15

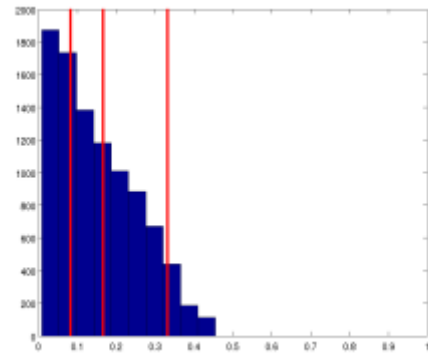
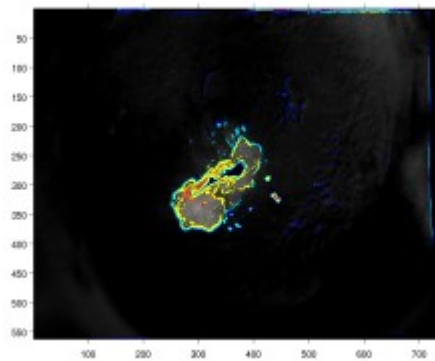
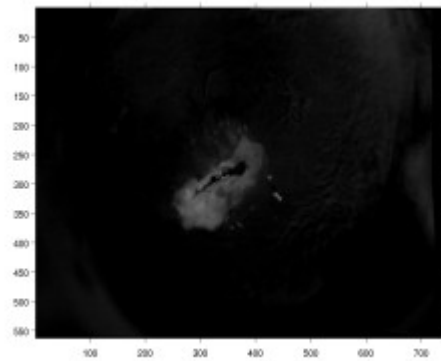
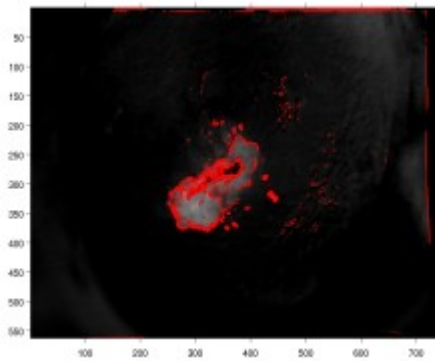
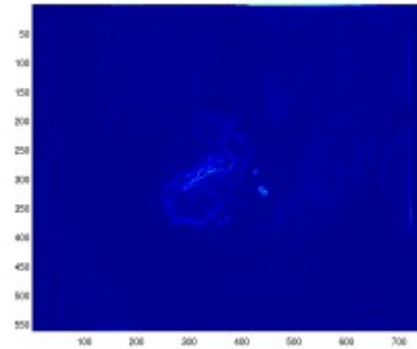
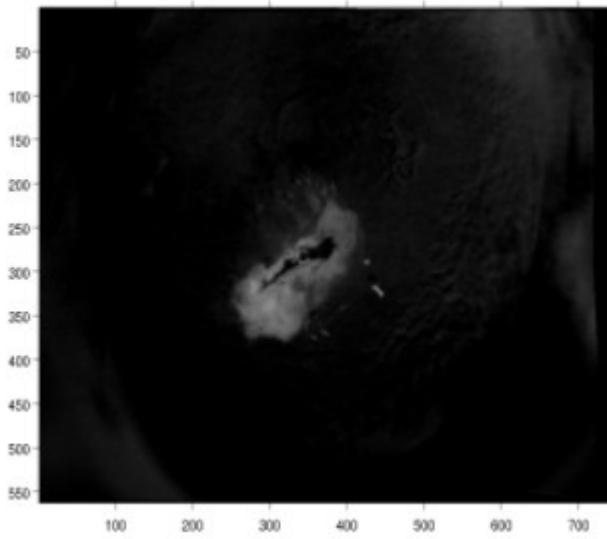
## Παράρτημα Α – Αποτελέσματα και Εικόνες ανά ασθενή

Στο παράρτημα Α παρουσιάζεται η οπτική αντίληψη των παραμέτρων του demarcation για 20 ασθενείς (14 True Positive και 6 True Negative) επιβεβαιωμένες με βιοψία. Για κάθε ασθενή παρουσιάζονται οι εξής εικόνες:

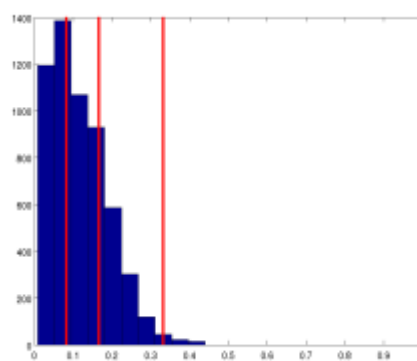
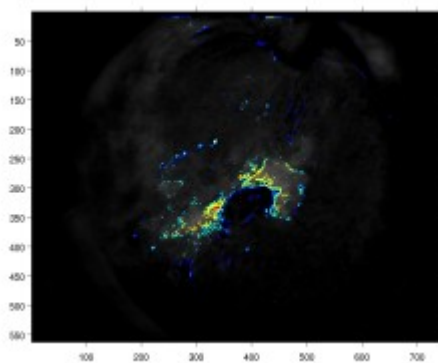
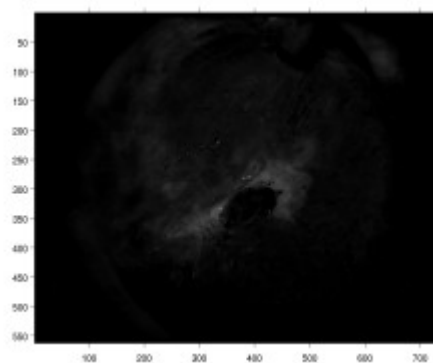
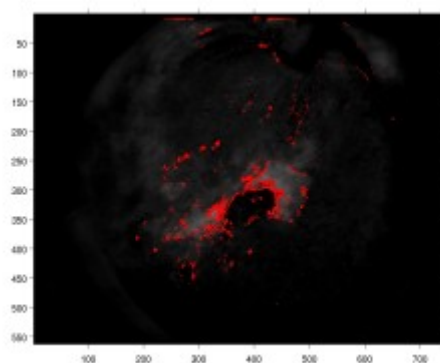
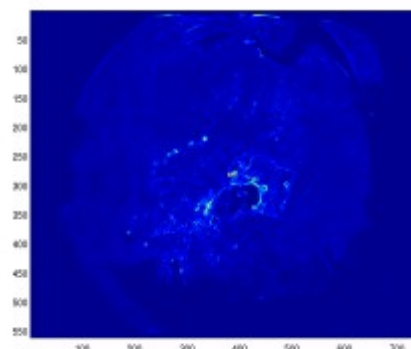
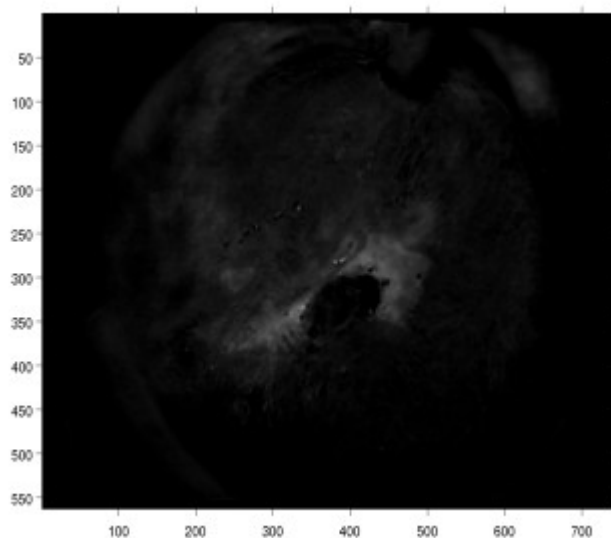
- 1) Η αρχική subtracted εικόνα,
- 2) Η εικόνα gradient της κάθε subtracted εικόνα,
- 3) Η ψευδοχρωματισμένη εικόνα για τα pixels της subtracted εικόνας που έχουν gradient μεγαλύτερο από 0.04,
- 4) Η εικόνα που προκύπτει μετά την εφαρμογή των βαρών 70% ένταση – 30% gradient,
- 5) Η ψευδοχρωματισμένη εικόνα με τις τέσσερις κλάσεις (σκούρα μπλε, σιέλ, κίτρινη, κόκκινη),
- 6) Το ιστόγραμμα με χωρισμένες τις τέσσερις κλάσεις των pixels.

# TRUE POSITIVE ΑΣΘΕΝΕΙΣ

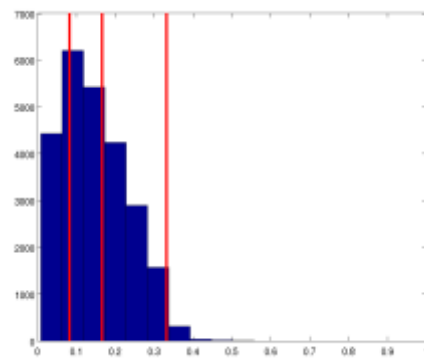
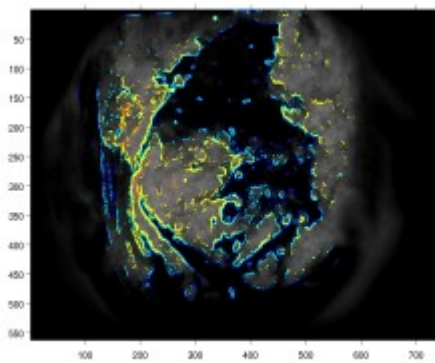
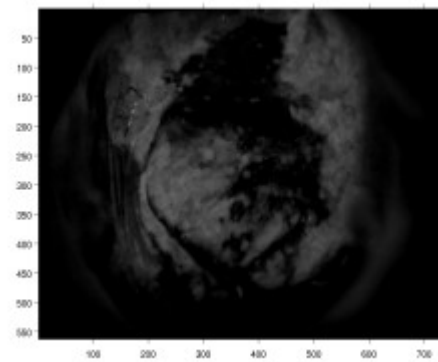
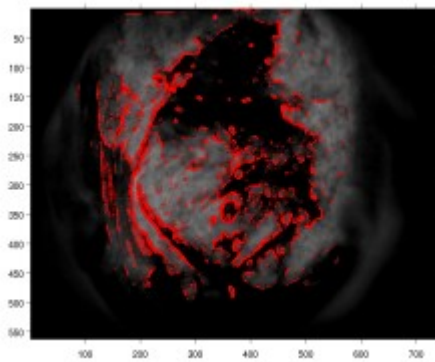
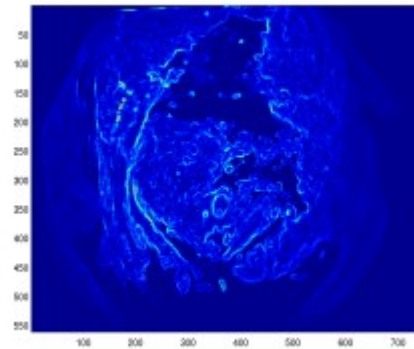
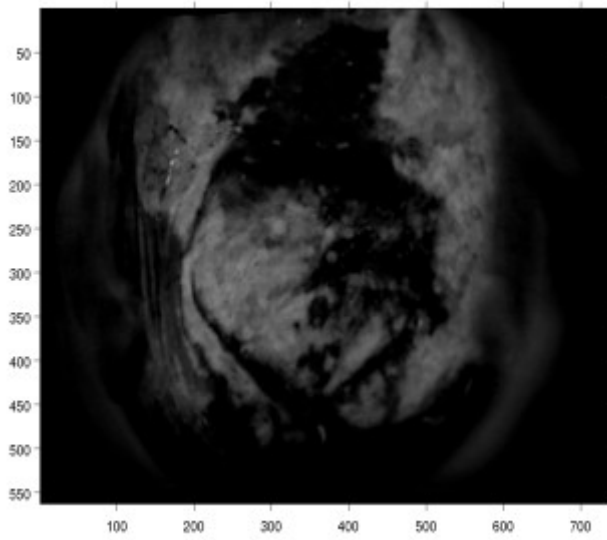
Ασθενής 16\_72



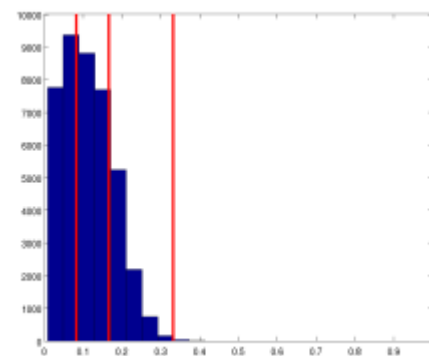
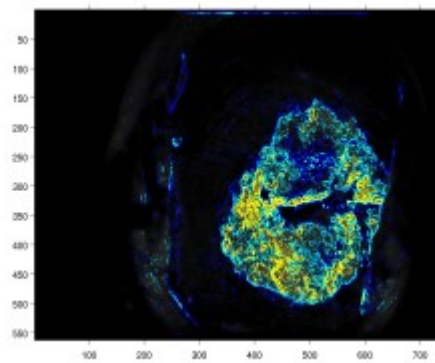
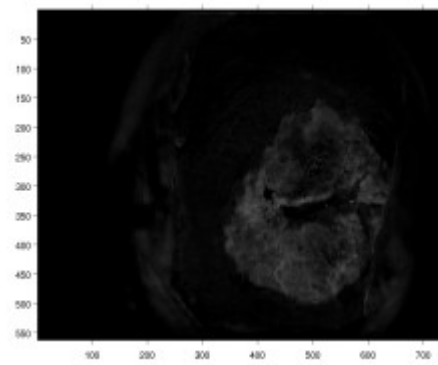
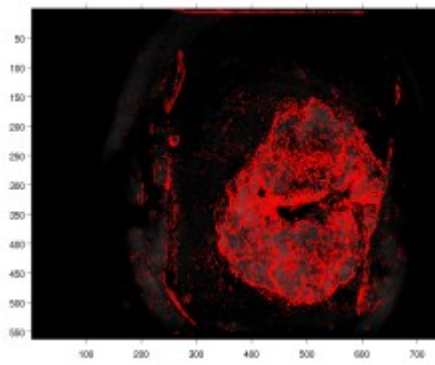
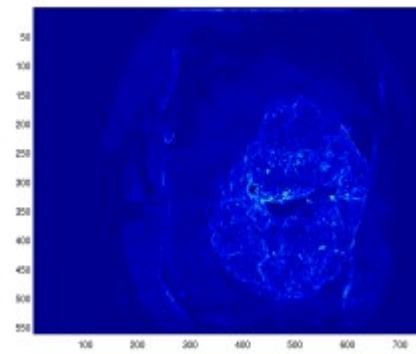
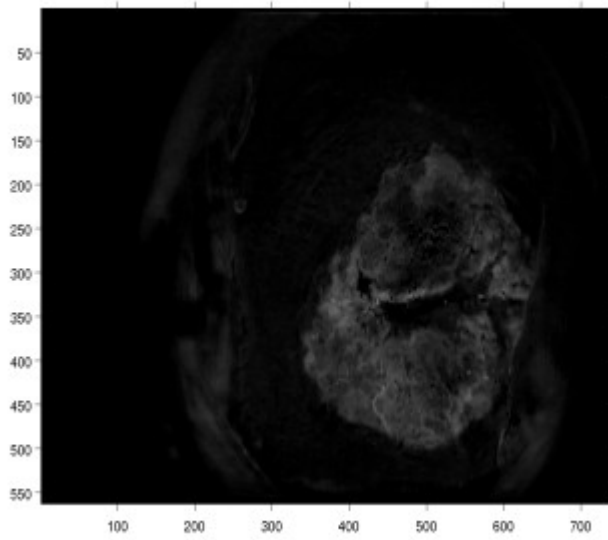
Ασθενής 54\_139



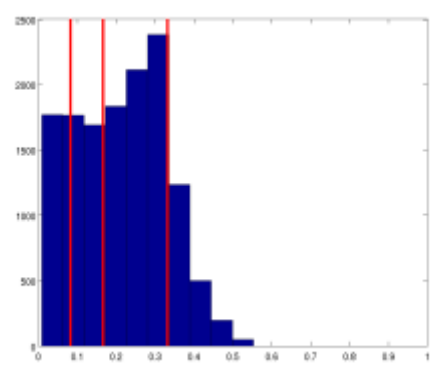
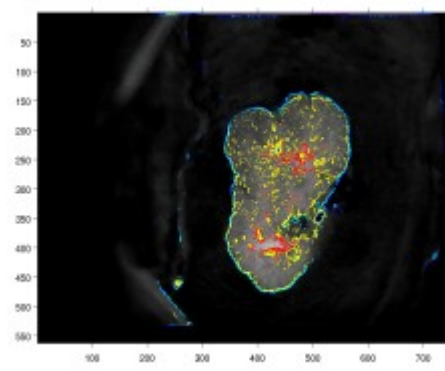
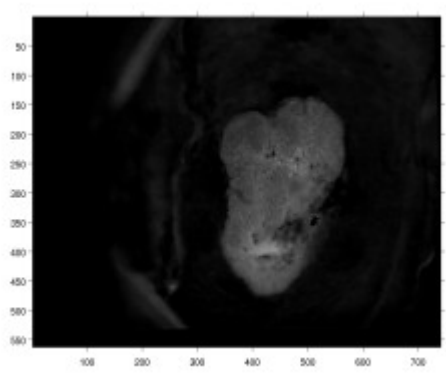
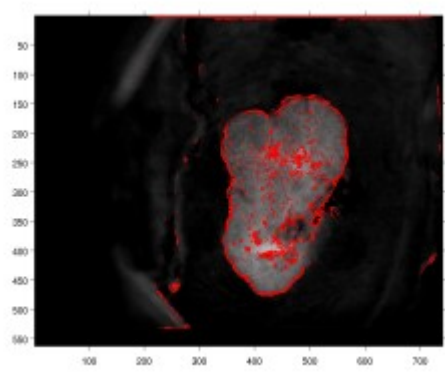
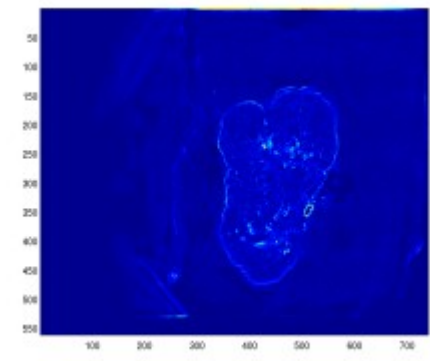
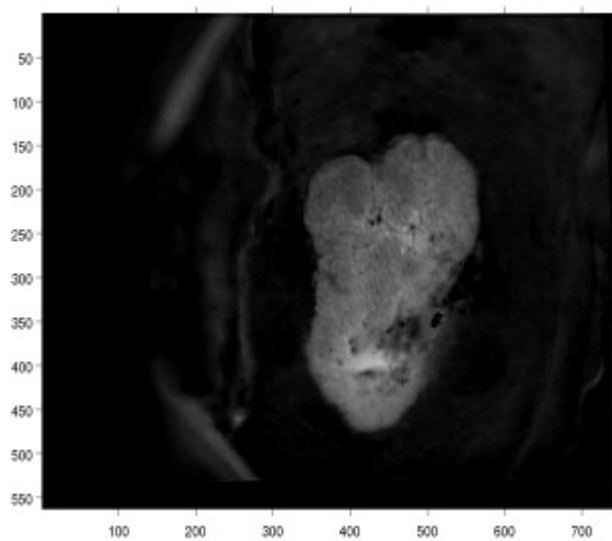
Ασθενής 57\_151



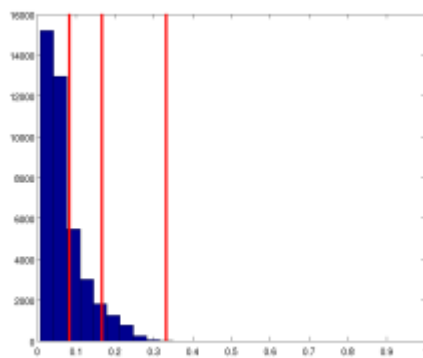
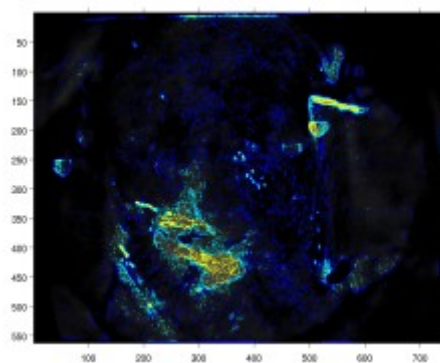
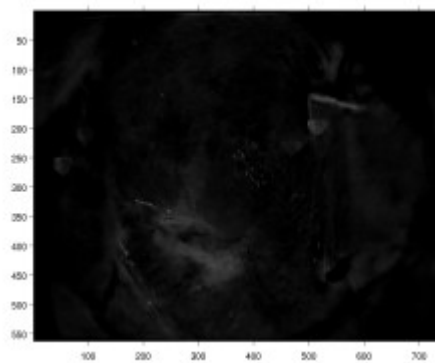
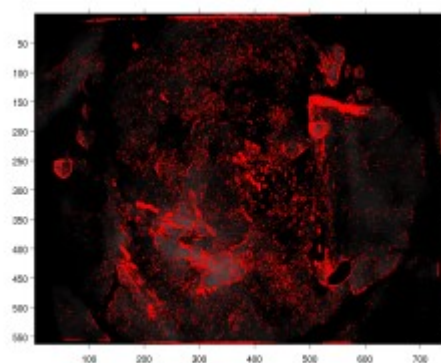
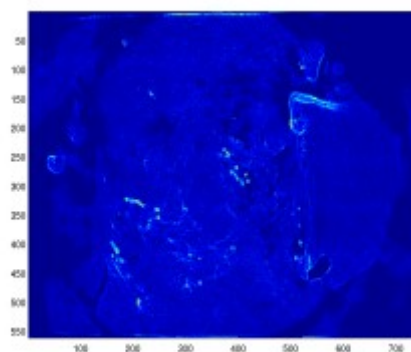
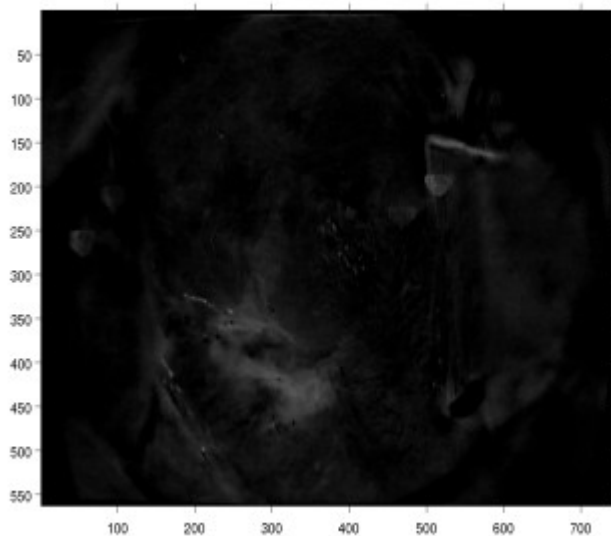
Ασθενής 80\_199



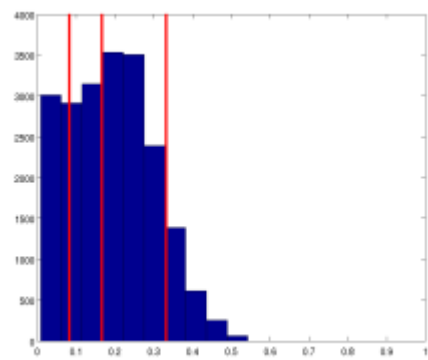
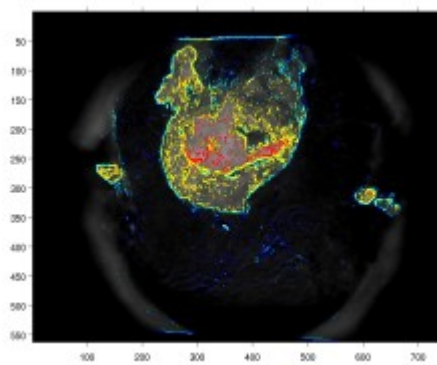
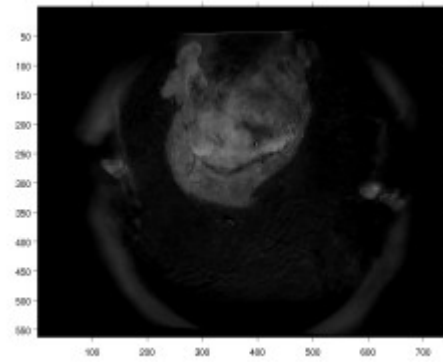
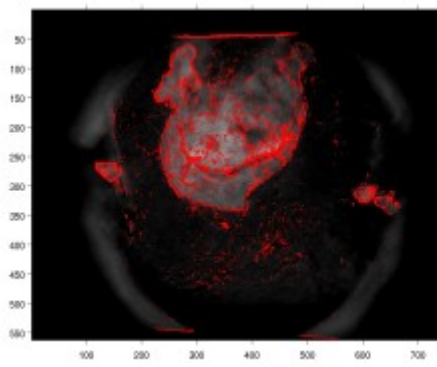
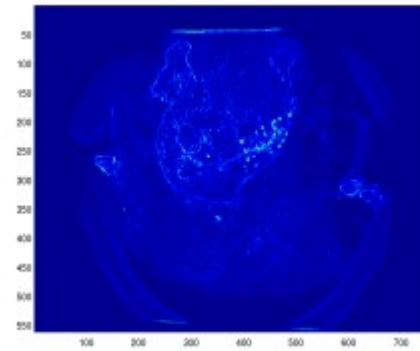
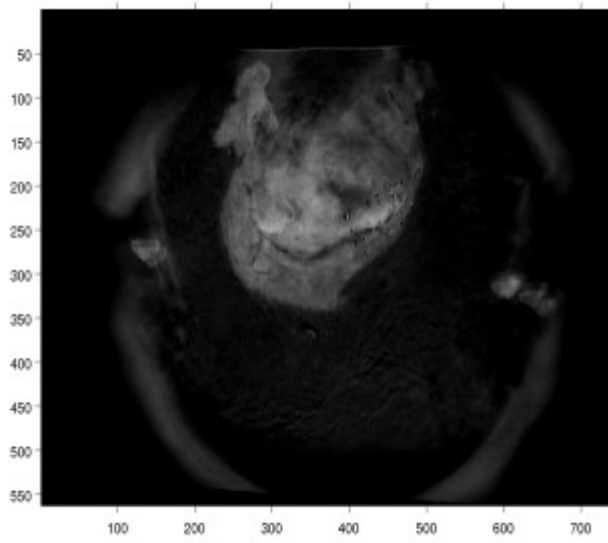
Ασθενής 84\_208



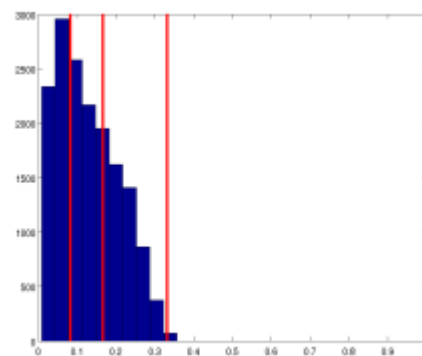
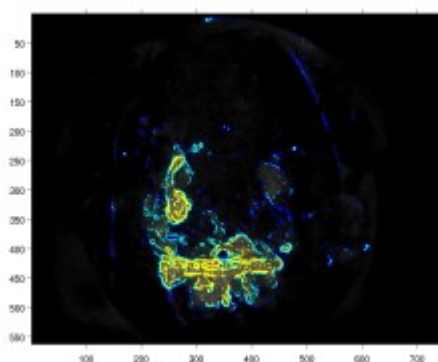
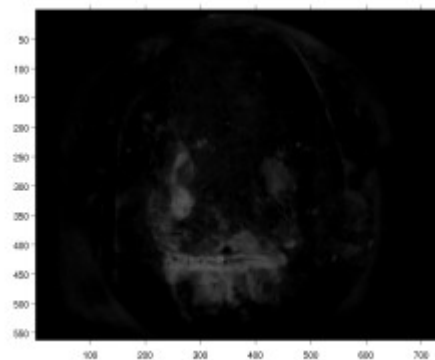
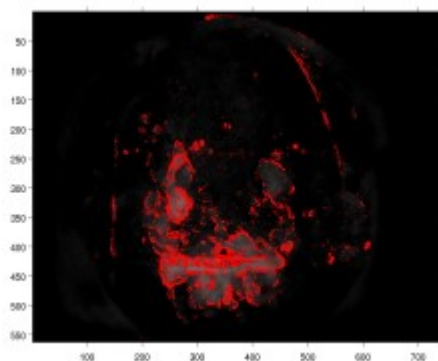
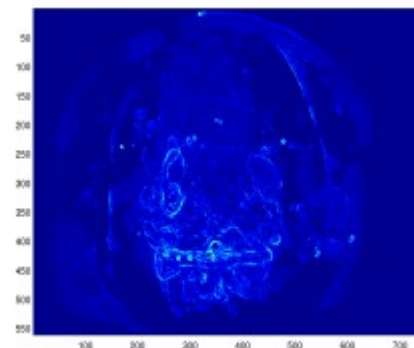
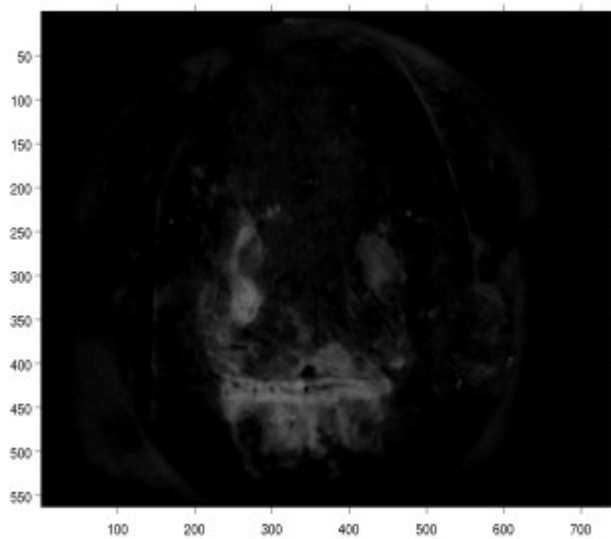
Ασθενής 85\_210



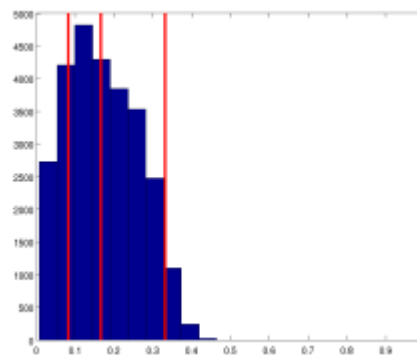
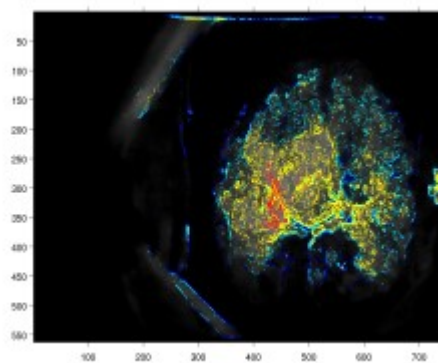
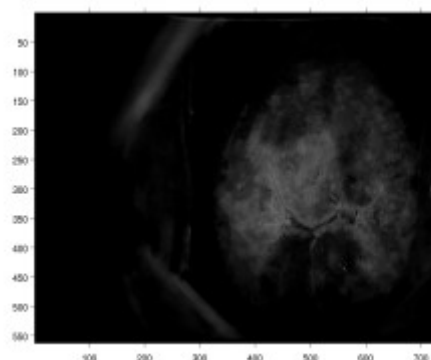
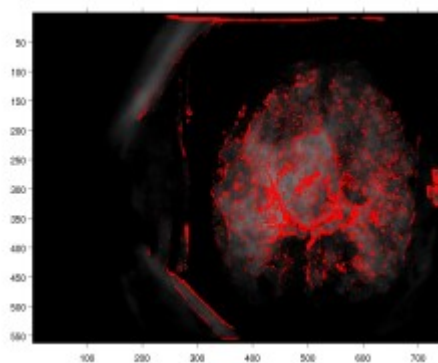
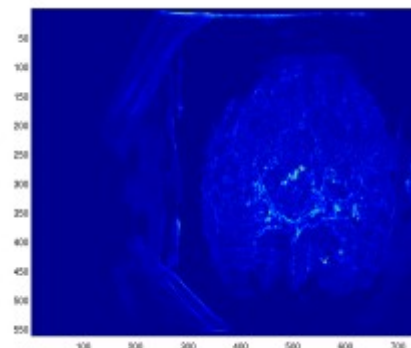
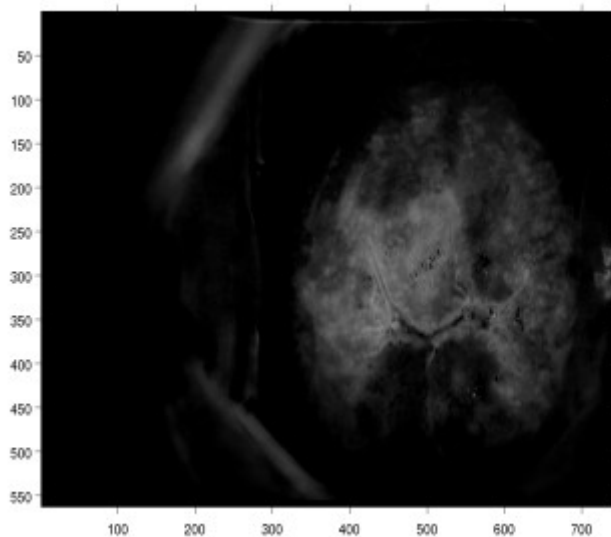
Ασθενής 136\_274



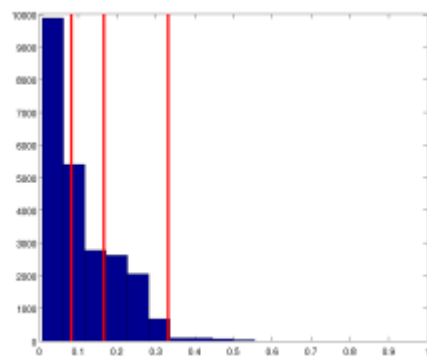
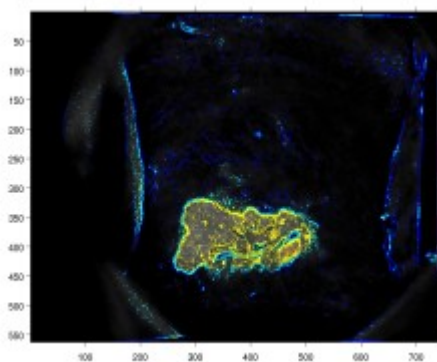
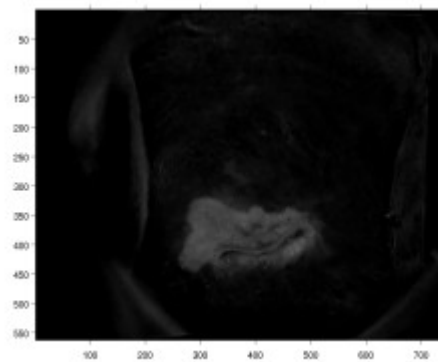
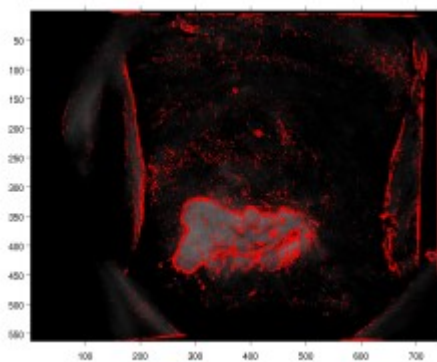
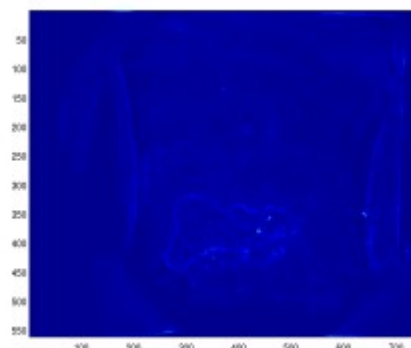
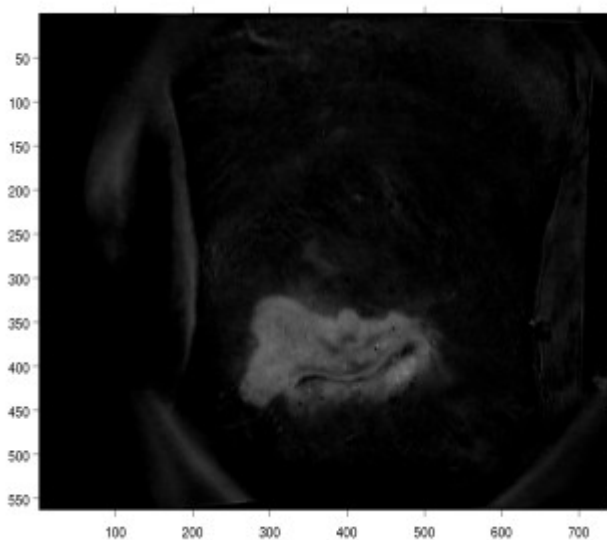
Ασθενής 13\_69



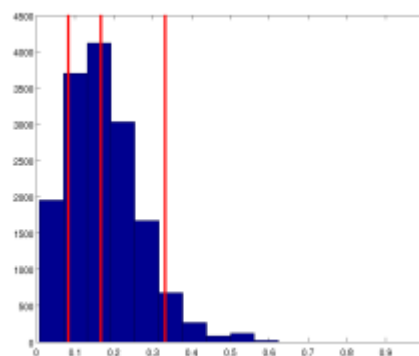
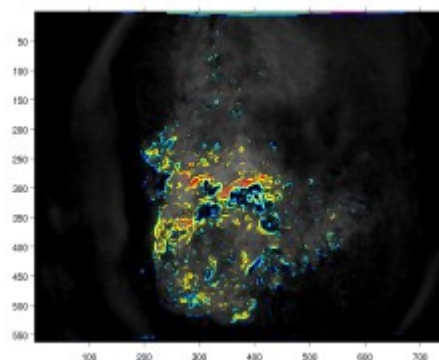
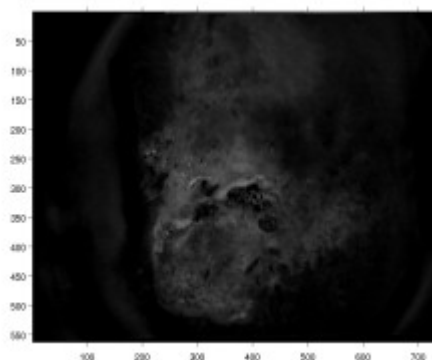
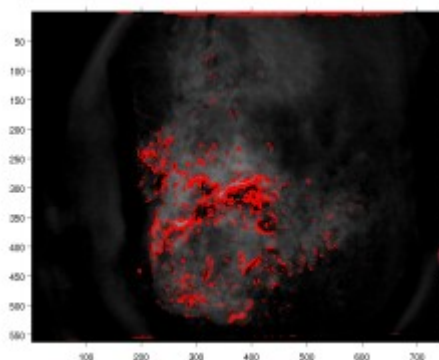
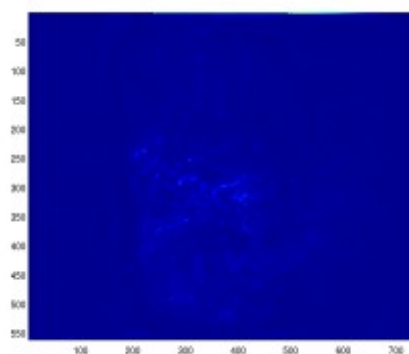
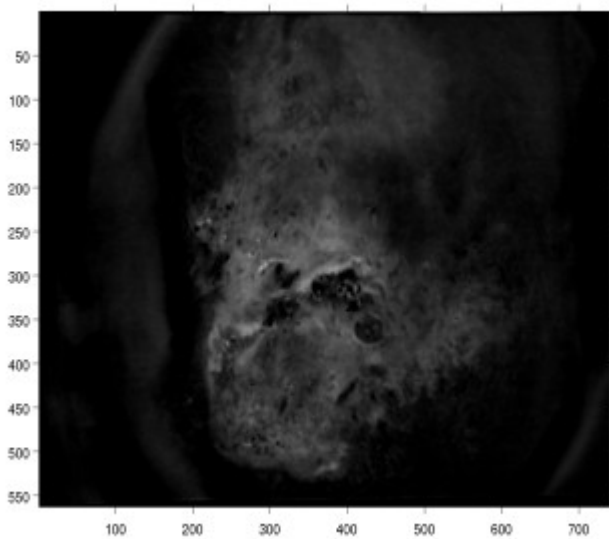
Ασθενής 120\_256



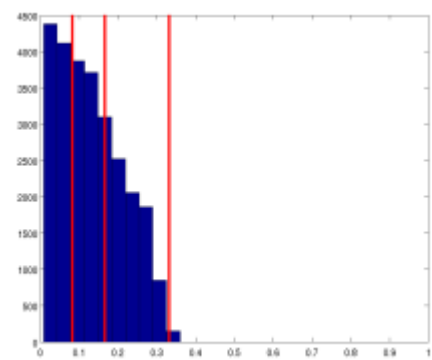
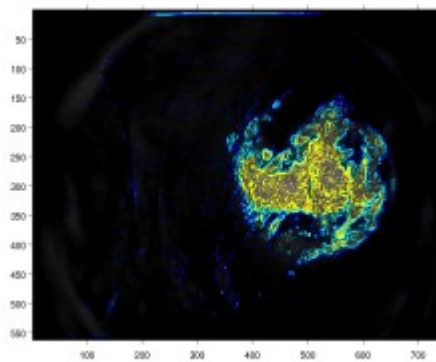
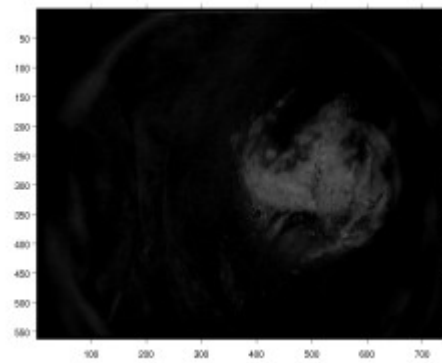
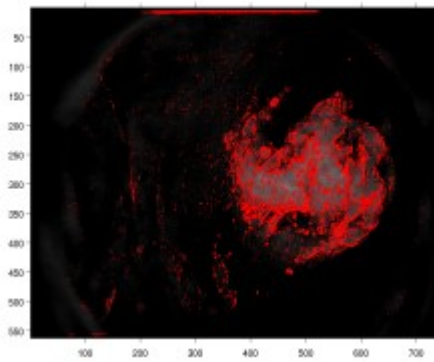
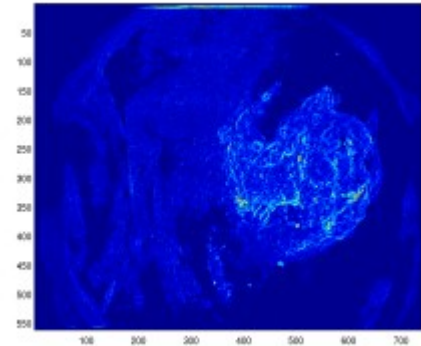
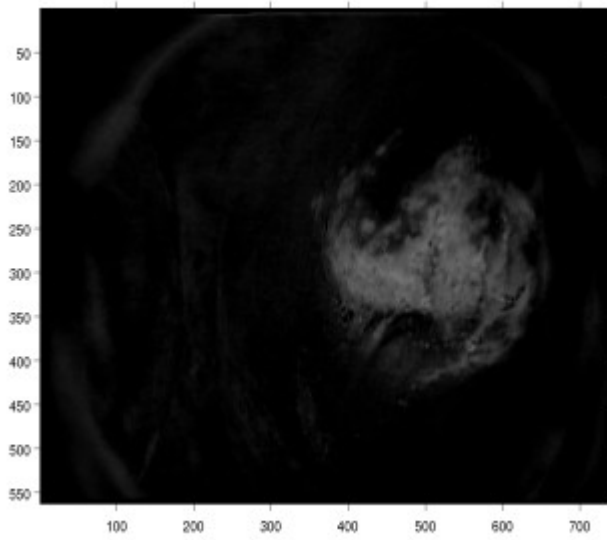
Ασθενής 122\_258



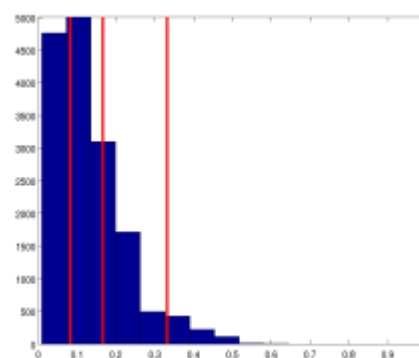
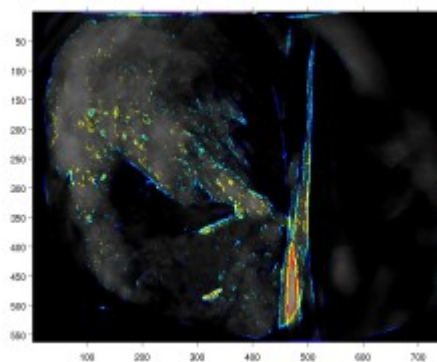
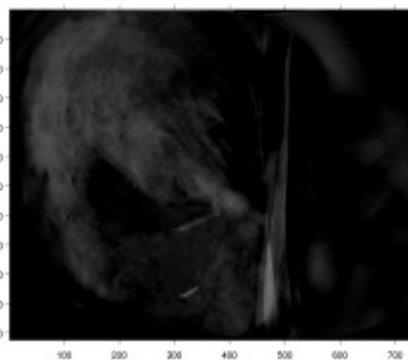
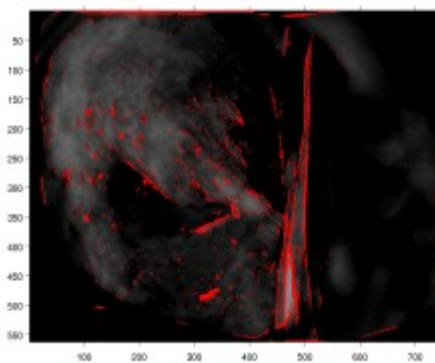
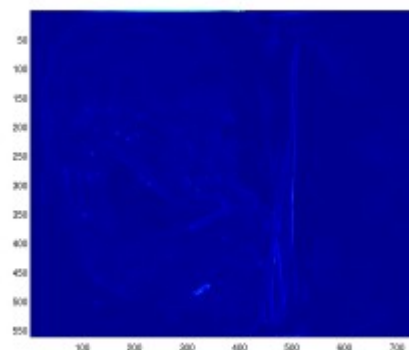
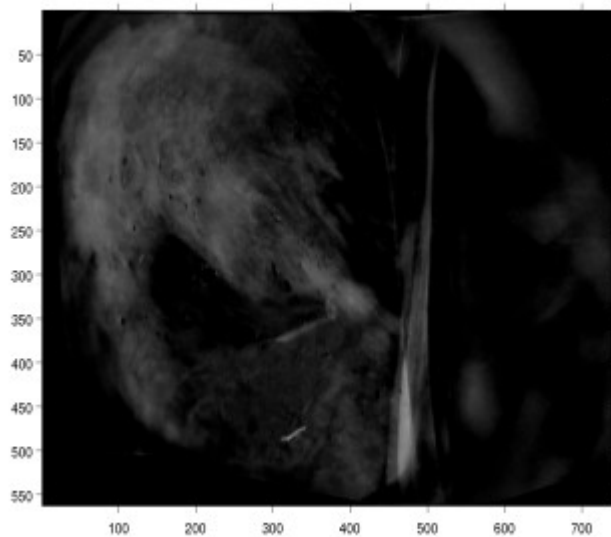
Ασθενής 66\_164



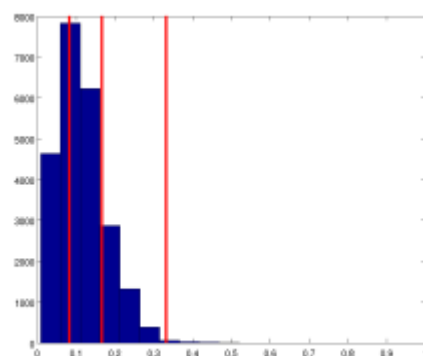
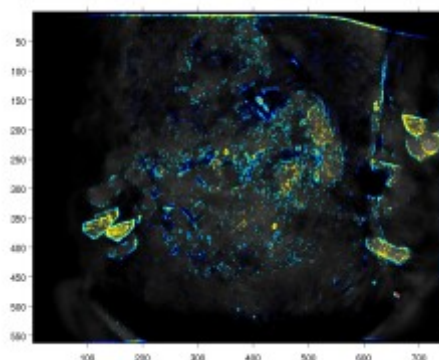
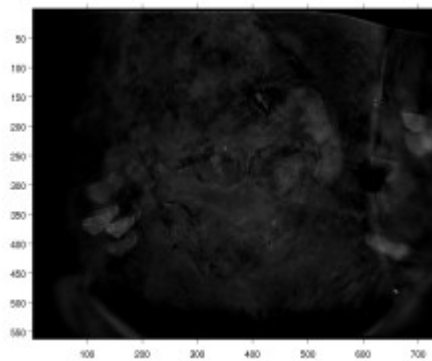
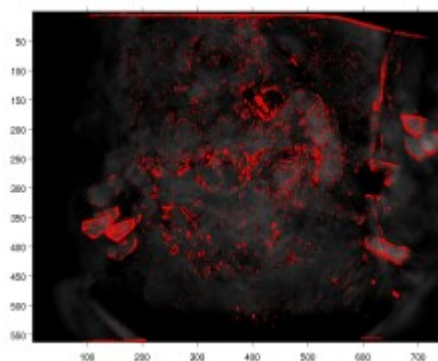
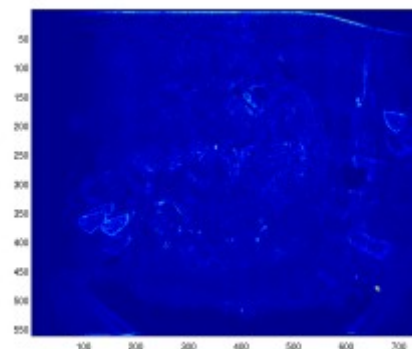
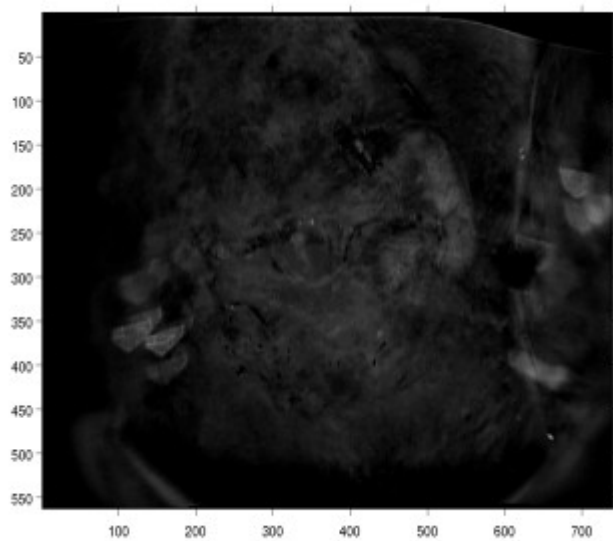
Ασθενής 94\_225



Ασθενής 118\_254

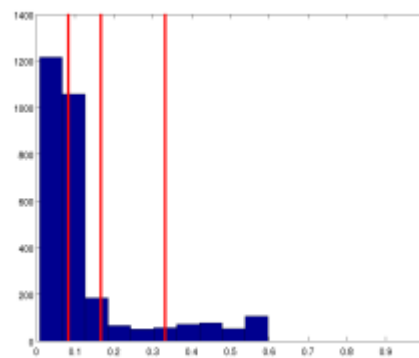
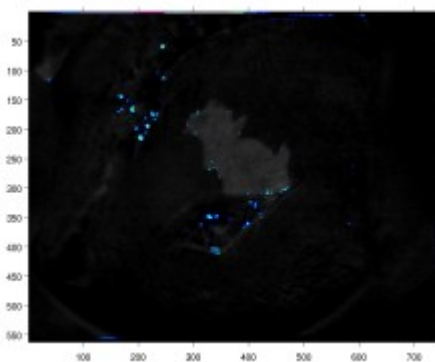
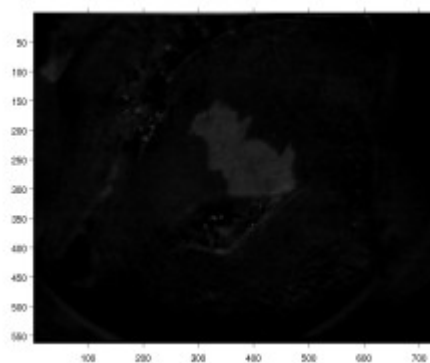
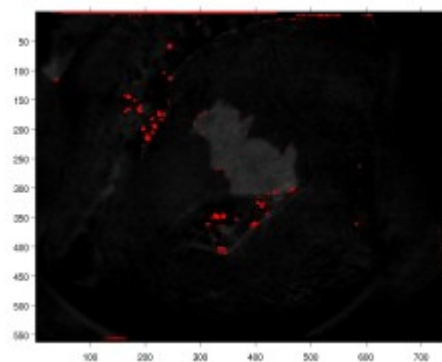
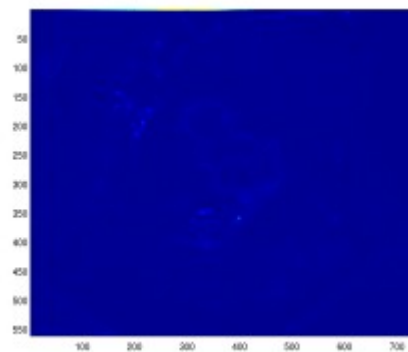
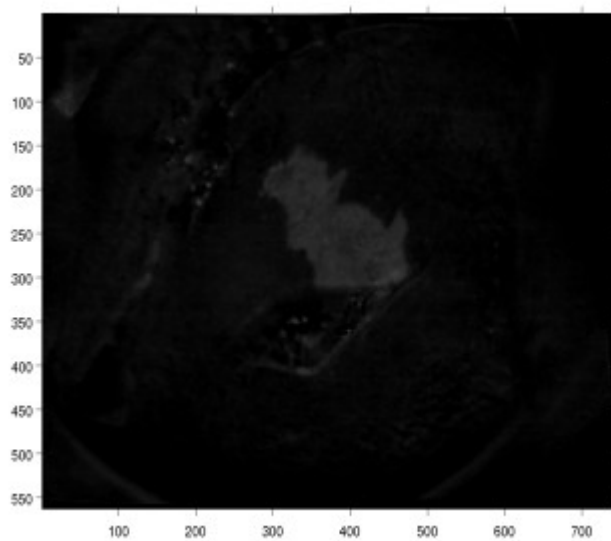


Ασθενής 176\_329

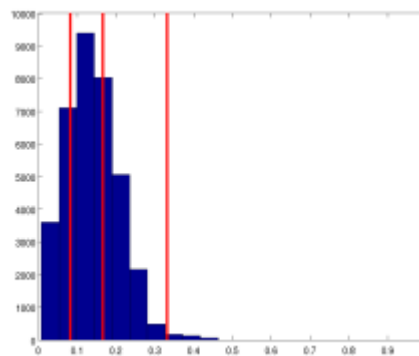
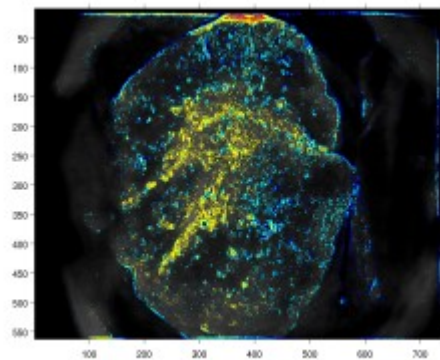
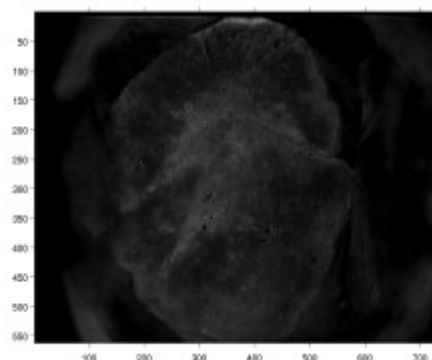
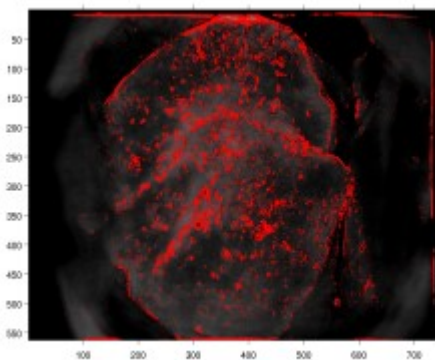
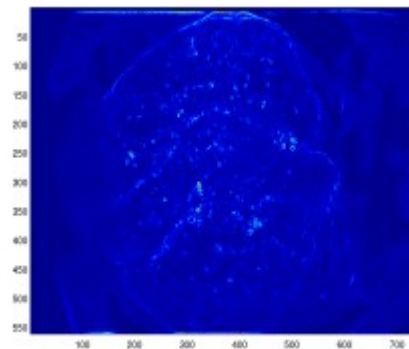
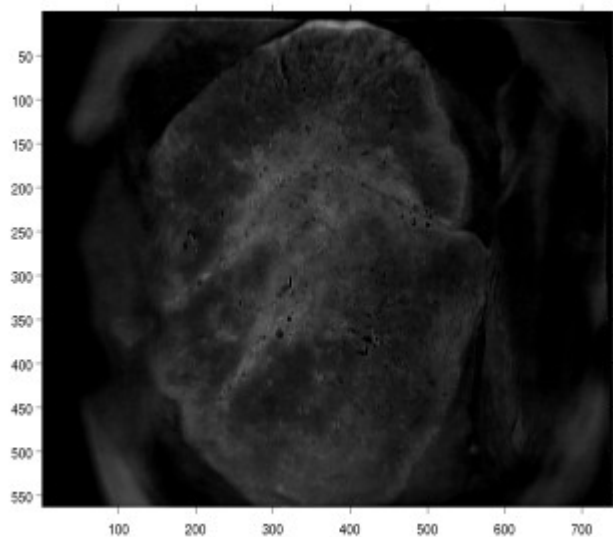


# TRUE NEGATIVE ΑΣΘΕΝΕΙΣ

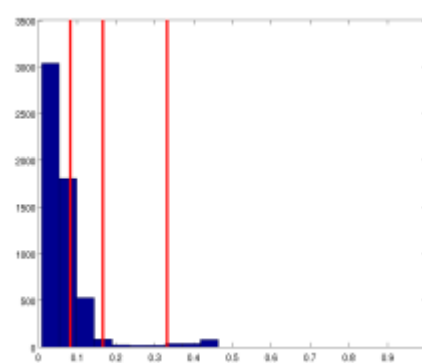
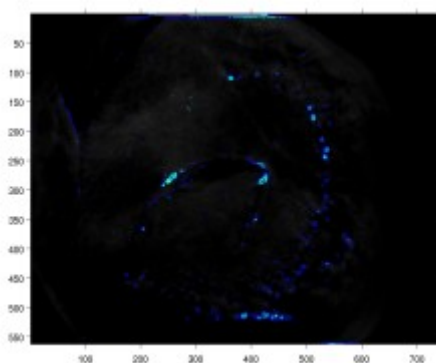
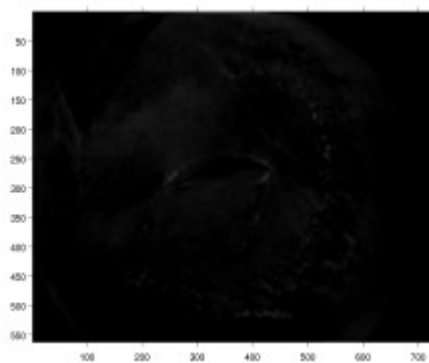
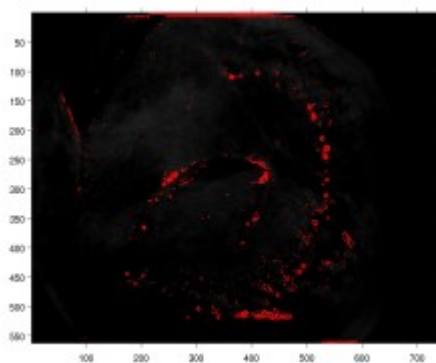
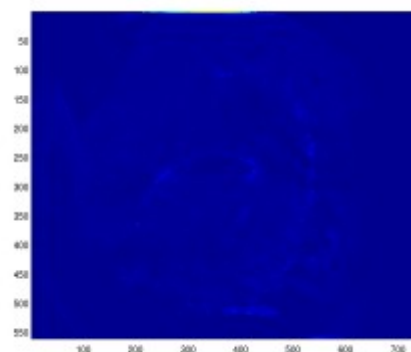
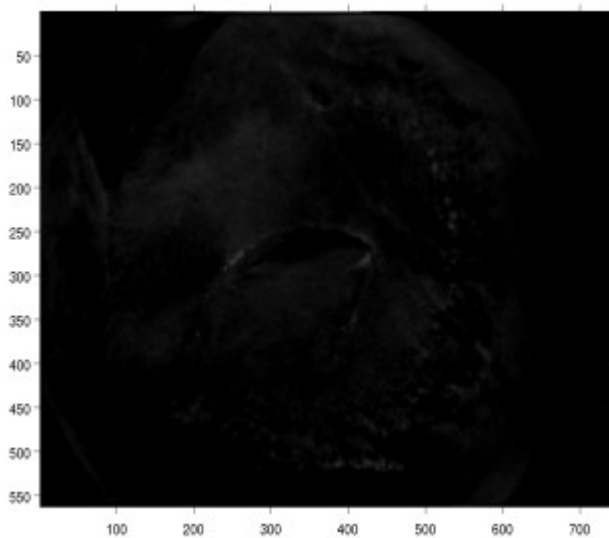
Ασθενής 35\_117



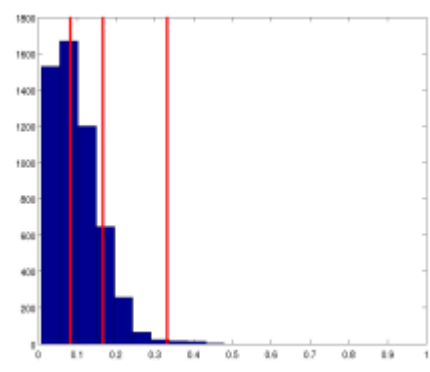
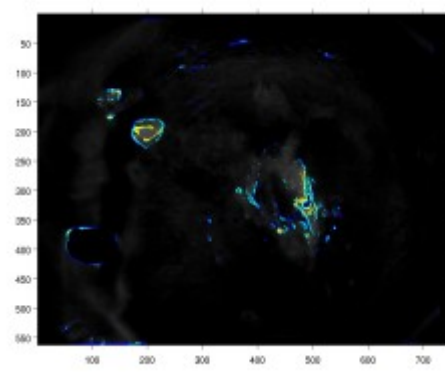
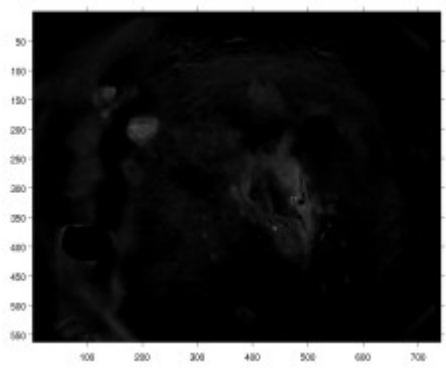
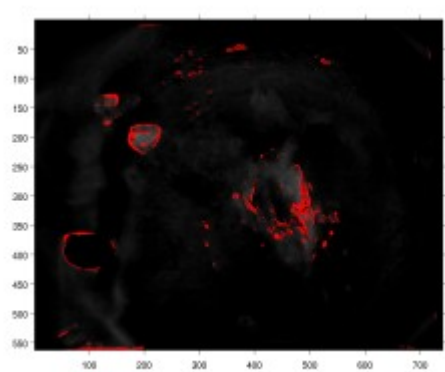
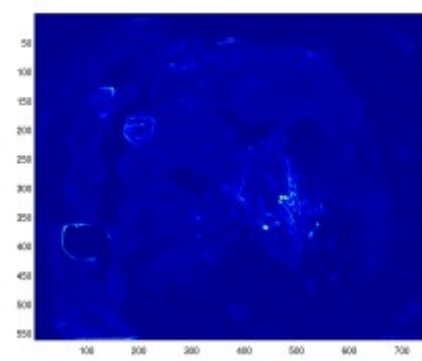
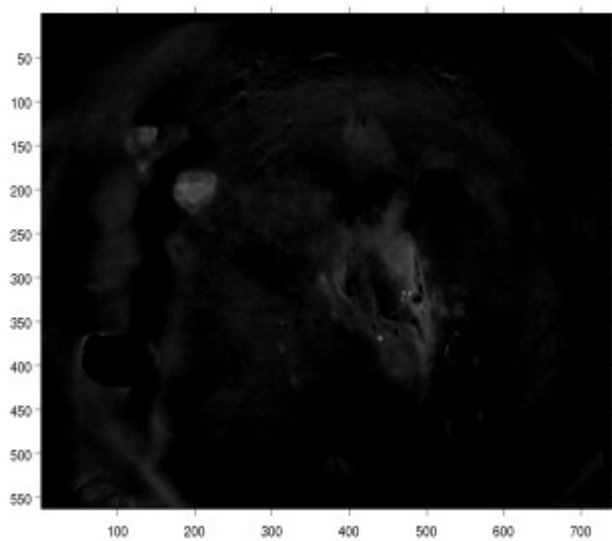
Ασθενής 93\_224



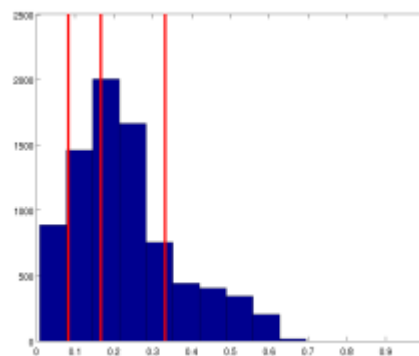
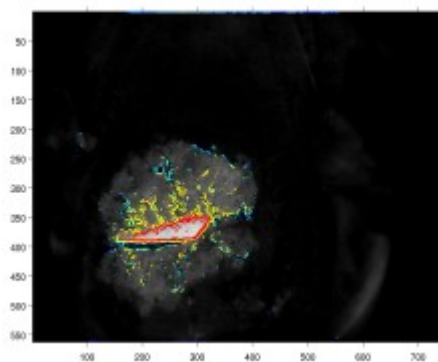
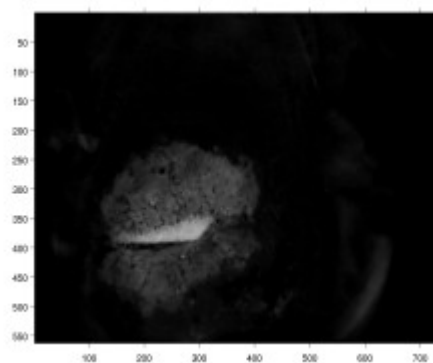
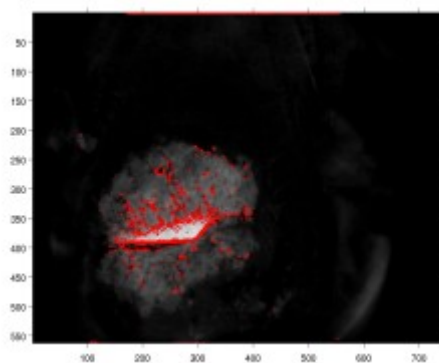
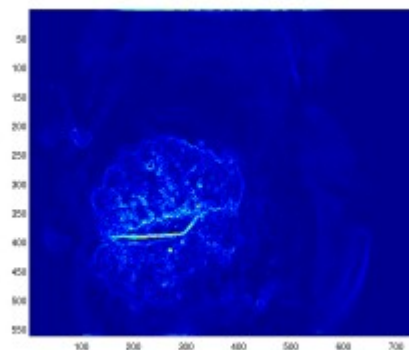
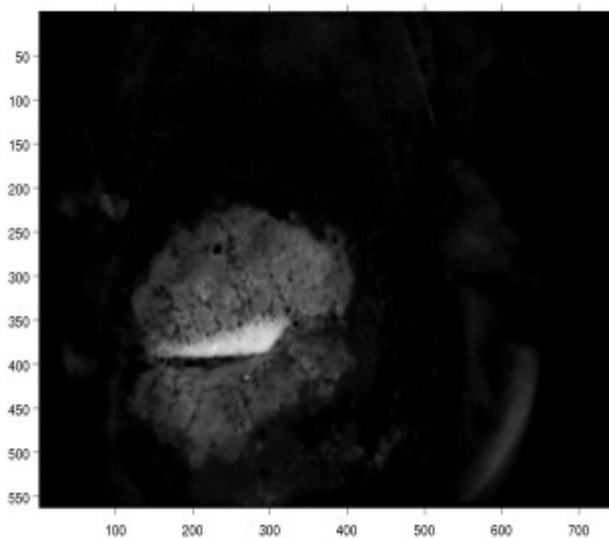
Ασθενής 10\_66



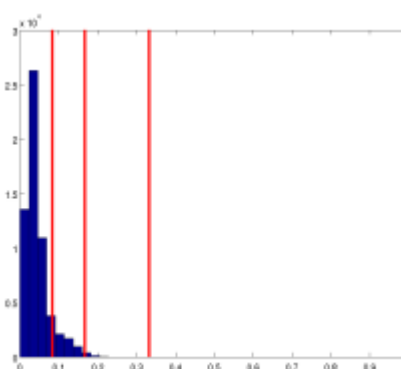
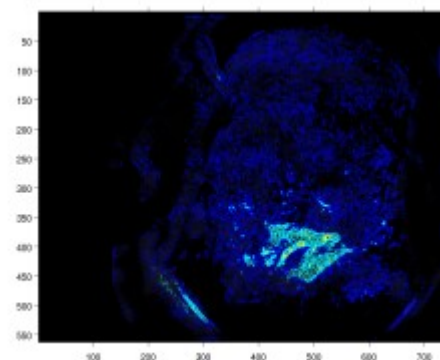
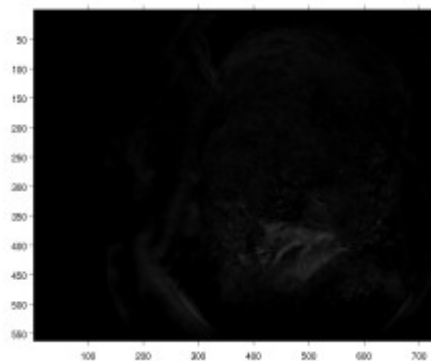
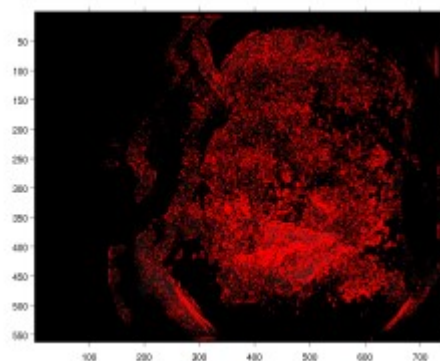
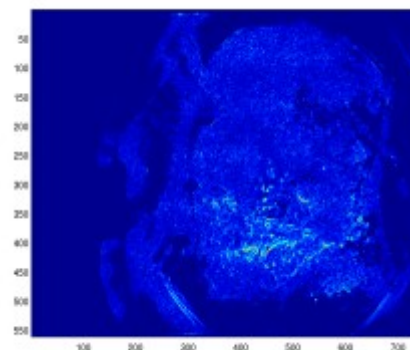
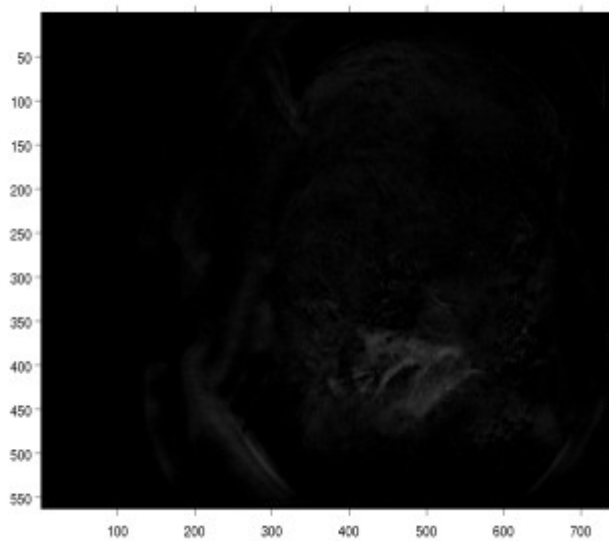
Ασθενής 59\_153



Ασθενής 48\_131



Ασθενής 174\_325



## Κώδικας επεξεργασίας εικόνων του ιατρικού μηχανήματος DYSIS για εξαγωγή παραμέτρων

```
close all;  
clear all;  
clc;
```

```
%Anagnosi eikonas
```

```
X=imread('2.bmp');
```

```
%Emfanisi eikonas
```

```
figure(1)  
imshow(X)  
axis on;
```

```
%Υπολογισμος gradient eikonas
```

```
[six,siy]=gradient(mat2gray(X),1,1);  
si = sqrt(six.^2 + siy.^2);
```

```
figure(2)  
imagesc(si)  
colormap(jet)
```

```
%Megistes times entasis kai gradient eikonas
```

```
max_x=max(max(X));  
max_g=max(max(si));
```

```
%Arxikopoihseis
```

```
rgbimage = repmat(X,[1 1 3]);  
size(rgbimage);  
rgbimage2 = repmat(X,[1 1 3]);  
size(rgbimage2);  
rgbimage3 = repmat(X,[1 1 3]);  
size(rgbimage3);  
rgbimage4 = repmat(X,[1 1 3]);  
size(rgbimage4);  
rgbimage5=zeros(size(X,1),size(X,2),3);
```

```
k=0;  
l=0;  
m=0;  
n=0;  
t=0;
```

```
entasi1=0;  
entasi2=0;
```

```
entasi3=0;
entasi4=0;
```

```
%Euresi pixels me gradient megalutero apo 0.04
```

```
for i=1:size(X,1)
    for j=1:size(X,2)

        if si(i,j) >= 0.04 %katofli gradient
            rgbimage2(i,j,1)=255;
            rgbimage2(i,j,2)=0;
            rgbimage2(i,j,3)=0;
            k=k+1;
        end

    end

end
```

```
figure(3)
imshow(rgbimage2)
axis on;
```

```
sii=double(si);
XX=double(X);
```

```
%Kanonikopoihseis
```

```
XX=XX./230; % kanonikopoiome wste na exoume idio evros timwn otan efarmosoume ta varh
```

```
sii=sii./1.4; % Einai hdh apo 0 - sqrt(2)
```

```
% y=0.2*XX+0.8*sii;
% y=0.8*XX+0.2*sii;
% y=0.5*XX+0.5*sii;
```

```
%Eikona me vari
```

```
y=0.7*XX+0.3*sii;
```

```
figure(4)
imshow(y)
axis on;
```

```
max_y=1;
```

```
%Pseudoxrwmatismeni eikona (eikona 4 classes)
```

```
for i=1:size(X,1)
    for j=1:size(X,2)

        if rgbimage2(i,j,1)==255 && rgbimage2(i,j,2)==0 && rgbimage2(i,j,3)==0
            if y(i,j)>=0 && y(i,j)<max_y/12 %%%% skouro mple
                rgbimage3(i,j,1)=0;
                rgbimage3(i,j,2)=0;
                rgbimage3(i,j,3)=207;

                l=l+1;
                entasi1(l)=y(i,j);
            end

            if y(i,j)>=max_y/12 && y(i,j)<max_y/6
                rgbimage3(i,j,1)=0; %%%%siel
                rgbimage3(i,j,2)=239;
                rgbimage3(i,j,3)=255;

                m=m+1;
                entasi2(m)=y(i,j);
            end

            if y(i,j)>=max_y/6 && y(i,j)<max_y/3
                rgbimage3(i,j,1)=255; %%%%kitrino
                rgbimage3(i,j,2)=255;
                rgbimage3(i,j,3)=0;

                n=n+1;
                entasi3(n)=y(i,j);
            end

            if y(i,j)>=max_y/3 && y(i,j)<=max_y
                rgbimage3(i,j,1)=255; %%%%kokkino
                rgbimage3(i,j,2)=0;
                rgbimage3(i,j,3)=0;

                t=t+1;
                entasi4(t)=y(i,j);
            end
        end
    end
end
end

figure(5)
imshow(rgbimage3)
axis on;
```

```
%Pinakas me ton arithmo ton pixels kathe klasis
```

```
pinakas=[l, m, n, t]  
max_pix_num=max(pinakas)
```

```
% Istogramma
```

```
figure(6);
```

```
H=zeros(length(entasi1)+length(entasi2)+length(entasi3)+length(entasi4),1);
```

```
i1=1;
```

```
i2=1;
```

```
i3=1;
```

```
i4=1;
```

```
for i=1:l+m+n+t
```

```
    if i<=l
```

```
        H(i)=entasi1(i1);
```

```
        i1=i1+1;
```

```
    elseif i<=l+m
```

```
        H(i)=entasi2(i2);
```

```
        i2=i2+1;
```

```
    elseif i<=l+m+n
```

```
        H(i)=entasi3(i3);
```

```
        i3=i3+1;
```

```
    else
```

```
        H(i)=entasi4(i4);
```

```
        i4=i4+1;
```

```
    end
```

```
end
```

```
max_H=max(H);
```

```
%range=0:0.001:max(H);
```

```
%hist(H,range);
```

```
hist(H);
```

```
axis on;
```

```
xlim([0 1]);
```

```
%Line annotation
```

```
[linex1 liney1]=dsxy2figxy([max_y/12 max_y/12],[0 2e3]);
```

```
annotation('line',linex1,liney1, 'Color', 'r', 'LineWidth',3);
```

```
[linex2 liney2]=dsxy2figxy([max_y/6 max_y/6],[0 2e3]);
```

```
annotation('line',linex2,liney2, 'Color', 'r', 'LineWidth',3);
```

```
[linex3 liney3]=dsxy2figxy([max_y/3 max_y/3],[0 2e3]);
```

```
annotation('line',linex3,liney3, 'Color', 'r', 'LineWidth',3);
```

### %Exagogi statistikon parametron

```
mesi_y(1,1)=mean(entasi1);  
std_y(1,1)=std(entasi1);  
median_y(1,1)=median(entasi1);
```

```
mesi_y(1,2)=mean(entasi2);  
std_y(1,2)=std(entasi2);  
median_y(1,2)=median(entasi2);
```

```
mesi_y(1,3)=mean(entasi3);  
std_y(1,3)=std(entasi3);  
median_y(1,3)=median(entasi3);
```

```
mesi_y(1,4)=mean(entasi4);  
std_y(1,4)=std(entasi4);  
median_y(1,4)=median(entasi4);
```

mesi\_y

std\_y

median\_y

### %Telikes parametroi

Sum=n+t

Demarcation=n\*median\_y(1,3)+t\*median(1,4)

## Αναφορά στα αρχεία bmp

Οι εικόνες που λαμβάνουμε από το ιατρικό μηχάνημα DYSIS και που θα επεξεργαστούμε είναι αρχεία bitmap (τύπου BMP, .bmp). Στο σημείο αυτό αναφέρουμε μερικά στοιχεία για τα αρχεία αυτού του τύπου.

## Τα BMP αρχεία

Τα αρχεία BMP είναι ο πιο διαδεδομένος τρόπος αποθήκευσης εικόνων στον κόσμο των προσωπικών υπολογιστών (PC). Χρησιμοποιούνται από τα MS-Windows για την αποθήκευση και χρήση εικόνων. Δεν είναι συμπιεσμένα ή έχουν απλή συμπίεση και αυτό τα κάνει εύκολα στον χειρισμό τους και επιταχύνει τις εργασίες ανάγνωσης και εγγραφής στον δίσκο. Μπορούν να αποθηκεύσουν εικόνες με 1 (μονόχρωμες), 4 (16 χρώματα), 8 (256 χρώματα) και 24 bit (16 εκατομμύρια χρώματα) ανά pixel.

## Η δομή των BMP αρχείων

Ένα αρχείο BMP περιέχει μια επικεφαλίδα που περιέχει πληροφορίες για το BMP αρχείο (file header), στην συνέχεια πληροφορίες για την αποθηκευμένη εικόνα (bitmap-info header), μετά μια παλέτα με τα χρώματα που χρησιμοποιούνται στην εικόνα μας (η παλέτα είναι δυνατόν να μην υπάρχει) και τέλος είναι αποθηκευμένη η εικόνα.

Η παλέτα είναι ένας πίνακας με τα χρώματα που χρησιμοποιούνται στην εικόνα μας και υπάρχει συνήθως για τις εικόνες με 1 bit/χρώμα, 4 bit/χρώμα και 8 bit/χρώμα. Για τις εικόνες αυτές θα περιέχει το πολύ 2, 16 και 256 στοιχεία αντίστοιχα. Η εικόνα αποθηκεύεται με τη μορφή δεικτών στα στοιχεία της παλέτας.

Οι εικόνες 24 bit/χρώμα αποθηκεύουν για κάθε χρώμα ξεχωριστά τις τιμές του κόκκινου, του πράσινου και του μπλε για κάθε pixel. Σε αυτές τις εικόνες αν υπάρχει παλέτα είναι για να αντικατασταθεί η παλέτα που χρησιμοποιείται από το σύστημα απεικόνισης μας.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα αριθμητικά πεδία των τμημάτων της επικεφαλίδας και των πληροφοριών του BMP αρχείου είναι αποθηκευμένα ανάποδα, δηλαδή είναι αποθηκευμένο πρώτα το λιγότερο σημαντικό byte των αριθμών και μετά τα πιο σημαντικά. Επειδή τα PC (για τα οποία έχει φτιαχτεί αυτός ο τύπος αποθήκευσης εικόνων) αποθηκεύουν στην μνήμη τους ανάποδα τους αριθμούς, μπορούμε ευκολότερα να διαβάσουμε από τα BMP αρχεία τα αριθμητικά πεδία.

Όμως σε άλλο τύπο υπολογιστών (π.χ. υπολογιστές της sun ) πρέπει να προσεχθεί αυτό το σημείο και να γίνουν οι κατάλληλες μετατροπές.

## Επικεφαλίδα BMP αρχείων

Όπως είπαμε τα αρχεία ξεκινάνε με μια επικεφαλίδα που περιέχει πληροφορίες για το μέγεθος και το είδος του αρχείου.

Πεδίο	Μέγεθος	Περιγραφή
Υπογραφή	2 bytes	Έχει πάντα τους χαρακτήρες "BM"
Μέγεθος αρχείου	4 bytes	Μέγεθος του BMP αρχείου
Δεσμευμένο	2 bytes	Δε χρησιμοποιείται
Δεσμευμένο	2 bytes	Δε χρησιμοποιείται
Θέση τις εικόνας	4 bytes	Απόσταση της εικόνας από την αρχή του αρχείου

Το πρώτο πεδίο έχει μήκος 2 byte και αποτελείται από τους χαρακτήρες "BM". Το πεδίο αυτό είναι η υπογραφή των BMP αρχείων και δηλώνει ότι το αρχείο που ακολουθεί είναι BMP. Το δεύτερο πεδίο είναι μήκους 4 byte και είναι ένας αριθμός που δηλώνει το συνολικό μέγεθος του αρχείου. Τα επόμενα δύο πεδία δε χρησιμοποιούνται και είναι πάντα ίσα με μηδέν. Το τελευταίο πεδίο είναι ένας αριθμός μήκους 4 bytes και περιέχει την απόσταση της αποθηκευμένης εικόνας από την αρχή του αρχείου. Περιέχει δηλαδή τον αριθμό των byte που καταλαμβάνουν η επικεφαλίδα του BMP οι πληροφορίες για την αποθηκευμένη εικόνα και η παλέτα. Πρέπει να σημειωθεί ότι η επικεφαλίδα του BMP και οι πληροφορίες για την bitmap εικόνα έχουν σταθερό μήκος 14 bytes και 40 bytes αντίστοιχα.

### Οι πληροφορίες για την εικόνα

Σε αυτό το τμήμα του BMP αρχείου που βρίσκεται αμέσως μετά την επικεφαλίδα περιέχονται πληροφορίες για το μέγεθος της εικόνας, για τα χρώματα που χρησιμοποιούνται, για το είδος της συμπίεσης και για την ανάλυση της εικόνας.

Πεδίο	Μέγεθος	Περιγραφή
Μέγεθος Πληροφοριών	4 bytes	Μέγεθος των πληροφοριών σε bytes (πάντα 40)
Μήκος	4 bytes	Μήκος της εικόνας
Ύψος	4 bytes	Ύψος της εικόνας
Χρωματικά Επίπεδα	2 bytes	πάντα 1
Bit/pixel	2 bytes	Αριθμός bits ανά pixel (1, 4, 8 ή 24)
Συμπίεση	4 bytes	Τρόπος Συμπίεσης (0=ασυμπίεστο)
Μέγεθος εικόνας	4 bytes	Το μέγεθος της εικόνας (μόνο αν έχει γίνει συμπίεση)
Μήκος σε pixels/μέτρο	4 bytes	Οριζόντια ανάλυση
Ύψος σε pixels/μέτρο	4 bytes	Κατακόρυφη ανάλυση
Χρησιμοποιούμενα χρώματα	4 bytes	Ο αριθμός των χρωμάτων στην εικόνα
Σημαντικά χρώματα	4 bytes	Ο αριθμός των σημαντικών χρωμάτων της εικόνας

Όπως βλέπουμε και στον παραπάνω πίνακα έχουμε τα παρακάτω πεδία σε αυτό το τμήμα του BMP αρχείου:

- Το πρώτο πεδίο είναι ένας αριθμός που περιέχει το μέγεθος (σε bytes ) των πληροφοριών δηλαδή του τμήματος του BMP αρχείου που περιγράφουμε. Το μέγεθος αυτό είναι πάντα 40 (σε δεκαεξαδικό 28h).
- Ακολουθούν δύο πεδία που είναι το μήκος και το ύψος της εικόνας μας σε pixels. Το επόμενο πεδίο είναι πάντα 1 (ένα).
- Ένα πεδίο που λέει τον αριθμό των bits που χρησιμοποιούνται για να αναπαραστήσουμε ένα pixel. Οι δυνατές τιμές είναι 1, 4, 8 και 24.
- Ένα πεδίο με την πληροφορία για το είδος της συμπίεσης. Αν είναι 0 τότε δεν έχει γίνει συμπίεση. Αν είναι 1 τότε υπάρχει συμπίεση με κωδικοποίηση run-length με 8 bit ανά pixel και αν είναι 2 τότε υπάρχει κωδικοποίηση run-length με 4 bit ανά pixel.
- Ένα πεδίο που περιέχει το μέγεθος της μη συμπιεσμένης εικόνας. Αυτό μπορεί να είναι μηδέν σε περίπτωση που δεν έχουμε συμπίεση. Υπάρχει για να γίνεται έλεγχος για την ακρίβεια της διαδικασίας της αποσυμπίεσης.
- Δύο πεδία που περιέχουν πληροφορίες για την οριζόντια και κατακόρυφη ανάλυση.
- Ένα πεδίο που περιέχει τον αριθμό των χρωμάτων που χρησιμοποιούνται από την εικόνα. Είναι στην ουσία ο αριθμός των χρωμάτων που υπάρχουν στην παλέτα. Αν είναι 0 τότε ο αριθμός των χρωμάτων που υπάρχουν στην παλέτα είναι για τις 1 bit εικόνες ίσος με 2, για 4 bit εικόνες ίσος με 16 και για τις 8 bit εικόνες ίσος με 256, ενώ για τις 24 bit εικόνες δε θα υπάρχει καθόλου παλέτα.
- Ένα τελευταίο πεδίο που περιέχει τον αριθμό των χρωμάτων που είναι απαραίτητα για την παρουσίαση της εικόνας. Αν είναι 0 τότε όλα τα χρώματα είναι απαραίτητα.

### Η παλέτα των BMP αρχείων

Η παλέτα αποτελείται από στοιχεία των 4 bytes. Το πρώτο byte είναι η ένταση του μπλε, το δεύτερο, η ένταση του πράσινου, το τρίτο η ένταση του κόκκινου και το τελευταίο είναι πάντα 0. Ο αριθμός των τετράδων της παλέτας καθορίζεται όπως περιγράψαμε στην προηγούμενη παράγραφο.

### Η εικόνα

Μετά την παλέτα είναι αποθηκευμένη η ίδια η εικόνα . Ο τρόπος αποθήκευσης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον αριθμό των bits ανά χρώμα που χρησιμοποιούνται. Η αποθήκευση πάντως ακολουθεί τους εξής βασικούς κανόνες:

- Η αποθήκευση γίνεται πάντα από την κάτω γραμμή της εικόνας προς τα πάνω.
- Κάθε γραμμή της εικόνας είναι πάντα πολλαπλάσιο των τεσσάρων bytes. Αν δεν τηρείται αυτός ο κανόνας τότε προστίθενται μηδενικά byte στο τέλος της γραμμής για να ικανοποιηθεί και αυτός ο κανόνας.

Στις εικόνες με ένα bit ανά χρώμα σένα byte αποθηκεύονται 8 pixel. Η κάθε γραμμή ξεκινά με το πιο σημαντικό bit του πρώτου byte της γραμμής. Αν είναι 0 τότε χρησιμοποιείται η πρώτη τετράδα της παλέτας αν είναι 1 η δεύτερη.

Στις εικόνες με 4 bit ανά χρώμα σε κάθε byte αποθηκεύονται 2 pixel. Η κάθε γραμμή εδώ ξεκινά με τα 4 πιο σημαντικά bit του πρώτου byte της γραμμής. Ο αριθμός που αντιπροσωπεύουν αυτά τα 4 bit είναι δείκτης σε μια τετράδα της παλέτας.

Στις εικόνες με 8 bit ανά χρώμα κάθε byte αντιπροσωπεύει και ένα δείκτη σε μια τετράδα της παλέτας. Τέλος οι εικόνες με 24 bit ανά χρώμα χρησιμοποιούν όχι δείκτη στην παλέτα αλλά μια τριάδα από byte για κάθε pixel που περιέχει τις εντάσεις του κόκκινου του πράσινου και του μπλε (με τη σειρά που αναφέρθηκαν εδώ).

### Συμπύεση στα BMP αρχεία

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί αλγόριθμοι συμπίεσης στα BMP αρχεία. Ο run-length με 8 bit ανά χρώμα και ο run-length με 4 bit ανά χρώμα που αντιστοιχούν σε εικόνες με 8 bit ανά χρώμα και 4 bit ανά χρώμα. Και οι δύο αλγόριθμοι έχουν δύο καταστάσεις συμπίεσης που είναι δυνατό να συνυπάρχουν μέσα στην ίδια εικόνα. Η μια είναι η κωδικοποιημένη και η άλλη η απόλυτη. Παρακάτω θα δούμε πως διαμορφώνονται αυτές οι καταστάσεις για κάθε έναν από τους δύο αλγόριθμους.

Στον αλγόριθμο για 8 bit ανά χρώμα η κωδικοποιημένη κατάσταση αποτελείται από δύο byte. Το πρώτο byte δηλώνει τον αριθμό των διαδοχικών pixel τα οποία θα χρωματιστούν με το χρώμα του οποίου ο δείκτης βρίσκεται στο δεύτερο byte. Αν το πρώτο byte είναι ίσο με το μηδέν τότε το byte που ακολουθεί αν έχει τιμή από 0 ως 2 ορίζει έναν κωδικό διαφυγής. Αν το δεύτερο byte είναι 0 τότε σημαίνει ότι έχουμε φτάσει στο τέλος μιας γραμμής, αν είναι 1 σημαίνει το τέλος του bitmap και αν είναι 2 τότε τα δύο byte που ακολουθούν περιέχουν τις τιμές (απρόσημες τιμές) της οριζόντιας και της κάθετης θέσης του επόμενου pixel σε σχέση με τη θέση στην οποία είμαστε τώρα.

Στην απόλυτη κατάσταση το πρώτο byte είναι 0 και το δεύτερο byte περιέχει μια τιμή από 3h ως FFh και δηλώνει τον αριθμό των byte που ακολουθούν τα οποία περιέχουν ένα δείκτη σε χρώμα για ένα pixel. (Αν το δεύτερο byte είναι μικρότερο του 3 τότε είμαστε στην κωδικοποιημένη κατάσταση).

Ο αλγόριθμος για 4 bit ανά χρώμα είναι παρόμοιος με τον προηγούμενο. Η κωδικοποιημένη κατάσταση αποτελείται και εδώ από δύο byte. Στο πρώτο byte αποθηκεύεται ο αριθμός των pixel που θα χρωματιστούν με τα χρώματα που αποθηκεύονται στο δεύτερο byte. Το δεύτερο byte δυο δείκτες σε χρώματα της παλέτας ένα στα 4 πρώτα bit και έναν στα υπόλοιπα 4 bit. Το πρώτο από τα pixel ζωγραφίζεται με το πρώτο χρώμα, το δεύτερο με το δεύτερο χρώμα, το τρίτο με το πρώτο χρώμα και αυτό συνεχίζεται μέχρι να συμπληρωθεί ο αριθμός των pixel που αναφέρεται στο πρώτο byte. Οι κωδικοί διαφυγής είναι ίδιοι με τον προηγούμενο αλγόριθμο. Στην απόλυτη κατάσταση το πρώτο byte είναι ίσο με μηδέν το δεύτερο ίσο με τον αριθμό των pixel που ακολουθούν και τα υπόλοιπα byte που ακολουθούν περιέχουν pixel το καθένα.

## Επεκτάσεις των BMP αρχείων στα Windows 95/NT

Με την εμφάνιση των Windows NT έγιναν και μερικές επεκτάσεις στα BMP αρχεία. Τα καινούρια BMP αρχεία υποστηρίζουν επιπλέον 16 και 32 bit ανά χρώμα. Επίσης το πεδίο συμπίεσης μπορεί να έχει και την τιμή 3 που λέει ότι για εικόνες με 16 και 32 bit ανά χρώμα η παλέτα θα αποτελείται από τριάδες των τεσσάρων byte (όχι τετράδες από bytes) 4 byte για κάθε μια από της εντάσεις των χρωμάτων κόκκινο πράσινο και μπλε (που τοποθετούνται στο αρχείο με τη σειρά που αναφέρθηκαν). Επίσης αν το πεδίο του ύψους της εικόνας είναι θετικός αριθμός τότε η εικόνα έχει αποθηκευτεί ανάποδα δηλαδή από την τελευταία γραμμή στην πρώτη ενώ αν είναι αρνητικός έχει αποθηκευτεί από την πρώτη στην τελευταία γραμμή.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Οι δομές που χρησιμοποιούνται στα MS-Windows για τα bitmaps αναφέρονται παρακάτω. Ο τύπος WORD είναι ένας απρόσημος ακέραιος των δύο byte και ο τύπος DWORD είναι ένας απρόσημος ακέραιος των τεσσάρων byte

### Η δομή για την επικεφαλίδα του BMP αρχείου:

```
typedef struct tagBITMAPFILEHEADER { /* bmfh */
    WORD    bfType;
    DWORD   bfSize;
    WORD    bfReserved1;
    WORD    bfReserved2;
    DWORD   bfOffBits;
} BITMAPFILEHEADER;
```

### Η δομή για τις πληροφορίες της αποθηκευμένης εικόνας:

```
typedef struct tagBITMAPINFOHEADER { /* bmih */
    DWORD   biSize;
    LONG    biWidth;
    LONG    biHeight;
    WORD    biPlanes;
    WORD    biBitCount;
    DWORD   biCompression;
    DWORD   biSizeImage;
    LONG    biXPelsPerMeter;
    LONG    biYPelsPerMeter;
    DWORD   biClrUsed;
    DWORD   biClrImportant;
} BITMAPINFOHEADER;
```

Η δομή για μια τετράδα της παλέτας:

```
typedef struct tagRGBQUAD { /* rgbq */  
    BYTE  rgbBlue;  
    BYTE  rgbGreen;  
    BYTE  rgbRed;  
    BYTE  rgbReserved;  
} RGBQUAD;
```

## Ψηφιακή Επεξεργασία Εικόνας χρησιμοποιώντας MATLAB [20]

### Ανάγνωση εικόνων

Οι εικόνες διαβάζονται μέσα στο περιβάλλον του MATLAB χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση `imread`, της οποίας η σύνταξη είναι:

```
imread('filename')
```

Στην παραπάνω έκφραση, στη θέση του `filename` υπάρχει μια ολόκληρη συμβολοσειρά που περιέχει το όνομα του αρχείου της εικόνας (π.χ `subtracted.bmp`).

Η συνάρτηση `size` δίνει τις διαστάσεις γραμμής και στήλης μιας εικόνας, ενώ η συνάρτηση `length(X)` επιστρέφει το μέγεθος της μεγαλύτερης διάστασης ενός διανύσματος `X`. Έτσι:

```
size(X)
answer=560 740
length(X)
answer=740
```

### Εμφάνιση εικόνας

Οι εικόνες εμφανίζονται στο περιβάλλον του MATLAB χρησιμοποιώντας την εντολή `imshow(f)`, όπου `f` είναι η εικόνα που θέλουμε να εμφανίσουμε. Αν μια άλλη εικόνα `g`, εμφανίζεται στο `desktop` του MATLAB μέσω της εντολής `imshow` τότε το MATLAB αντικαθιστά την προηγούμενη εικόνα με την καινούρια. Για να μπορέσουμε να διατηρήσουμε την πρώτη εικόνα αλλά και τη δεύτερη, χρησιμοποιούμε τη συνάρτηση `figure`, πριν την εντολή `imshow`. Έτσι χρησιμοποιώντας την ακόλουθη σειρά εντολών:

```
imshow(f)
figure
imshow(g)
```

μπορούμε να εμφανίσουμε και τις δύο εικόνες.

### Τύποι εικόνων

Το toolbox του MATLAB υποστηρίζει τέσσερις τύπους εικόνων:

- τις εικόνες έντασης (`intensity images`)
- τις δυαδικές εικόνες (`binary images`)
- τις εικόνες ευρετηρίου (`indexed images`)
- και τις RGB εικόνες

Οι περισσότερες διαδικασίες επεξεργασίας μονόχρωμων εικόνων πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας δυαδικές εικόνες ή εικόνες έντασης.

## Κλάσεις δεδομένων

Το MATLAB διαθέτει διάφορες κλάσεις δεδομένων. Στη δική μας εργασία συναντήσαμε και εργαστήκαμε κυρίως με δεδομένα τύπου `double` και `uint8`.

<code>double</code>	διπλάσια ακρίβεια, δεκαδικοί αριθμοί στο εύρος $-10^{308}$ έως $10^{308}$ (8 bytes για κάθε στοιχείο)
<code>uint8</code>	α-πρόσημοι 8-bit ακέραιοι στο εύρος [0, 255] (1 byte για κάθε στοιχείο)

## Εικόνες έντασης

Μια εικόνα έντασης είναι ένας πίνακας δεδομένων του οποίου οι τιμές έχουν ιεραρχηθεί ώστε να αντιπροσωπεύουν εντάσεις. Όταν τα στοιχεία μια εικόνας έντασης είναι κλάσης `uint8`, ή `uint16`, έχουν ακέραιες τιμές μέσα στο διάστημα [0, 255] και [0, 65535], αντίστοιχα. Αν η εικόνα είναι κλάσης `double`, οι τιμές είναι τύπου `float`. Τιμές ιεραρχημένες κλάσης `double` σε εικόνες έντασης βρίσκονται μέσα στο διάστημα [0,1] κατά συνθήκη.

## Μετατροπές ανάμεσα στην κλάση και τον τύπο της εικόνας

Η μετατροπή ενός αυθαίρετου διανύσματος κλάσης `double` σε ένα διάνυσμα κλάσης `double` ιεραρχημένο στο εύρος [0,1] μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση `mat2gray` της οποίας η σύνταξη είναι:

$$g = \text{mat2gray}(A, [A_{\min}, A_{\max}])$$

όπου η εικόνα `g` έχει τιμές στο εύρος 0 (μαύρο) έως 1 (άσπρο). Οι παράμετροι `Amin` και `Amax` είναι τέτοιες ώστε τιμές μικρότερες από `Amin` στην `A` γίνονται 0 στην εικόνα `g`, και τιμές μεγαλύτερες από `Amax` στην `A` αντιστοιχούν σε 1 στην εικόνα `g`. Γράφοντας:

$$g = \text{mat2gray}(A)$$

τίθενται οι τιμές `Amin` και `Amax` στις πραγματικά `minimum` και `maximum` τιμές της `A`. Η είσοδος θεωρείται ότι είναι κλάσης `double` και η έξοδος είναι επίσης κλάσης `double`.

## Αριθμητικοί συντελεστές

Το toolbox του MATLAB υποστηρίζει κάποιες αριθμητικές συναρτήσεις εικόνας (όπως η `imadd` για πρόσθεση εικόνων, η `imsubtract` για αφαίρεση εικόνων κ.α). Ωστόσο αυτές οι συναρτήσεις μπορούν να υλοποιηθούν χρησιμοποιώντας απευθείας αριθμητικούς συντελεστές του MATLAB. Συνήθως χρησιμοποιούμενες συναρτήσεις είναι οι `min` και `max`. Η σύνταξή τους είναι:

$$\begin{aligned} C &= \text{max}(A) \\ C &= \text{max}(A, B) \\ C &= \text{max}(A, [], \text{dim}) \\ [C, I] &= \text{max}(\dots) \end{aligned}$$

Στην πρώτη εντολή, αν A είναι ένα διάνυσμα, η εντολή `max(A)` επιστρέφει το μεγαλύτερο στοιχείο του, αν A είναι ένας πίνακας, η εντολή `max(A)` μεταχειρίζεται τις στήλες του A ως διανύσματα και επιστρέφει ένα διάνυσμα γραμμής που περιέχει το μεγαλύτερο στοιχείο από κάθε στήλη. Στη δεύτερη εντολή, `max(A, B)` επιστρέφει ένα διάνυσμα ίδιου μεγέθους με το A και B με τα μεγαλύτερα στοιχεία λαμβανόμενα από το A και το B. Στην τρίτη εντολή, `max(A, [], dim)` επιστρέφει τα μεγαλύτερα στοιχεία κατά τη διάσταση του A ορισμένη από την παράμετρο `dim`. Για παράδειγμα, η εντολή `max(A, [], 1)` επιστρέφει τις μέγιστες τιμές κατά την πρώτη διάσταση (τις γραμμές) του A. Τελικά, η εντολή `[C, I]=max(...)` επίσης βρίσκει τους δείκτες των μέγιστων τιμών του A, και τους επιστρέφει στο διάνυσμα εξόδου I. Αν υπάρχουν αρκετά όμοιες μέγιστες τιμές, ο δείκτης του πρώτου που θα βρεθεί επιστρέφεται. Οι τελείες εισάγουν τη σύνταξη που χρησιμοποιείται στα δεξιά οποιαδήποτε από τις παραπάνω τρεις εντολές. Αντίστοιχα η συνάρτηση `min` χρησιμοποιείται με τις ίδιες μορφές με τη συνάρτηση `max`, απλά επιστρέφει τη μικρότερη αντίστοιχα τιμή.

Μια άλλη συνήθως χρησιμοποιούμενη συνάρτηση είναι και η `sqrt`. Η εντολή `sqrt(X)` επιστρέφει την τετραγωνική ρίζα κάθε στοιχείου του διανύσματος X. Για τα στοιχεία του X που είναι αρνητικά ή μιγαδικοί αριθμοί η εντολή `sqrt(X)` παράγει και μιγαδικά αποτελέσματα.

## Έλεγχος ροής

Η ικανότητα ελέγχου της ροής των διαδικασιών βασισμένος σε ένα σύνολο προκαθορισμένων συνθηκών είναι στην καρδιά όλων των γλωσσών προγραμματισμού. Η MATLAB υποστηρίζει οχτώ ελέγχους ροής: `if`, `for`, `while`, `break`, `continue`, `switch`, `return`, `try...catch`. Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν κυρίως οι εντολές `if` και `for`.

### if, else, και elseif

Υπό όρους συνθήκη που έχει την παρακάτω σύνταξη:

```
if expression
    statements
end
```

Η έκφραση `expression` αξιολογείται και αν η αξιολόγηση επιστρέψει `true`, η MATLAB εκτελεί μια ή περισσότερες εντολές, που εμφανίζονται εδώ ως `statements`, ανάμεσα στις γραμμές του `if` και του `end`. Αν η έκφραση `expression` είναι `false`, η MATLAB, παραβλέπει τα `statements` ανάμεσα στις γραμμές του `if` και του `end` και επαναφέρει την εκτέλεση στη γραμμή που ακολουθεί τη γραμμή του `end`. Όταν φωλιάζουν πολλές εντολές `if` τότε ισχύει η παρακάτω σύνταξη:

```
if expression1
    statements1
elseif expression2
    statements2
else
    statements3
end
```

Αν η έκφραση `expression1` είναι αληθής, εκτελείται το `statements1` και ο έλεγχος μεταφέρεται στη γραμμή `end`. Αν η έκφραση `expression1` είναι `false`, τότε αξιολογείται η έκφραση `expression2`. Αν η έκφραση αυτή αξιολογηθεί ως `true`, τότε εκτελείται το `statements2` και ο έλεγχος μεταφέρεται στη γραμμή `end`. Αλλιώς (`else`) εκτελείται το `statements3`. Η εντολή `else` δεν έχει συνθήκη. Οι εντολές `else` και `elseif` μπορούν να εμφανιστούν μόνες τους μετά από μια εντολή `if`, δε χρειάζεται να εμφανιστούν σε ζεύγη, όπως φαίνεται και παραπάνω. Είναι θεμιτό να υπάρχουν πολλαπλές εντολές `elseif`.

## for

Μια επανάληψη `for` εκτελεί ένα σύνολο από εντολές, σε συγκεκριμένο αριθμό από επαναλήψεις. Η σύνταξη της εντολής αυτής είναι:

```
for index=start : increment: end
    statements
end
```

Είναι δυνατόν να υπάρξουν εμφωλευμένες επαναλήψεις `for`:

```
for index1=start1 : increment1 : end
    statements1
    for index2=start2 : increment2 : end
        statements2
    end
    additional loop1 statements
end
```

Αν το βήμα αύξησης της επανάληψης παραλείπεται, τότε λαμβάνεται ως 1. Τα βήματα επαύξησης της επανάληψης μπορεί να είναι και αρνητικά.

## Προ-κατανομή διανυσμάτων

Ένας άλλος, απλός τρόπος για βελτίωση του χρόνου εκτέλεσης του κώδικα είναι η προ-κατανομή του μεγέθους των διανυσμάτων που χρησιμοποιούνται στο πρόγραμμα. Όταν δουλεύουμε με διανύσματα αριθμητικών ή λογικών ορισμάτων, η προ-κατανομή απλά αποτελείται από τη δημιουργία διανυσμάτων με μηδενικές τιμές που θα έχουν τις απαιτούμενες διαστάσεις. Για παράδειγμα, στη δική μας εργασία, θέλουμε ένα διάνυσμα μια γραμμής και στηλών τόσων όσων και η αρχική εικόνα, για τη διαδικασία του φιλτραρίσματος. Έτσι χρησιμοποιήσαμε την εντολή `zeros(1, length(X))`.

Η προ-κατανομή επίσης βοηθάει στη μείωση του κατακερματισμού της μνήμης όταν δουλεύουμε με μεγάλα διανύσματα. Η μνήμη μπορεί να κατακερματιστεί εξαιτίας δυναμικών κατανομών και ανακατανομών της μνήμης. Το αποτέλεσμα είναι ότι μπορεί να είναι διαθέσιμο σημαντικό τμήμα της φυσικής μνήμης κατά τη διάρκεια του υπολογισμού, αλλά όχι αρκετή συνεχής μνήμη για να αποθηκεύσει μια μεγάλη μεταβλητή. Οι προ-κατανομές βοηθούν στην αποφυγή του παραπάνω προβλήματος επιτρέποντας στη MATLAB να διατηρεί σημαντική μνήμη για μεγάλες δομές δεδομένων στην αρχή ενός υπολογισμού.

## Σχεδιασμός επιφανειών

Ο ευκολότερος τρόπος για να σχεδιαστεί μια δισδιάστατη συνάρτηση,  $H$ , είναι να χρησιμοποιηθεί η συνάρτηση `mesh`, που έχει βασική σύνταξη:

```
mesh(H)
```

Αυτή η συνάρτηση δημιουργεί ένα σχέδιο για  $x=1:M$  και  $y=1:N$  όπου  $[M N]=\text{size}(H)$ . Η MATLAB σχεδιάζει τις `mesh` εικόνες με χρώμα, απο προεπιλογή. Η εντολή:

```
colormap([0 0 0])
```

θέτει το σχέδιο ίσο με μαύρο. Η MATLAB μπορεί επίσης να θέτει και άξονες σε μια εικόνα-σχέδιο με τις εντολές:

```
axis on (για να θέσει άξονες)  
axis off (για να αφαιρεθούν οι άξονες)
```

Κάποιες φορές είναι επιθυμητό να σχεδιαστεί μια συνάρτηση ως επιφάνεια αντί για σχέδιο. Η συνάρτηση `surf` το υλοποιεί αυτό. Η βασική σύνταξη είναι:

```
surf(H)
```

Αυτή η συνάρτηση παράγει ένα σχέδιο παρόμοιο με αυτό που παράγει η συνάρτηση `mesh`, με τη διαφορά ότι τα τετράπλευρα (quadrilaterals) στο πλέγμα είναι γεμισμένα με χρώματα. Για να μετατραπούν τα χρώματα στην κλίμακα του γκρι, χρησιμοποιείται η εντολή:

```
colormap (gray)
```

Όταν το αντικείμενο είναι να σχεδιαστεί μια αναλυτική συνάρτηση δύο μεταβλητών, χρησιμοποιείται η εντολή `meshgrid` για να παράγει τις συντεταγμένες τιμές και από αυτές να δημιουργηθεί ένα διακριτός (δειγματοληπτημένος-sampled) πίνακας για να χρησιμοποιηθεί στο πλέγμα (`mesh`) ή την επιφάνεια (`surf`).

## Επεξεργασία ιστογράμματος και συναρτήσεις σχεδιασμού ιστογραμμάτων

Η συνάρτηση που εμφανίσει το ιστόγραμμα μιας εικόνας είναι η `imhist`, η οποία έχει την ακόλουθη σύνταξη:

$$h = \text{imhist}(f, b)$$

όπου  $f$  είναι η εικόνα εισόδου,  $h$  είναι το ιστόγραμμά της και  $b$  είναι ο αριθμός των bins που χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό του ιστογράμματος (αν το  $b$  δεν περιλαμβάνεται στο όρισμα εισόδου, τότε τίθεται ίσο με 256, από προεπιλογή). Ένα bin είναι απλά μια υποδιαίρεση της κλίμακας έντασης. Για παράδειγμα, αν επεξεργαζόμαστε `uint8` εικόνες και έχουμε  $b=2$ , τότε η κλίμακα έντασης υποδιαιρείται σε δύο εύρη τιμών: 0 ως 127 και 128 ως 255. Το επαγόμενο ιστόγραμμα θα έχει δύο τιμές:  $h(1)$  ίσο με τον αριθμό των pixels στην εικόνα με τιμές στο διάστημα  $[0, 127]$  και  $h(2)$  ίσο με τον αριθμό των pixels με τιμές στο διάστημα  $[128, 255]$ .

Θεωρούμε το κανονικοποιημένο ιστόγραμμα απλά χρησιμοποιώντας την έκφραση:

$$p = \text{imhist}(f, b) / \text{numel}(f)$$

η συνάρτηση `numel(f)` δίνει τον αριθμό των στοιχείων στο διάστημα  $f$  (τον αριθμό των pixels στην εικόνα). Ο πιο απλός τρόπος για να σχεδιάσουμε το ιστόγραμμα μιας εικόνας είναι να χρησιμοποιήσουμε τη συνάρτηση `imhist` χωρίς ορισμένη έξοδο:

$$\text{imhist}(f)$$

Όσο αφορά τους άξονες του ιστογράμματος υπάρχει η δυνατότητα να επεκταθεί το κατώτερο εύρος του κάθετου άξονα για οπτική ανάλυση, και να τεθεί ο οριζόντιος άξονας στο ίδιο εύρος. Η συνάρτηση `axis` έχει την εξής σύνταξη:

$$\text{axis}([\text{horzmin} \text{ horzmax} \text{ vertmin} \text{ vertmax}])$$

όπου τίθενται οι ελάχιστες και μέγιστες τιμές του οριζόντιου και του κάθετου άξονα. Οι ετικέτες (labels) των αξόνων προστίθενται στον κάθετο και τον οριζόντιο άξονα ενός γραφήματος χρησιμοποιώντας τις συναρτήσεις:

$$\begin{aligned} \text{xlabel}(\text{'text string'}, \text{'fontsize'}, \text{size}) \\ \text{ylabel}(\text{'text string'}, \text{'fontsize'}, \text{size}) \end{aligned}$$

όπου `size` είναι είναι το μέγεθος της γραμματοσειράς στα σημεία. Μπορεί να προστεθεί κείμενο στο σώμα της εικόνας χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση `text`, όπως φαίνεται παρακάτω:

$$\text{text}(\text{xloc}, \text{yloc}, \text{'text string'}, \text{'fontsize'}, \text{size})$$

όπου οι παράμετροι `xloc` και `yloc` ορίζουν την τοποθεσία από την οποία ξεκινά το κείμενο. Είναι σημαντικό να τονίσουμε ότι οι συναρτήσεις που θέτουν τιμές και ετικέτες (labels) στους άξονες χρησιμοποιούνται αφού έχει σχεδιαστεί η συνάρτηση. Ένας τίτλος είναι δυνατόν να προστεθεί χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση `title`, της οποίας η βασική σύνταξη είναι:

$$\text{title}(\text{'titlestring'})$$

όπου `titlestring` είναι η συμβολοσειρά των χαρακτήρων που εμφανίζονται στον τίτλο, που είναι κεντραρισμένος πάνω από το γράφημα.

Ένα ιστόγραμμα δείχνει την κατανομή των τιμών των στοιχείων ενός πίνακα. Η βασική σύνταξη της δημιουργίας ιστογράμματος με τη χρήση MATLAB είναι:

$$n = \text{hist}(Y)$$

Η εντολή αυτή αποθηκεύει τα στοιχεία του διανύσματος  $Y$  σε 10 ισοδύναμες ως προς το διάστημα περιοχές και επιστρέφει τον αριθμό των στοιχείων κάθε περιοχής σε ένα διάνυσμα γραμμής. Αν ο  $Y$  είναι ένας πίνακας  $m \times p$ , η εντολή `hist` μεταχειρίζεται τις στήλες του  $Y$  ως διανύσματα και επιστρέφει ένα  $10 \times p \times n$  πίνακα, κάθε στήλη του πίνακα  $n$  περιέχει τα αποτελέσματα για την αντίστοιχη στήλη του  $Y$ . Τα στοιχεία του πίνακα  $Y$  δεν μπορούν να είναι μιγαδικοί αριθμοί.

Επίσης υπάρχει η εντολή `n=hist(Y, x)`, όπου  $x$  είναι ένα διάνυσμα, που επιστρέφει την κατανομή του  $Y$  μεταξύ των `length(x)` bins με κέντρα που ορίζονται από το  $x$ . Για παράδειγμα, αν το  $x$  είναι διάνυσμα 5 στοιχείων, η εντολή `hist` κατανέμει τα στοιχεία του  $Y$  σε 5 bins κεντραρισμένα στον άξονα  $x$  στα στοιχεία του  $x$ , κανένα από τα οποία δεν μπορεί να είναι μιγαδικός αριθμός.

Η εντολή `n=hist(Y, nbins)` όπου `nbins` είναι βαθμωτή παράμετρος, χρησιμοποιεί `nbins` αριθμό από `nbins`.

Η εντολή `[n, xout]=hist(...)` επιστρέφει διανύσματα  $n$  και `xout` που περιέχουν τη συχνότητα των μετρημάτων και τις θέσεις των `nbins`.

Η εντολή `hist(...)` χωρίς όρισμα εξόδου παράγει ένα ιστόγραμμα της εξόδου όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η εντολή `hist` κατανέμει τα bins κατά μήκος του άξονα  $x$  ανάμεσα στην ελάχιστη και τη μέγιστη τιμή του  $Y$ .

Η εντολή `hist(axes_handle,...)` σχεδιάζει εντός των αξόνων με χειρισμό ως προς `axes_handle` αντί για του τρέχοντες άξονες (`gca`).

Όλα τα στοιχεία στο διάνυσμα  $Y$  ή σε μια άλλη στήλη του πίνακα  $Y$  ομαδοποιούνται σύμφωνα με το αριθμητικό τους εύρος. Κάθε ομάδα δείχνεται ως ένα bin. Ο  $x$  άξονας του ιστογράμματος αντανακλά το εύρος των τιμών στον  $Y$ . Ο  $y$  άξονας του ιστογράμματος δείχνει τον αριθμό των στοιχείων που πέφτουν μέσα στις ομάδες, ωστόσο, ο  $y$  άξονας έχει εύρος από το 0 στο μεγαλύτερο αριθμό στοιχείων που κατατίθενται σε κάθε bin. Το  $x$  εύρος των πιο αριστερών και πιο δεξιών bins εκτείνεται ώστε να συμπεριλάβει όλο το εύρος των δεδομένων στην περίπτωση όπου το κατά-χρήστη ορισμένο εύρος δεν καλύπτει το εύρος των δεδομένων.

Το ιστόγραμμα δημιουργείται με ένα τεμαχιστό, γραφικό τρόπο. Αν θέλουμε να αλλάξουμε το χρώμα του γραφήματος, μπορούμε να θέσουμε το επιθυμητό χρώμα. Από προεπιλογή, το χρώμα του γραφήματος ελέγχεται από το τρέχον `colormap`, το οποίο θέτει ως χρώμα του bin το πρώτο χρώμα του `colormap`.

## Εικόνες RGB

Μια RGB εικόνα είναι ένα  $M \times N \times 3$  διάνυσμα από color pixels, όπου κάθε color pixel είναι μια τριάδα που αντιστοιχεί στις κόκκινες, πράσινες και μπλε συνιστώσες μιας RGB εικόνας σε μια συγκεκριμένη χωρική περιοχή. Μια RGB εικόνα μπορεί να ιδωθεί ως μια στοίβα τριών gray-scale εικόνων που, τροφοδοτούν τις κόκκινες, πράσινες και μπλε εισόδους μιας έγχρωμης οθόνης και παράγουν μια έγχρωμη εικόνα στην οθόνη. Κατά συνθήκη, οι τρεις εικόνες που σχηματίζουν μια RGB εικόνα αναφέρονται ως κόκκινες, πράσινες και μπλε συνιστώσες εικόνες. Η κλάση δεδομένων των συνιστωσών εικόνων ορίζει το εύρος των τιμών τους. Αν μια RGB εικόνα είναι κλάσης double, το εύρος των τιμών είναι [0, 1]. Ομοίως, το εύρος των τιμών είναι [0, 255] ή [0, 65535] για RGB εικόνες κλάσης uint8 ή uint16 αντίστοιχα.

Αν όλες οι συνιστώσες εικόνες είναι πανομοιότυπες, το αποτέλεσμα είναι μια gray-scale εικόνα. Έστω rgbimage μια RGB εικόνα. Οι ακόλουθες εντολές εξάγουν τις τρεις συνιστώσες εικόνες:

```
fR = rgbimage(: , : , 1);  
fG = rgbimage(: , : , 2);  
fB = rgbimage(: , : , 3);
```

## Colormap

Ο παρακάτω πίνακας αποτελεί μια λίστα βασικών RGB τιμών. Οποιοδήποτε από αυτά τα τρία format μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ορίσει χρώματα.

<u>Ολόκληρο όνομα</u>	<u>Συντόμευση</u>	<u>RGB τιμές</u>
Μαύρο	k	[ 0 0 0]
Μπλε	b	[0 0 1]
Πράσινο	g	[0 1 0]
Κυανό	c	[0 1 1]
Κόκκινο	r	[1 0 0]
Magenta	m	[1 0 1]
Κίτρινο	y	[1 1 0]
Άσπρο	w	[1 1 1]

Άλλα χρώματα επιπροσθέτως με αυτά του παραπάνω πίνακα περιλαμβάνουν κλασματικές τιμές. Για παράδειγμα, [.5 .5 .5] είναι γκρι, [.5 0 0] είναι σκούρο κόκκινο και [.49 1 .83] είναι κυανοπράσινο. Η MATLAB παρέχει ορισμένους προκαθορισμένους χρωματικούς χάρτες, χρησιμοποιώντας την εντολή:

```
colormap (map_name)
```

όπου θέτει το colormap του πίνακα ίσο με το map\_name, ως παράδειγμα: colormap(copper) όπου copper (χάλκινο χρώμα) είναι ένα από τα προκαθορισμένα MATLAB

colormaps. Τα χρώματα σε αυτό το χρωματικό χάρτη ποικίλουν ομαλά από το μαύρο στο λαμπερό χάλκινο. Ο παρακάτω πίνακας αποτελεί μια λίστα των διαθέσιμων MATLAB colormaps. Το εύρος (αριθμός χρωμάτων) αυτών των colormaps μπορεί να οριστεί, αν συμπεριληφθεί μέσα σε παρενθέσεις. Για παράδειγμα, το gray(16) δημιουργεί ένα colormap με 16 αποχρώσεις του γκρι.

<u>Όνομα</u>	<u>Περιγραφή</u>
autumn	Κυμαίνεται ομαλά από το κόκκινο, μέσω του πορτοκαλί, στο κίτρινο
bone	Ένα gray-scale colormap με υψηλότερη τιμή για τη μπλε συνιστώσα. Αυτό το colormap είναι χρήσιμο για την πρόσθεση ενός ηλεκτρονικού ύφους στις gray-scale εικόνες
colorcube	Περιλαμβάνει όσο περισσότερα συνήθως χρησιμοποιούμενα χρώματα του χρωματικού χώρου RGB, όσο είναι δυνατόν. Ενώ παράλληλα προσπαθεί να δώσει περισσότερες αποχρώσεις του γκρι, του καθαρού κόκκινου, του καθαρού πράσινου και του καθαρού μπλε
cool	Αποτελείται από χρώματα που είναι αποχρώσεις του κυανού και του magenta. Κυμαίνεται ομαλά ανάμεσα στο κυανό και το magenta
copper	Κυμαίνεται ομαλά από το μαύρο στο λαμπερό χάλκινο
flag	Αποτελείται από τα χρώματα κόκκινο, άσπρο, μαύρο και μπλε. Αυτό το colormap αλλάζει ολοκληρωτικά χρώμα με κάθε προσαύξηση του δείκτη
gray	Επιστρέφει ένα γραμμικό gray-scale colormap
hot	Κυμαίνεται ομαλά από το μαύρο, μέσω αποχρώσεων του κόκκινου, πορτοκαλί και κίτρινου, στο άσπρο
hsv	Ποικίλει η συνιστώσα της απόχρωσης του HSV χρωματικού μοντέλου. Τα χρώματα ξεκινούν με κόκκινο, περνούν μέσα από το κίτρινο, το πράσινο, το κυανό, το magenta και επιστρέφουν στο κόκκινο. Το colormap αυτό είναι ειδικά κατάλληλο για την παρουσίαση περιοδικών συναρτήσεων
jet	Κυμαίνεται ανάμεσα σε μπλε και κόκκινο, και περνά μέσα από τα χρώματα κυανό, κίτρινο και πορτοκαλί
lines	Παράγει ένα colormap από χρώματα ορισμένα από την ιδιότητα colororder και μια απόχρωση του γκρι
pink	Περιέχει παστελ αποχρώσεις του ροζ. Το ροζ colormap παρέχει ένα τόνο σέπια χρωματισμού για gray-scale φωτογραφίες
prism	Επαναλαμβάνει τα έξι χρώματα κόκκινο, πορτοκαλί, κίτρινο, πράσινο, μπλέ και μωβ
spring	Αποτελείται από χρώματα που είναι αποχρώσεις του κίτρινου και του magenta
summer	Αποτελείται από χρώματα που είναι αποχρώσεις του πράσινου και του κίτρινου
white	Είναι ένα μονόχρωμο colormap μόνο για το άσπρο χρώμα
winter	Αποτελείται από χρώματα που είναι αποχρώσεις του μπλε και του πράσινου

## Αναπαραγωγή πίνακα

Η MATLAB δίνει τη δυνατότητα αναπαραγωγής πινάκων, μέσω της συνάρτησης  `repmat (A, M, N)`. Η συνάρτηση αυτή χρησιμοποιείται για να δημιουργεί ένα μεγάλο πίνακα B που αποτελείται από M X N αντίγραφα του A.

## Επισημάνση συνδεόμενων συνιστωσών

Η συνάρτηση  `mean (A)` για ένα διάνυσμα A, υπολογίζει το μέσο όρο των τιμών των στοιχείων του διανύσματος. Αν το A είναι ένας πίνακας, τότε η εντολή  `mean (A)` χειρίζεται τις στήλες του A ως διανύσματα, επιστρέφοντας ένα διάνυσμα γραμμής για τις  `mean` τιμές. Η σύνταξη της εντολής  `mean (A, dim)` επιστρέφει τις μέσες ( `mean`) τιμές των στοιχείων κατά τη διάσταση του A που ορίζεται από την παράμετρο  `dim`.

Η εντολή  `s=std(X)`, όπου X είναι ένα διάνυσμα, επιστρέφει την τυπική απόκλιση χρησιμοποιώντας τον παρακάτω ορισμό:

$$s = \left( \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{1/2}$$

όπου  $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$  και n είναι ο αριθμός των στοιχείων του δείγματος. Το αποτέλεσμα s είναι η τετραγωνική ρίζα ενός μη προκατειλημμένου εκτιμητή της διακύμανσης του πληθυσμού από τον οποίο σχεδιάζεται το X, όσο το X αποτελείται από ανεξάρτητα, όμοια κατανομημένα δείγματα. Αν X είναι ένας πίνακας, η εντολή  `std(X)` επιστρέφει ένα διάνυσμα γραμμής που περιέχει την τυπική απόκλιση των στοιχείων κάθε στήλης του X. Αν X είναι ένα πολυδιάστατο διάνυσμα η εντολή  `std(X)` είναι η τυπική απόκλιση των στοιχείων κατά μήκος της πρώτης διάστασης του X. Η εντολή  `s=std(X, flag)` για  `flag=0` είναι το ίδιο με την εντολή  `std(X)`. Για  `flag=1`, η εντολή  `std(X,1)` επιστρέφει την τυπική απόκλιση χρησιμοποιώντας τον παρακάτω ορισμό:

$$s = \left( \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{1/2}$$

Η εντολή  `s=std(X, flag, dim)` υπολογίζει την τυπική απόκλιση κατά μήκος της διάστασης X που ορίζεται από την παράμετρο  `dim`.

Η εντολή  `M=median(A)` επιστρέφει τις  `median` τιμές κατά μήκος των διαφορετικών διαστάσεων ενός διανύσματος. Αν το A είναι διάνυσμα, η εντολή  `median(A)` επιστρέφει τη  `median` τιμή του A. Αν το A είναι πίνακας, η εντολή  `median(A)` χειρίζεται τις στήλες του A ως διανύσματα, επιστρέφοντας ένα διάνυσμα γραμμής με τις  `median` τιμές. Αν το A είναι ένα πολυδιάστατο διάνυσμα, η εντολή  `median(A)` χειρίζεται τις τιμές κατά μήκος της πρώτης διάστασης ως διανύσματα, επιστρέφοντας ένα διάνυσμα με τις  `median` τιμές. Η εντολή  `M=median(A, dim)` επιστρέφει τις  `median` τιμές για τα στοιχεία κατά μήκος της διάστασης του A που ορίζεται από την παράμετρο  `dim`.

## Συνάρτηση υπολογισμού του gradient μιας εικόνας

Η συνάρτηση gradient δίνει το αριθμητικό gradient μιας συνάρτησης. Η εντολή  $FX = \text{gradient}(F)$ , όπου  $F$  είναι ένα διάνυσμα, επιστρέφει το ενός διανύσματος αριθμητικό gradient του  $F$ . Το  $FX$  αντιστοιχεί στο  $\theta F / \theta X$ , οι διαφορές στη  $x$  (οριζόντια) κατεύθυνση.

Η εντολή  $[FX, FY] = \text{gradient}(F)$ , όπου  $F$  είναι ένας πίνακας, επιστρέφει τις  $x$  και  $y$  συνιστώσες του δύο διαστάσεων αριθμητικού gradient. Το  $FX$  αντιστοιχεί στο  $\theta F / \theta X$ , τις διαφορές στη  $x$  (οριζόντια) κατεύθυνση. Το  $FY$  αντιστοιχεί στο  $\theta F / \theta Y$ , τις διαφορές στην  $y$  (κάθετη) κατεύθυνση. Η απόσταση ανάμεσα στα σημεία σε κάθε κατεύθυνση θεωρείται ότι είναι μία.

Η εντολή  $[FX, FY, FZ \dots] = \text{gradient}(F)$ , όπου το  $F$  έχει  $N$  διαστάσεις επιστρέφει τις  $N$  συνιστώσες του gradient του  $F$ . Υπάρχουν δύο τρόποι για να ελεγχθεί η απόσταση ανάμεσα στις τιμές του  $F$ :

- μια μοναδική τιμή απόστασης,  $h$ , καθορίζει την απόσταση ανάμεσα στα στοιχεία σε κάθε κατεύθυνση
- $N$  τιμές απόστασης ( $h_1, h_2, \dots$ ) ορίζουν την απόσταση για κάθε διάσταση του  $F$ .

Βαθμωτές παράμετροι απόστασης ορίζουν μια σταθερή απόσταση για κάθε διάσταση. Διανύσματα παραμέτρων ορίζουν τις συντεταγμένες των τιμών κατά μήκος των αντίστοιχων διαστάσεων του  $F$ . Σε αυτή την περίπτωση, το μήκος του διανύσματος πρέπει να ταιριάζει με το μέγεθος της αντίστοιχης διάστασης. Σημειώνουμε ότι, η πρώτη έξοδος  $FX$  είναι πάντα το gradient κατά μήκος της δεύτερης διάστασης του  $F$ , που πηγαίνει σε όλες τις στήλες. Η δεύτερη έξοδος  $FY$  είναι πάντα το gradient κατά μήκος της πρώτης διάστασης του  $F$ , που πηγαίνει σε όλες τις γραμμές. Για την τρίτη έξοδο  $FZ$  και για τις εξόδους που ακολουθούν, η  $N$ -οστή έξοδος είναι το gradient κατά μήκος της  $N$ -οστής διάστασης του  $F$ .

## Ανίχνευση ακμών με χρήση της συνάρτησης edge

Η συνάρτηση edge παρέχει αρκετούς εκτιμητές παραγώγων. Για κάποιους από αυτούς τους εκτιμητές, είναι δυνατόν να οριστεί αν ο ανιχνευτής ακμών είναι ευαίσθητος σε οριζόντιες ακμές, σε κάθετες ακμές ή και στους δύο τύπους ακμών. Η σύνταξη αυτής της συνάρτησης είναι:

$$[g, t] = \text{edge}(f, \text{'method'}, \text{parameters})$$

όπου  $f$  είναι η εικόνα εισόδου,  $\text{method}$  είναι μια από τις προσεγγίσεις που αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα, και  $\text{parameters}$  είναι επιπρόσθετοι παράμετροι. Στην έξοδο,  $g$  είναι ένα λογικό διάνυσμα με άσσους (1) στις θέσεις όπου ανιχνεύονται σημεία ακμής στην εικόνα  $f$  και μηδενικά (0) οπουδήποτε αλλού. Η παράμετρος  $t$  είναι προαιρετική, δίνει το κατώφλι που χρησιμοποιείται από τη συνάρτηση edge για να ορίσει ποιες τιμές gradient είναι αρκετά ισχυρές ώστε να ονομαστούν σημεία ακμής.

<u>Ανιχνευτής ακμής</u>	<u>Βασικές ιδιότητες</u>
Sobel	Βρίσκει ακμές χρησιμοποιώντας την προσέγγιση Sobel
Prewitt	Βρίσκει ακμές χρησιμοποιώντας την προσέγγιση Prewitt
Roberts	Βρίσκει ακμές χρησιμοποιώντας την προσέγγιση Roberts
Laplacian of a Gaussian (LoG)	Βρίσκει τις ακμές ψάχνοντας για zero crossings μετά από φιλτράρισμα $f(x, y)$ με Gaussian φίλτρο
Zero crossings	Βρίσκει τις ακμές ψάχνοντας για zero crossings μετά από φιλτράρισμα $f(x, y)$ με φίλτρο που ορίζεται από το χρήστη
Canny	Βρίσκει ακμές ψάχνοντας για τοπικά μέγιστα (local maxima) του gradient. Το gradient υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την παράγωγο ενός Gaussian φίλτρου. Η μέθοδος χρησιμοποιεί δύο κατώφλια για να ανιχνεύσει ισχυρές και ασθενείς ακμές, και περιλαμβάνει τις ασθενείς ακμές στην έξοδο μόνο αν είναι συνδεδεμένες με τις ισχυρές ακμές. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος είναι περισσότερο πιθανό να ανιχνεύει πραγματικά ασθενείς ακμές

### Sobel edge detector

Η γενική σύνταξη για τον ανιχνευτή ακμών Sobel είναι:  $[g, t]=\text{edge}(f, 'sobel', T, \text{dir})$  όπου  $f$  είναι η εικόνα εισόδου,  $T$  είναι ένα ορισμένο κατώφλι και η παράμετρος  $\text{dir}$  ορίζει την επιθυμητή κατεύθυνση των ανιχνευόμενων ακμών: 'οριζόντια-horizontal', 'κάθετα-vertical', ή 'και οι δύο κατευθύνσεις-both' που είναι και η προεπιλογή.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω  $g$  είναι μια λογική εικόνα που περιέχει άσσους (1) στα σημεία των ακμών και μηδενικά (0) οπουδήποτε αλλού. Η παράμετρος  $t$  στην έξοδο είναι προαιρετική. Είναι η τιμή κατωφλίου που χρησιμοποιείται από τη συνάρτηση  $\text{edge}$ . Αν η παράμετρος  $T$  είναι ορισμένη, τότε  $t=T$ . Αλλιώς, αν το  $T$  δεν είναι ορισμένο (ή είναι άδειο,  $[]$ ), η συνάρτηση  $\text{edge}$  θέτει το  $t$  ίσο με ένα κατώφλι που καθορίζει αυτόματα και μετά το χρησιμοποιεί για την ανίχνευση ακμών. Ένας από τους κυρίαρχους λόγους για τη συμπερίληψη του  $t$  στο όρισμα εξόδου είναι να ληφθεί μια αρχική τιμή για το κατώφλι.

Η συνάρτηση  $\text{edge}$  χρησιμοποιεί το Sobel edge detector ως προεπιλογή αν η σύνταξη είναι:  $[g, t]=\text{edge}(f,)$ , ή  $g=\text{edge}(f)$ .

### Prewitt edge detector

Ο Prewitt edge detector έχει σύνταξη:  $[g, t]=\text{edge}(f, 'prewitt', T, \text{dir})$ . Οι παράμετροι αυτής της συνάρτησης είναι παρόμοιες με τις παραμέτρους του Sobel. Ο Prewitt edge detector είναι ελαφρώς απλούστερος για υλοποίηση υπολογιστικά από το Sobel edge detector, αλλά τείνει να παράγει κάπως πιο 'θορυβώδη' αποτελέσματα.

## Roberts edge detector

Ο Roberts edge detector έχει σύνταξη:  $[g, t]=\text{edge}(f, \text{'roberts'}, T, \text{dir})$ . Οι παράμετροι αυτής της συνάρτησης είναι παρόμοιες με τις παραμέτρους του Sobel. Ο Roberts edge detector είναι ένας από τους παλαιότερους ανιχνευτές ακμών στον τομέα της ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας, και ο απλούστερος. Ο ανιχνευτής αυτός χρησιμοποιείται πολύ λιγότερο από τους υπόλοιπους εξαιτίας της περιορισμένης του λειτουργικότητας (δεν είναι συμμετρικός και δεν μπορεί να γενικευθεί να ανιχνεύει ακμές που είναι πολλαπλάσιες των 45 μοιρών). Ωστόσο, ακόμα χρησιμοποιείται συχνά σε υλοποιήσεις λογισμικού όπου η απλότητα και η ταχύτητα είναι βασικοί παράγοντες.

## Laplacian of a Gaussian (LoG) Detector

Η γενική σύνταξη του LoG edge detector είναι:  $[g, t]=\text{edge}(f, \text{'log'}, T, \text{sigma})$ , όπου sigma είναι η τυπική απόκλιση και οι υπόλοιπες παράμετροι είναι όπως εξηγήθηκε προηγουμένως. Η από προεπιλογή τιμή για το sigma είναι 2. Όπως προηγουμένως, η συνάρτηση edge αγνοεί όποιες ακμές δεν είναι ισχυρότερες από T. Αν το T δεν ορίζεται, ή είναι κενό [ ], η συνάρτηση edge επιλέγει την τιμή αυτόματα. Θέτοντας το T ίσο με 0 παράγει ακμές που είναι κλειστά περιγράμματα, ένα γνωστό χαρακτηριστικό της μεθόδου LoG.

## Zero-Crossing Detector

Αυτός ο ανιχνευτής βασίζεται στο ίδιο σενάριο με της μεθόδου LoG, αλλά η συνέλιξη πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας μια καθορισμένη συνάρτηση-φίλτρο, H. Η σύνταξη του ανιχνευτή αυτού είναι:  $[g, t]=\text{edge}(f, \text{'zerocross'}, T, H)$ . Οι παράμετροι αυτοί εξηγούνται όπως αναφέρθηκε και στον ανιχνευτή ακμών LoG.

## Canny edge detector

Η σύνταξη του Canny edge detector είναι:  $[g, t]=\text{edge}(f, \text{'canny'}, T, \text{sigma})$ , όπου T είναι ένα διάστημα,  $T=[T1, T2]$ , που περιλαμβάνει τα δύο κατώφλια T1 και T2,  $T1 < T2$  (τα pixels με τιμές έντασης μεγαλύτερες από T2 είναι ισχυρές, ενώ τα pixels με τιμές έντασης ανάμεσα στα T1 και T2 είναι ασθενείς ακμές). Η παράμετρος sigma είναι η τυπική απόκλιση του φίλτρου για smoothing. Αν το t περιλαμβάνεται στο όρισμα εξόδου, είναι ένα διάστημα δύο στοιχείων που περιλαμβάνει τα δύο κατώφλια που χρησιμοποιήθηκαν στον αλγόριθμο. Η υπόλοιπη σύνταξη είναι όπως εξηγήθηκε και για τις άλλες μεθόδους, περιλαμβάνοντας τον αυτόματο υπολογισμό των κατωφλίων αν το T δε δίνεται H από προεπιλογή τιμή για την παράμετρο sigma είναι 1.

## Σχεδιασμός σχολίων (annotations) σε ένα γράφημα

Η εντολή `annotation` (`annotation_type`) δημιουργεί ορισμένου τύπου σχόλια χρησιμοποιώντας τις προεπιλεγμένες τιμές. Ο `annotation_type` μπορεί να είναι κάτι από τα ακόλουθα:

- γραμμή (`line`)
- τόξο (`arrow`)
- διπλό τόξο (`double arrow`)
- τόξο με ενσωματωμένο κείμενο (`text arrow`)
- πλαίσιο κειμένου (`text box`)
- έλλειψη (`ellipse`)
- ορθογώνιο παραλληλόγραμμο (`rectangle`)

Η εντολή `annotation('line', x, y)` δημιουργεί μια γραμμή που εκτείνεται από το σημείο ορισμένο από τη θέση  $x(1)$ ,  $y(1)$  έως το σημείο ορισμένο από τη θέση  $x(2)$ ,  $y(2)$ . Τα σημεία είναι ορισμένα με κανονικοποιημένες μονάδες στο γράφημα (`figure`).

### Ιδιότητες του σχολίου γραμμής

Υπάρχει η δυνατότητα να οριστούν κάποιες επιθυμητές ιδιότητες που θα έχει το `annotation` γραμμή. Μια από αυτές είναι το χρώμα όπου γίνεται το εξής:

```
line(X, Y, 'Color', 'r', 'LineWidth', 3)
```

Έτσι από την παραπάνω εντολή δημιουργείται μια γραμμή στις συντεταγμένες  $X$ ,  $Y$ , με κόκκινο χρώμα και πάχος 3 βαθμούς, όπου 1 βαθμός =  $1/72$  ιντσες (1 point =  $1/72$  inch). Το χρώμα μπορεί να είναι ένα τριών στοιχείων RGB διάλυσμα ή ένα από τα προκαθορισμένα MATLAB ονόματα που ορίζονται στο `ColorSpec`. Επίσης η από προεπιλογή τιμή του πάχους της γραμμής είναι 0.5 βαθμοί.

### Συνάρτηση μετατροπής των συντεταγμένων σε μια εικόνα (`dsxy2figxy`)

Κάποιοι τύποι `annotation` (γραμμή, τόξο, διπλό τόξο, έλλειψη) συνδέονται στα γραφήματα (`figures`) παρά στους άξονες. Αυτό καθιστά δύσκολη την προγραμματιστική τοποθέτηση αυτών, ακριβώς στους άξονες, ειδικά αν οι άξονες αλλάζουν τη θέση του `annotation`. Παρόλα αυτά, είναι δυνατόν να τοποθετηθούν `annoations` στην εικόνα σε διάστημα δεδομένων εφαρμόζοντας μετασχηματισμό των συντεταγμένων. Αυτό γίνεται χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση `dsxy2figxy` που μετασχηματίζει τις συντεταγμένες της εικόνας στις συντεταγμένες των αξόνων για όλους τους τύπους `annotation`. Αρχικά αντιγράφουμε τον κώδικα της συνάρτησης `dsxy2figxy` και τον αποθηκεύουμε στο τρέχον `directory` ή οπουδήποτε αλλού στο MATLAB `path`. Στη συνέχεια, καλούμε την παραπάνω συνάρτηση, απλά με το όνομά της και γίνεται η κατάλληλη μετατροπή των συντεταγμένων.

## Αναφορές - Βιβλιογραφία

- [1] Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods, "Digital Image Processing", Addison-Wesley Publishing Company, 1993.
- [2] Milan Sonka, Vaclav Hlavac, Roger Boyle, "Image Processing, Analysis and Machine Vision", Brooks/Cole Publishing Company, 1999, second edition.
- [3] Emerging technologies, signal processing and statistical methods for screening of cervical cancer in vivo – are they good candidates for cervical screening?  
V.Van Raad and A.B.Bradley  
School of Electrical Engineering and Telecommunications, The University of New South Wales, Kensington, NSW 2052, Australia  
Center for Sensor Signal and Information Processing, The University of Queensland, Brisbane Old 4072, Australia.
- [4] Costas Balas, "A Novel Optical imaging Method for the Early Detection, Quantitative Grading, and Mapping of Cancerous and Precancerous Lesion of Cervix" , IEEE Transaction on Biomedical Engineering, vol.48, 2001.
- [5] D C Walker, B H Brown, A D Blackett, J Tidy, R H Smallwood, "A study of the morphological parameters of cervical squamous epithelium", Institute of Physics Publishing, p.121-124, 2003.
- [6] Costas Balas, George Papoutsoglou, Antonis Potirakis, "In Vivo Molecular Neoplasia Using Acetic Acid as Biomarker", IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics Vol.14, January/February 2008.
- [7] Ι. Ντζούφρας, "Βιοστατιστική ΙΙ, Μάθημα 6: Διαγνωστικοί έλεγχοι", Οικονομικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2006.
- [8] R. Shimamoto, J. Suzuki, J.Nishikawa, F. Nakamura, T.Tomaru, T.Toyooka, "Measuring the Diameter of Coronary Arteries on MR Angiograms Using Spatial Profile Curves" , American Roentgen Ray Society, 1997.
- [9] Forth Photonics Company, [www.forth-photonics.gr](http://www.forth-photonics.gr), Costas Balas: Founder – Chief Technology Officer.
- [10] Analysis of acetic acid-induced whitening of high-grade squamous intraepithelial lesions Brian W.Pogue, Howard B.Kaufman, Alex Zelenchuk, William Harper, Gregory C.Burke, Diane M. Harper.
- [11] A STUDY ON DIAGNOSTIC IMAGE ANALYSIS FOR THE DETECTION OF PRECANCEROUS LESIONS USING MULTI-SPECTRAL DIGITAL IMAGES by Sun Young Park, B.S.; M.S. (Chapter 4: White Light Reflectance Image Analysis Using Acetowhitening Feature).
- [12] Α. Παρούλις, "Πιθανότητες Τυχαίες Μεταβλητές και Στοχαστικές Διαδικασίες", Εκδόσεις Τζιόλα, 2002, 3η έκδοση.
- [13] J.WSellors, R.Sankaranarayanan, "Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginner's Manual ", IARC, 2003.

[14] J.L. Belinson, R.G.Pretorius, W.Zhang, "Cervical Cancer Screening by Simple Visual Inspection After Acetic Acid", Elsevier Science Inc., Σεπτέμβρης 2001.

[15] Master thesis: Modelling of epithelial transport phenomena related with the acetowhitening optical characteristics: Potential for the in-vivo diagnosis of cervical neoplasia, Papoutsoglou Georgios.

[16] Using acetowhite opacity index for detecting cervical intraepithelial neoplasia  
Wenjing Li, Sankar Venkataraman, Ulf Gustafsson, Jody C. Oyama, Daron G. Ferris, Rich W. Lieberman.

[17] Aceto-white temporal pattern classification using k-NN to identify precancerous cervical lesions in colposcopic images  
Hector-Gabriel Acosta-Mesa, Nicandro Cruz-Ramirez, Rodolfo Hernandez-Jimenez.

[18] Hyperspectral Classification\_V5.pdf.

[19] Ψηφιακή Επεξεργασία & Ανάλυση Εικόνας, Νικόλαος Παπαμάρκος – Καθηγητής ΔΠΘ Β. Γκιούρδας Εκδοτική.

[20] Digital Image Processing Using MATLAB, Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods, Steven L. Eddins.

[21] Διαλέξεις μαθήματος "Οπτοηλεκτρονική", που διδάχθηκε στο Πολυτεχνείο Κρήτης, διδάσκων καθηγητής: Κ. Μπάλας.

[22] Διαλέξεις μαθήματος "Μηχανική Όραση", που διδάχθηκε στο Πολυτεχνείο Κρήτης, διδάσκοντες καθηγητές: Μ. Ζερβάκης, Ε. Πετράκης.

[23] Διαλέξεις μαθήματος "Ψηφιακή Επεξεργασία Εικόνας", που διδάχθηκε στο Πολυτεχνείο Κρήτης, διδάσκων καθηγητής: Μ. Ζερβάκης.

[24] Digital colposcopy: ready for use? An overview of literature  
JA Louwers, M Kocken, WA ter Harmsel, RHM Verheijen.

### Ιστοχώροι πληροφοριών

<http://technologein.pathfinder.gr/dySIS/>

<http://www.forth-photonics.com/dysis.php?page=dysis-product>

<http://www.eurocytology.eu/Static/EUROCYTOLOGY/GRE/home.html>

<http://screening.iarc.fr/colpochap.php?lang=1&chap=2>

