

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

Wydział Elektryczny

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Michał Kruk

**Automatyczny system rozpoznawania komórek na podstawie
obrazu mikroskopowego wybranej tkanki ludzkiej dla potrzeb
diagnostyki medycznej**

Promotor

prof. dr hab. Stanisław Osowski

Warszawa, 2008

pracę tę dedykuję moim Rodzicom i Sylwii

W szczególności chciałbym podziękować:

- mojemu Promotorowi prof. dr hab. inż. Stanisławowi Osowskiemu, który zawsze chętnie i cierpliwie udzielał mi wielu cennych rad i wskazówek oraz ukierunkował moją pracę naukową,
- dr n. med. Robertowi Koktyszowi, pracownikowi Instytutu Patomorfologii, za niezastąpioną i cierpliwą pomoc merytoryczną z dziedziny medycyny,
- oraz całemu zespołowi z pokoju 501, a zwłaszcza mojemu przyjacielowi Jarosławowi Kurkowi za wspólną pracę, pomoc i wskazówki.

Michał Kruk

Spis treści

1	Wprowadzenie	11
1.1	Cel i teza pracy	11
1.2	Przegląd aktualnej wiedzy i literatury	14
1.3	Zawartość pracy	19
2	Podstawy medyczne	21
2.1	Idiopatyczne zapalenia jelit	21
2.2	Przygotowanie preparatów	25
3	Podstawy analizy morfologicznej i teksturalnej obrazów medycznych	29
3.1	Wstęp	29
3.2	Reprezentacja binarna obrazu	29
3.3	Element strukturalny	30
3.4	Erozja	31
3.5	Dylatacja	32
3.6	Operacje otwarcia i zamknięcia	33
3.7	Wypełnianie otworów	35
3.8	Progowanie	36
3.9	Gradient morfologiczny	38
3.10	Funkcja odległości	39
3.11	Metody segmentacji obrazu	40
3.11.1	Metoda działów wodnych	41
3.11.2	Segmentacja za pomocą algorytmu k-średnich	43
3.11.3	Segmentacja teksturalna	45
3.12	Rekonstrukcja obrazu	48

4	Lokalizacja cew gruczołowych i estymacja ich parametrów	51
4.1	Algorytm ekstrakcji cew gruczołowych	52
4.2	Parametryzacja cew gruczołowych	57
4.3	Algorytm pomiaru odległości	58
4.4	Analiza wyników działania systemu	63
5	Narzędzia klasyfikacyjne	69
5.1	Klasyfikator perceptronowy	70
5.2	Klasyfikator oparty na sieci RBF	72
5.3	Klasyfikator oparty na metodzie k najbliższych sąsiadów (KNN)	74
5.4	Klasyfikator Fishera	75
5.5	Klasyfikator oparty na sieci SVM	78
5.5.1	Klasyfikacja wieloklasowa za pomocą SVM	80
5.6	Zespół klasyfikatorów	81
6	Rozpoznawanie komórek obronnych w chorobach idiopatycznych jelit	83
6.1	Etap przygotowawczy - eliminacja cew gruczołowych	86
6.2	Segmentacja komórek	89
6.3	Baza komórek uczących	93
6.4	Cechy diagnostyczne	97
6.4.1	Cechy geometryczne	97
6.4.2	Cechy teksturalne	98
6.4.3	Cechy określone na podstawie histogramu	99
6.4.4	Dodatkowe cechy diagnostyczne w postaci współczynników	99
6.5	Selekcja cech diagnostycznych	101
7	Analiza wyników działania systemu	105
7.1	Ocena jakości działania systemu ekstrakcji komórek	106
7.2	Analiza wyników klasyfikacji komórek z bazy danych uczących	108
7.3	Wyniki działania systemu automatycznego na reprezentatywnych obrazach tkanek jelita	111
7.3.1	Pacjent nr 1	113
7.3.2	Pacjent nr 2	114

7.3.3	Pacjent nr 3	115
7.3.4	Pacjent nr 4	116
7.3.5	Pacjent nr 5	117
7.3.6	Pacjent nr 6	119
7.4	Wyniki analizy statystycznej preparatów	120
7.4.1	Obrazy odpowiadające lekkiemu nasileniu stanu zapalnego	120
7.4.2	Obrazy odpowiadające średniemu nasileniu stanu zapalnego	122
7.4.3	Obrazy odpowiadające ciężkiemu nasileniu stanu zapalnego	124
7.5	Podsumowanie analizy działania systemu	126
8	Wnioski końcowe i podsumowanie	129

Rozdział 1

Wprowadzenie

Połączenie inżynierii z medycyną, czyli inżynieria biomedyczna umożliwia rozwiązanie wielu ciekawych i mających zastosowania praktyczne zagadnień. Pozwala na odpowiednie użycie narzędzi, jakimi dysponuje informatyka (sztuczna inteligencja, przetwarzanie i rozpoznawanie sygnałów i obrazów), do praktycznych zastosowań medycznych. Medycyna dostarcza ogromnej ilości danych, które okazują się doskonałym materiałem badawczym dla wielu dziedzin nauki. Dane te, w połączeniu z merytoryczną wiedzą i współpracą lekarską, stanowią podstawę badań zarówno z zakresu nauk medycznych, jak i technicznych, prezentowanych w tej pracy.

Szybki rozwój technologii informatycznej umożliwił prowadzenie badań na coraz większej liczbie danych wprowadzanych do komputera i przeprowadzanie na nich złożonych obliczeń. Poza danymi w postaci liczb coraz częściej przetwarza się dane w postaci obrazów (zdjęcia rentgenowskie, rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa, zdjęcia mikroskopowe). Niniejsza praca skupia się na przetwarzaniu danych w postaci obrazów kolorowych wysokiej rozdzielczości (2816x2112) i przekształcaniu ich na dane numeryczne podlegające dalszemu przetwarzaniu dla uzyskania końcowego efektu mającego na celu wspomaganie diagnozy medycznej.

1.1 Cel i teza pracy

Celem pracy jest stworzenie algorytmów i ich implementacja komputerowa w postaci automatycznego systemu pozwalającego na segmentację, rozpoznanie i pomiar obiektów z obrazów medycznych dotyczących stanu zapalnego jelita. Obrazami są zdjęcia mikro-

skopowe jelit (o powiększeniach sto i sześćset razy) otrzymane z Wojskowego Instytutu Medycznego przy ulicy Szaserów w Warszawie. Zadaniem pracy jest stworzenie narzędzi do przeprowadzania szerokich badań lekarskich nad grupą chorób, które wspólnie zwane są *idiopatycznymi zapaleniami jelit*. Powstała przy ścisłej współpracy autora z lekarzami patomorfologami z tego Instytutu¹. Badania mają na celu stwierdzić, czy istnieją zauważalne różnice na zdjęciu mikroskopowym tkanek między poszczególnymi chorobami wchodzącymi w skład grupy (są to choroby Leśniowskiego-Crohna, Colitis Ulcerosa, kolagenowe zapalenie jelit i nieokreślone zapalenia jelit). Wyniki pracy pozwalają opisać je statystycznie, a także uzyskać informacje dotyczące zaostrzeń i remisji poszczególnych stanów chorobowych. Aby uzyskać odpowiednie wnioski, lekarz musi opisać numerycznie odpowiednio dużo zdjęć (w pracy przeanalizowano sześćset zdjęć od dwustu pacjentów), co wiąże się z ogromnym nakładem czasowym pracy. W przypadku niektórych pomiarów (na przykład pomiaru obwodów rzeczywistych czy wypukłych cew gruczołowych) ręczne wykonanie zadania byłoby bardzo trudne lub wręcz niemożliwe. Stąd wynikła potrzeba stworzenia automatycznego systemu segmentującego, rozpoznającego i opisującego w sposób numeryczny obiekty występujące w obrazie. Ze względów praktycznych system powinien operować na obrazach o dwóch rodzajach powiększeń - stukrotnym i sześćsetkrotnym. Wynikiem działania takiego systemu jest plik zawierający numeryczny opis obiektów znajdujących się na obu rodzajach obrazów. Dla zbudowania takiego systemu niezbędne jest wykonanie następujących etapów pracy:

- opracowanie algorytmu dokonującego segmentacji cew gruczołowych. Algorytm powinien wyodrębniać cewy z obrazów o powiększeniu stukrotnym; każdą z cew należy opisać odpowiednimi cechami geometrycznymi i określić odległości pomiędzy najbliższymi cewami;
- opracowanie algorytmu dokonującego segmentacji komórek; algorytm powinien wyodrębniać komórki w obrazach o powiększeniu sześćsetkrotnym, natomiast wszystkie inne elementy, cewy gruczołowe i artefakty - odrzucić;
- zbudowanie bazy danych zawierającej odseparowane, pojedyncze komórki; za pomocą wcześniej opracowanego algorytmu segmentującego należy wyodrębnić i zapisać

¹Szczególne podziękowania autor składa doktorowi Robertowi Koktyszowi, pracownikowi Instytutu Patomorfologii, który służył największą pomocą merytoryczną w dziedzinie medycyny

poszczególne typy komórek jako oddzielne obrazy. Komórki te posłużą w dalszej części pracy do wytrenowania klasyfikatora rozpoznającego typ każdej komórki;

- opracowanie i selekcja cech numerycznych najlepiej opisujących poszczególne rodzaje komórek i pozwalających na uzyskanie najlepszych wyników rozpoznania;
- opracowanie klasyfikatorów rozpoznających poszczególne typy komórek; w wyniku wielu przeprowadzonych eksperymentów numerycznych ustalono, że optymalne rozwiązanie powinno opierać się na różnych rodzajach klasyfikatorów, pozwalając spojrzeć na problem klasyfikacji z różnych pozycji. W szczególności w rozwiązaniu zastosowano:
 - klasyfikatory neuronowe (sieci - MLP, RBF, SVM)
 - klasyfikator liniowy Fishera
 - klasyfikator bazujący na algorytmie k-sąsiadów.

Klasyfikatory te generują wyniki niezależnie od siebie. Ich połączenie w jeden system w postaci zintegrowanego zespołu klasyfikatorów pozwala na znaczną redukcję błędów klasyfikacji i poprawę jakości działania systemu. Zarówno poszczególne klasyfikatory, jak i zespół klasyfikatorów podlegają uczeniu na bazie danych uczących - jest to ważne zadanie rozprawy;

- stworzenie automatycznego, zintegrowanego systemu komputerowego, który na podstawie obrazu wejściowego tkanki wykona wszystkie etapy omówione wcześniej, generując wyniki w postaci liczby rozpoznanych komórek należących do poszczególnych rodzin i jednocześnie utworzy obraz tkanki z naniesionymi opisami poszczególnych komórek.

Wyniki działania systemu stanowiąc będą pomoc w badaniach medycznych, przyspieszając poszczególne etapy pracy lekarzy w badaniach chorób jelita grubego. Wszelkie oceny błędów i konsultacje merytoryczne (dotyczące rozpoznania typów komórek oraz oceny cew gruczołowych) konsultowane były na bieżąco z lekarzem specjalistą (dr n. med. Robertem Koktyszem). Lekarz oceniał również bazę danych komórek, która stanowiła klucz do właściwego wytrenowania klasyfikatorów. Wyniki działania systemu zbudowanego przez

autora weryfikowane były również przez wielu innych pracowników Wojskowego Instytutu Medycznego. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań autor sformułował następującą tezę pracy:

Połączenie metod morfologicznych przetwarzania obrazów i systemu klasyfikatorów (w szczególności neuronowych) pozwala na budowę automatycznego systemu rozpoznającego cewy gruczołowe i komórki występujące w jelicie i posiadającego dokładność zbliżoną do eksperta ludzkiego, wystarczającą do prowadzenia dalszych badań nad schorzeniami jelita.

1.2 Przegląd aktualnej wiedzy i literatury

Badania statystyczne poświęcone stanom zapalnym jelit wymagają przeanalizowania bardzo dużej ilości danych. Wymagane jest opisanie ogromnej ilości zdjęć, co jest procesem bardzo pracochłonnym dla eksperta ludzkiego. Automatyczny system rozpoznawania komórek umożliwia dostarczenie wyników tych badań w czasie nieporównanie krótszym. Niektóre pomiary (zwłaszcza geometryczne) niezbędne do badań są bardzo żmudne bądź praktycznie niemożliwe do wykonania ręcznego bez użycia komputera i zautomatyzowania procesu pomiarowego [70].

Ocena błędów pomiarowych wyników eksperta jest bardzo trudna i polega zwykle na porównaniu pracy kilku ekspertów. W środowisku medycznym panuje opinia, że różnica rzędu 5% jest wynikiem wręcz idealnym, natomiast zadowalający jest błąd (rozbieżność wyników) nawet rzędu 20% [33]. Spowodowane jest to bardzo dużym zróżnicowaniem badanego materiału. Podczas konsultacji z różnymi ekspertami (lekarzami) wielokrotnie dochodziło do kwalifikowania tej samej komórki do różnych typów. Najczęstszym powodem tego była niedoskonałość zmysłów człowieka oraz zmęczenie spowodowane długotrwałym śledzeniem analizowanego obrazu, ale także słaba jakość zdjęcia mikroskopowego, do czego przyczyniło się błędne przygotowanie preparatu lub źle wykonana fotografia.

Badania nad systemem do analizy obrazów mikroskopowych tkanek jelit opisane są w pracach [41, 42, 43, 52, 53, 54]. Autorzy tych prac skupiają się jednak nad innym zagadnieniem, mianowicie rakami jelita i odbytu, i dzielą komórki obrazu na zdrowe i rakowe. Jest to zadanie innego typu niż podjęte przez autora rozprawy.

W chwili obecnej nie istnieje ogólnie dostępny system rozpoznający komórki w bada-

niach histopatologicznych jelit. W przeciwieństwie do badań cytologicznych, gdzie obrazem wyjściowym jest wymaz komórek na szkiełku, obrazy histopatologiczne są zdjęciami całych tkanek zawierających poszczególne komórki. Tego rodzaju obrazy posiadają bardzo wiele artefaktów i elementów, które w badaniach należy odrzucić, przez co bardzo utrudniają automatyczną segmentację komórek. Ograniczona jest też literatura poświęcona opisywanemu zagadnieniu. W specjalistycznych czasopismach, jak również w internecie można znaleźć zaledwie kilkanaście pozycji światowych dotyczących podobnej (choć różniącej się w szczegółach) tematyki [4, 21, 39, 41, 42, 43, 56, 64].

Spośród dostępnej literatury niektóre pozycje skupiają się na opisie samego procesu rozpoznawania komórek, nie uwzględniając błędów procesu segmentacji [55, 80]. W pracy [80] uzyskano wynik na poziomie 2-3% błędów, lecz uwzględniono tylko 3 klasy komórek i nie rozpatrzono procesu ich segmentacji, który ma duży wpływ na wynik końcowy.

Metody segmentacji i rozpoznawania komórek stosowane przez różnych autorów oparte są na podobnych podstawach. Najpierw wydziela się interesujące obiekty z obrazu. Następnie opisuje się je za pomocą cech numerycznych, tworząc bazę danych używanych następnie do trenowania wybranego klasyfikatora [8, 14, 28, 30, 41, 51, 56].

Ekstrakcja wybranych obiektów złożonego obrazu medycznego stanowi zadanie stosunkowo złożone i zależne od rodzaju obiektów, ich rozmieszczenia względem siebie, odległości między nimi oraz stopnia wybarwienia względem tła. Szczególnie trudne jest wydzielenie obiektów stykających się ze sobą, o porównywalnym wybarwieniu strefy złączenia. W zadaniu rozwiązany w pracy obiekty podlegające ekstrakcji to komórki stanowiące zwykle obiekty o małej wielkości oraz cewy gruczołowe stanowiące dużą, zwartą strukturę. Wyodrębnienie obiektów sprowadza się do zadania segmentacji obrazu poprzez jego podział na regiony zawierające pojedyncze obiekty.

Istnieje wiele różnych metod segmentacji. Należą do nich metody filtracyjne zarówno liniowe, jak i nieliniowe [1, 35, 36, 45, 63, 68]. W segmentacji metodami filtracyjnymi poszukuje się krawędzi obrazu tworzących zamknięte struktury obiektu, stosując różne maski, np. maska Roberta, Prewitta, Sobela, Laplasjan i inne. Maski takie są mało skuteczne w segmentacji obrazów medycznych ze względu na znaczne rozmycie krawędzi obiektów i duże różnice w zabarwieniu.

Dobrą skutecznością w segmentacji obrazów medycznych odznaczają się metody morfologii matematycznej, stosujące proste operacje erozji, dylatacji, otwarcia i zamknięcia

[59, 60]. Są to operacje nieliniowe, ściśle powiązane z binaryzacją progową. Progowanie odbywa się albo przy stałej wartości progu, albo wartości progu dobieranej adaptacyjnie w zależności od otoczenia, np. metoda Otsu [46]. Za najbardziej skuteczną uważa się obecnie segmentację opartą na metodzie działów wodnych, prowadzącą do dobrego podziału obrazu na rejony zawierające pojedyncze obiekty [6, 7, 46]. Metoda ta charakteryzuje się stosunkowo dobrą skutecznością nawet przy gęstym upakowaniu obiektów (komórek położonych bardzo blisko siebie). Jak pokazano w pracy [39], skuteczność segmentacji obrazów komórek może sięgać nawet 95 % (95% komórek w obrazie podlega prawidłowemu wydzieleniu).

Inne znane metody segmentacji obrazu wykorzystują pojęcie tekstur i miar je opisujących. Nadają się do wydzielenia z obrazu dużych struktur, np. cew gruczołowych [43, 50, 61, 69].

Po wydzieleniu pojedynczych obiektów z obrazu każdy obiekt podlega opisowi za pomocą zbioru parametrów, stanowiących jego cechy diagnostyczne. Stosuje się różne metody przetwarzania obrazu na cechy diagnostyczne. Należą do nich między innymi metody transformacyjne, np. opis obiektu za pomocą współczynników transformaty Fouriera, transformacji falkowej, cosinusoidalnej itp. Do popularnych metod opisu numerycznego obrazu należą różnego rodzaju przekształcenia, np. przekształcenie PCA, SVD, które traktując obraz jako macierz, upraszczają jej opis za pomocą bądź to składowych głównych (PCA), bądź skończonej liczby elementów diagonalnych macierzy \mathbf{S} w przekształceniu SVD [13, 42, 43, 50, 52].

W przypadku obrazów medycznych ważny zbiór cech diagnostycznych tworzą parametry geometryczne obiektu (np. powierzchnia, obwód, największa i najmniejsza oś itd.) [31, 78, 79, 81]. W przypadku różnic stopni jasności dla poszczególnych kolorów obraz może być scharakteryzowany poprzez parametry opisujące statystykę rozkładu kolorów (histogramy i miary statystyczne z nim związane) oraz tzw. parametry kolorymetryczne charakteryzujące wartości średnie różnych kolorów. Parametry te wykorzystują informację o kolorach poszczególnych obiektów.

Nie mniej ważny zbiór cech diagnostycznych można uzyskać, wykorzystując opis tekstury obiektu. Do najpopularniejszych metod opisu tekstur należą: metoda Haralicka i jej uproszczona wersja Unsera, metody transformacyjne oparte na transformacie Fouriera i falkowej, metody fraktalne, metoda geometryczna Chena, metody autoregresyjne i wiele

innych [68]. Parametry teksturalne użyte w opisie obiektu wykorzystują charakterystyczne cechy rozkładu statystycznego stopni szarości w obszarach obrazu [42, 43, 44, 50, 68].

Zastosowanie różnorodnych form opisu obrazu za pośrednictwem związanych z nimi parametrów pozwala spojrzeć w sposób zróżnicowany na analizowany obraz i lepiej uchwycić różnice występujące między obrazami należącymi do różnych klas.

Oczywiste jest, że parametry opisujące obraz nie są jednakowo ważne z punktu widzenia rozpoznawania różnych obrazów. Część z nich lepiej, a część gorzej odzwierciedla różnice występujące między różnymi klasami obiektów. Stąd istotnym etapem jest selekcja cech najbardziej znaczących. Selekcja taka dotyczy badania każdej cechy oddzielnie (zakładając, że działa ona niezależnie od innych) bądź badania cechy przy jej współdziałaniu z innymi. Do pierwszej grupy zaliczyć można metody bazujące na grupowaniu obiektów należących do poszczególnych klas i ich charakteryzacji poprzez odległości między centrami różnych klas oraz poprzez odchylenie standardowe danych tworzących poszczególne klasy. Bada się również korelację parametrów obiektu z klasą, do której on należy [40, 42, 47, 75].

W grupie drugiej za najskuteczniejsze uważa się aktualnie metody stosujące sieć liniową SVM. Za ważne traktuje się te cechy, które w klasyfikatorze SVM są połączone z neuronem wyjściowym poprzez największe wagi [18, 40].

Wyselekcjonowany zbiór najważniejszych cech diagnostycznych stanowi wektor wejściowy dla klasyfikatora, dokonującego rozpoznania obiektów i przypisania ich do odpowiedniej klasy. W literaturze znanych jest wiele różnych klasyfikatorów [9, 20], między innymi klasyfikatory liniowe Fishera, klasyfikatory odległościowe (KNN, Kohonena), klasyfikatory Bayesowskie, różnorodne formy klasyfikatorów neuronowych (perceptron wielowarstwowy - MLP, sieć radialna RBF, klasyfikatory SVM). Klasyfikatory te różnią się zasadą działania, sposobem uczenia, strukturą układu. Z tego względu, dokonując klasyfikacji, popełniają błędy odpowiadające różnym pozycjom danych. Oznacza to, że grupując je w zespół, możliwe jest poprawienie dokładności rozpoznawania obiektów. Stosowane są przy tym różne metody integracji klasyfikatorów w jeden zespół. Najczęściej stosuje się różne odmiany głosowania większościowego ważonego, uwzględniającego skuteczność poszczególnych klasyfikatorów na danych uczących [16, 23, 32, 48, 57, 71].

Jakkolwiek ogólne metody stosowane w rozpoznawaniu obiektów występujących na obrazach medycznych są znane, ich implementacja w konkretnej aplikacji stanowi ciągle poważne wyzwanie badawcze. Istnieją tylko nieliczne rozwiązania uniwersalne, np.

EAMUS, DiffMaster, Octavia, MaZda, które po pewnych adaptacjach mogą znaleźć cząstkowe zastosowania w rozpoznawaniu obiektów stanowiących cel badawczy w danej pracy. Koszt zakupu niektórych z nich jest jednak bardzo wysoki i polskich szpitali na to nie stać. W chwili obecnej zarówno rozpoznanie komórek jelita, jak i ocena parametrów cew gruczołowych (stanowiących obiekt rozprawy) dokonywane są w polskich szpitalach w sposób manualny, wymagający olbrzymich nakładów pracy. Wynik takiej oceny jest bardzo subiektywny i różniący się nawet dla tego samego eksperta pracującego w różnych warunkach (efekt zmęczenia, stanu psycho-fizycznego, oświetlenia, itp.) [29].

Stąd opracowanie urządzenia automatycznego, działającego bez (lub przy minimalnej) ingerencji człowieka, jest celowe i bardzo pożądane. Urządzenie takie przyspieszy w sposób istotny opracowanie wyników badań wielu pacjentów oczekujących aktualnie w szpitalach na diagnozę dotyczącą rodzaju schorzenia i metodę leczenia.

Do głównych przyczyn trudności związanych z budową automatycznego systemu przetwarzania zdjęć mikroskopowych jelit w stanach zapalnych należą:

- bardzo duże zróżnicowanie obrazów. Różnią się one znacząco pod względem koloru - zależnego np. od czasu barwienia, grubości wyciętej tkanki, czasu, który upłynął od jej wycięcia, poziomu naświetlenia pod mikroskopem, itp.;
- znaczne zróżnicowanie komórek należących do tej samej rodziny. Stąd ważnym zagadnieniem jest określenie cech diagnostycznych, które są mało zróżnicowane dla komórek należących do tego samego typu;
- dużą trudność przedstawia fakt, że komórki należące do różnych typów mogą być bardzo podobne do siebie. Nierzadko zdarza się, że komórki różnych typów są bardziej podobne do siebie niż komórki będące reprezentantami tej samej rodziny;
- dodatkowe utrudnienia w pracy stanowi słaba jakość zdjęć mikroskopowych wykonanych w szpitalu, wynikająca z problemów regulacji ostrości aparatu znajdującego się na mikroskopie;
- poważnym problemem w rozpoznawaniu komórek jest także duża ilość artefaktów i zanieczyszczeń występujących na zdjęciach histopatologicznych. Powoduje to bardzo duże utrudnienia na etapie segmentacji obrazu prowadzące w efekcie do błędnego wyodrębnienia komórek a następnie błędnego ich rozpoznania;

1.3 Zawartość pracy

Praca zawiera opis automatycznego systemu mierzącego cewy gruczołowe i rozpoznającego komórki na mikroskopowych zdjęciach tkanek jelit. Przedstawiono podstawowe operacje i algorytmy użyte w systemie oraz stworzone przez autora złożone algorytmy i sprawdzenie ich skuteczności. Praca składa się z ośmiu rozdziałów. Poszczególne rozdziały zawierają:

1. **Wprowadzenie.** W rozdziale tym zawarto przegląd stosowanych rozwiązań, wprowadzenie do tematyki rozprawy, cel i tezę pracy. Opisano główne trudności związane z realizacją zadania oraz zakres prowadzonych badań.
2. **Podstawy medyczne.** W rozdziale tym nakreślono podstawy medyczne zagadnienia. Zawarto skrócony opis chorób, których dotyczy rozprawa. Opisano proces tworzenia preparatów i powstawania zdjęć, których obróbką zajmuje się system stworzony przez autora.
3. **Podstawy analizy morfologicznej i teksturalnej obrazów medycznych.** W rozdziale tym przedstawiono podstawowe operacje morfologiczne, takie jak erozja, dylatacja, otwarcie i zamknięcie, algorytm działów wodnych i metody progowania zilustrowane na bazie rozważanych obrazów medycznych. Na tej podstawie opisano również metody segmentacji obrazu za pomocą algorytmu działów wodnych, algorytmu k-średnich i metod teksturalnych.
4. **Lokalizacja cew gruczołowych i estymacja ich parametrów.** Rozdział ten przedstawia stworzony i zaimplementowany przez autora algorytm segmentacji cew gruczołowych. Wydzielone obrazy cew podlegają charakteryzacji liczbowej parametrów geometrycznych cew. Rozdział kończy się prezentacją wyników uzyskanych dla wielu zdjęć tkanki jelita w różnych stadiach rozwoju stanu zapalnego.
5. **Narzędzia klasyfikacyjne.** W tej części pracy opisano zastosowane w rozwiązaniu klasyfikatory: neuronowe (SVM, RBF, MLP), klasyfikator Fishera i k-sąsiadów. Na ich bazie opracowano system zintegrowany wielu klasyfikatorów, tworzących jeden finalny system klasyfikacyjny, podejmujący ostateczną decyzję co do rozpoznania obiektu.
6. **Rozpoznawanie komórek obronnych w chorobach idiopatycznych jelit.** W

rozdziale tym przedstawiono algorytm przygotowujący obraz do segmentacji komórek, w tym metodę usuwania tła i cew gruczołowych. Następnie opisano algorytm segmentacji komórek, wydzielający wszystkie komórki. Przedstawiono sposób tworzenia oraz zawartość bazy komórek, służącej do trenowania klasyfikatorów. Ostatnia część rozdziału dotyczy sposobu tworzenia cech diagnostycznych przypisanych poszczególnym komórkom oraz metodę selekcji cech najważniejszych z punktu widzenia klasyfikacji.

7. **Analiza wyników działania systemu.** Rozdział ten dotyczy aplikacji opracowanego systemu w warunkach szpitalnych. Przedstawiono wyniki rozpoznania zdjęć mikroskopowych dotyczących wielu pacjentów o różnym zaawansowaniu stanu zapalnego jelit. Na przykładach konkretnych obrazów porównano zgodność wyników systemu z wynikami ekspertów. Przedstawione rezultaty ilustrują wzrost trudności zadania związany z rozwojem stanu zapalnego jelita.
8. **Wnioski końcowe i podsumowanie.** Ostatni rozdział pracy stanowi podsumowanie wyników oraz wnioski wynikające z badań. Omówiono również podstawowe problemy, które powinny być poddane analizie przy dalszym rozwoju systemu. Rozdział ten zawiera również najważniejsze, oryginalne osiągnięcia autora pracy.

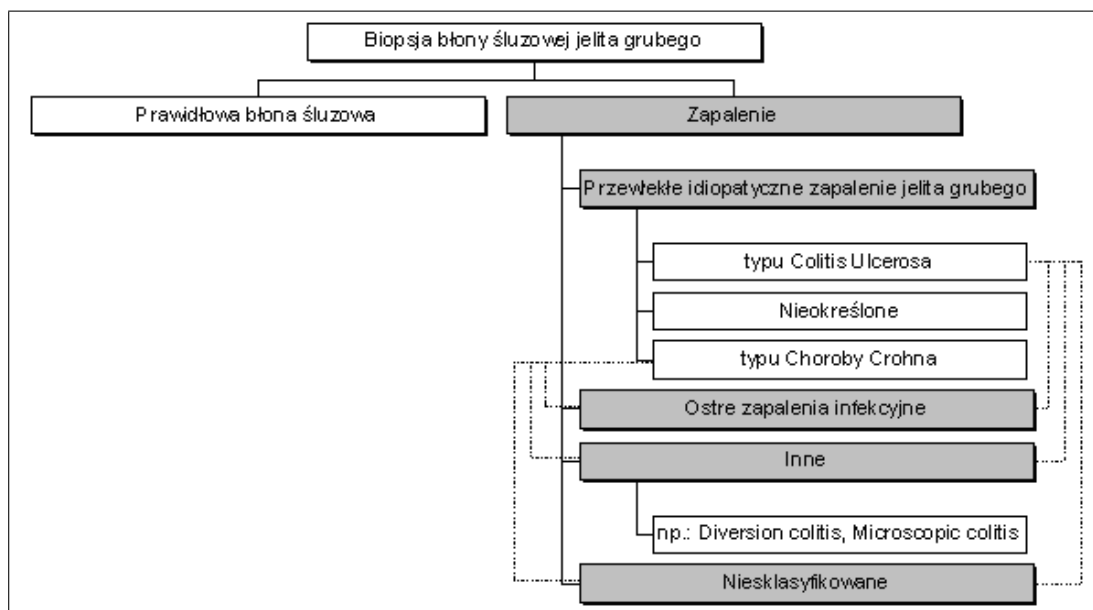
Rozdział 2

Podstawy medyczne

2.1 Idiopatyczne zapalenia jelit

Idiopatyczne zapalenia jelit (Inflammatory Bowel Diseases - IBD) stanowią grupę przewlekłych, nieuleczalnych schorzeń przewodu pokarmowego, cechujących się samoistnymi remisjami i nawrotami, których etiologia pozostaje niewyjaśniona. Do grupy przewlekłych chorób zapalnych jelit wchodzi: wrzodziejące zapalenie jelita grubego (Colitis Ulcerosa), choroba Leśniowskiego-Crohna, zapalenia kolagenowe (zapalenia mikroskopowe) oraz nieswoiste postacie niedające się zakwalifikować do żadnej z powyższych grup [10, 11, 12, 15, 25, 26, 58, 65, 73, 77, 82]. Choroby te mają pochodzenie autoimmunologiczne, czyli spowodowane są niewyjaśnionym niszczeniem tkanki jelita przez własny układ odpornościowy. Rysunek 2.1 pokazuje stosowany w medycynie podział stanów zapalnych jelit. Wiele czynników chorobowych (pochodzenie, dokładny skład komórkowy, liczba komórek, procentowa ich zawartość) pozostaje niezbadana i nieopisana w literaturze medycznej, stąd też spore zainteresowanie i chęć ich opisanie przez naukowców zajmujących się badaniami w tej dziedzinie. Sygnałem o wystąpieniu stanu zapalnego jelita jest pojawienie się komórek obronnych organizmu w podścielisku narządu. Należą do nich:

- komórki limfoidalne (limfocyty)
- granulocyty kwasochłonne
- granulocyty obojętnochłonne
- plazmocyty



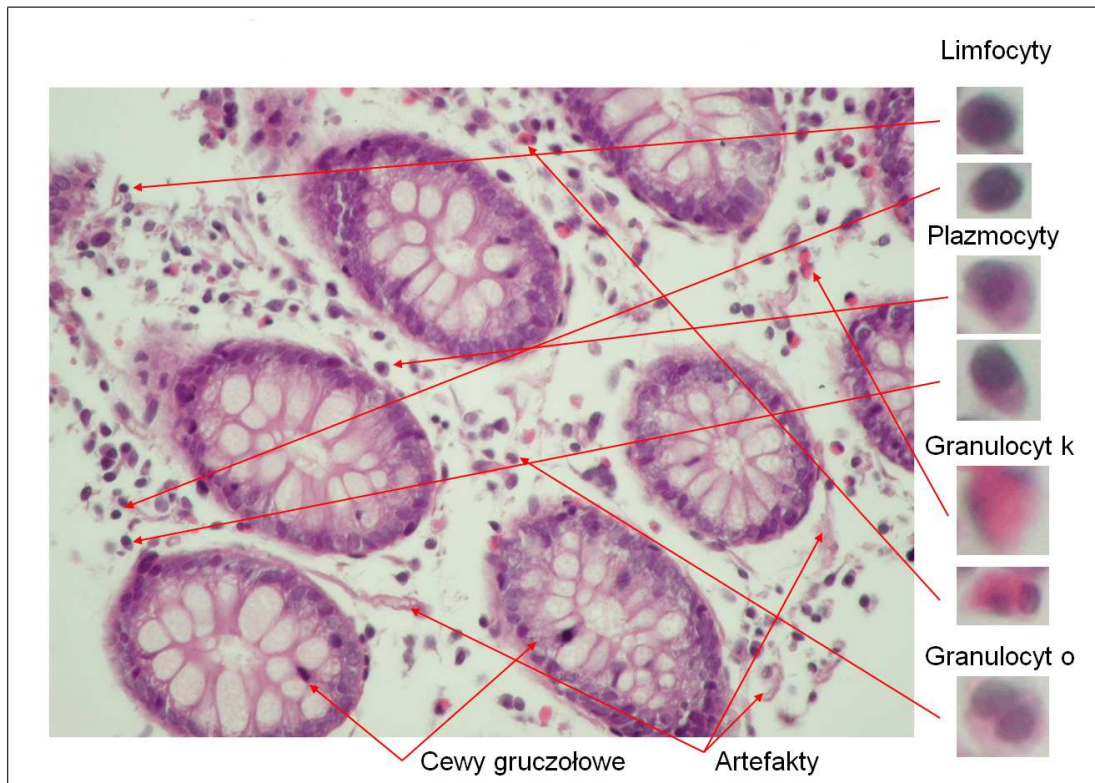
Rysunek 2.1 Podział stanów zapalnych jelit

- inne komórki nacieku zapalnego.

Na rysunku 2.2 przedstawiono przykładowe zdjęcie mikroskopowe jelita w powiększeniu 600x. Widoczne są duże cewy gruczołowe oraz komórki należące do różnych typów (limfocyty, plazmocyty, granulocyty kwasochłonne i obojętnochłonne). Dodatkową trudność stanowią artefakty występujące w podścielisku narządu.

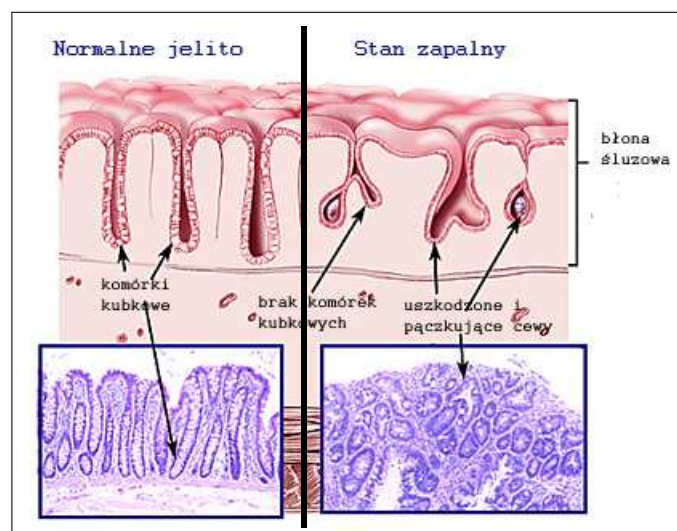
Ilość komórek świadczy o nasileniu schorzenia. Ważnym czynnikiem diagnozującym jest pojawienie się granulocytów, zwłaszcza obojętnochłonnych. Pomocny w badaniu jest także stosunek odpowiedniego typu komórek do innego - na przykład liczba limfocytów do liczby plazmocytów. Oprócz liczby komórek miarą nasilenia stanu zapalnego jelita jest także miejsce ich występowania - czy są to tylko okolice powierzchni czy też cała błona śluzowa aż do mięśnia. Stąd też wykonywane są dwa zdjęcia z każdego preparatu - pierwsze z powierzchni błony śluzowej, drugie z jej głębi. Skład, procentowa zawartość i stosunek liczby poszczególnych rodzajów komórek jest ważnym kryterium oceny schorzenia dla lekarza patomorfologa.

Innym ważnym czynnikiem diagnostycznym jest wygląd cew gruczołowych na zdjęciu mikroskopowym. Cewy zdrowe mają podłużne eliptyczne kształty, bez śladów pączkowania. Przy stanach zapalnych następuje niszczenie cew przez własny układ odpornościowy organizmu a ich kształt ulega istotnej zmianie: kształt eliptyczny ulega wyraźnemu podzia-



Rysunek 2.2 Przykładowe zdjęcie mikroskopowe tkanki jelita

łowi na wiele odrębnych części ułożonych przypadkowo względem siebie i nietworzących charakterystycznego kształtu cewy.



Rysunek 2.3 Porównanie cew w jelicie normalnym i w stanie zapalnym

Na rysunku 2.3 przedstawiono porównanie wyglądu cew gruczołowych pacjenta zdrowego i chorego. Widać wyraźne różnice w kształcie cew jelita człowieka zdrowego i jelita znajdującego się w stanie zapalnym.



Rysunek 2.4 Zdjęcie mikroskopowe tkanki jelita o powiększeniu 100x

Drugim rodzajem zdjęcia preparatu jest zdjęcie makroskopowe, obejmujące cały preparat i zawierające cewy gruczołowe. Zdjęcie to wykonane jest w powiększeniu stukrotnym i służy tylko do segmentacji i opisanie cew gruczołowych. Przykład takiego zdjęcia przedstawiony został na rysunku 2.4.

2.2 Przygotowanie preparatów

Wszystkie zdjęcia analizowane w pracy pochodzą z tkanek uzyskanych od pacjentów na drodze biopsji, która jest ukazana na rysunku 2.5. Biopsja to pobranie małego wycinka tkanki z wnętrza jelita. Wycinek taki wędruje do laboratorium, w którym poddawany jest obróbce umożliwiającej badanie go pod mikroskopem. Każda wycięta tkanka umieszczana



Rysunek 2.5 Biopsja

jest pod lupą w odpowiednim koszyczku (rysunek 2.6). Koszyczek zbudowany jest z plastiku i służy do umieszczenia preparatu w procesorze tkankowym. Wycięty fragment tkanki



Rysunek 2.6 Lupa tkankowa

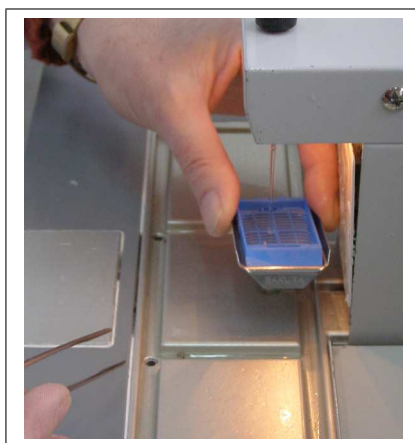
musi być poddany utrwaleniu w procesorze tkankowym (rysunek 2.7). Celem utrwalenia jest zapobieganie autolizie, najczęściej przez denaturację białka (stąd po utrwaleniu materiał jest jałowy i stwardniały). Standardowym utrwalaczem dla tkanek jest 4% roztwór

wodny aldehydu mrówkowego zbuforowany do $\text{pH} = 7.2$ (czyli dziesięcioprocentowa zbuforowana formalina). Dla materiału cytologicznego jest to 70 % roztwór alkoholu etylowego [67].



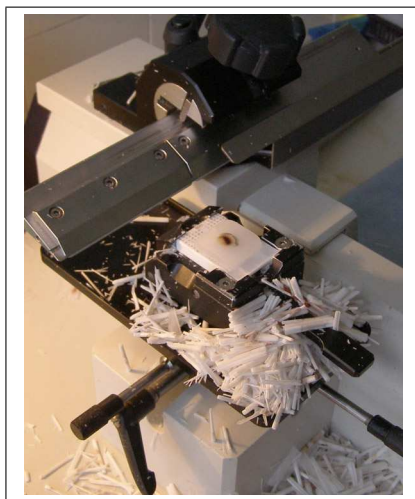
Rysunek 2.7 Procesor tkankowy

Po umieszczeniu tkanki w koszyczku jest on zatapiany w parafinie (rysunek 2.8). Ma to na celu przygotowanie preparatu do cięcia. Po zalaniu koszyczek wraz z tkanką jest chłodzony, co powoduje utwardzenie parafiny. Preparat musi mieć odpowiednią grubość,



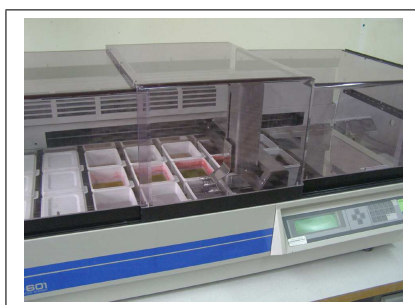
Rysunek 2.8 Zatapianie parafiną

aby mógł być badany pod mikroskopem. Tkanekę zatopioną w parafinie tnę się pod specjalnym urządzeniem zwanym mikrotomem (rysunek 2.9). Ucięty skrawek prostowany jest w wodzie i nakładany na szkiełko. Przygotowany preparat poddaje się chemicznemu bar-



Rysunek 2.9 Cięcie mikrotomem

wieniu (rysunek 2.10). Barwienie jest zależne od rodzaju tkanki i badania. W przypadku preparatów poddanych badaniu w pracy jest to barwienie hematoksyliną i eozyną (najczęściej używane w przygotowaniu większości preparatów). Wybarwiony i umieszczony na



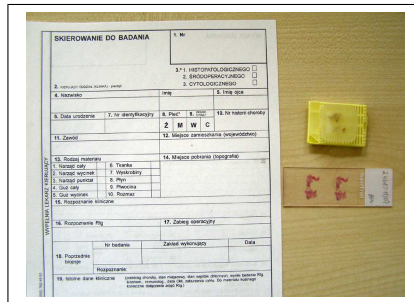
Rysunek 2.10 Barwienie

szkiełku preparat jest na stałe przyklejany taśmą klejącą za pomocą zaklejarki (rysunek 2.11), stanowiąc finalny produkt obróbki. Gotowy preparat (rysunek 2.12) na szkiełku jest opisywany na odpowiedniej karcie. Otrzymuje on numer pacjenta w celach ewidencyjnych. Po badaniach preparat umieszczany jest w archiwum.

Wszystkie szkiełka z preparatami użyte w badaniach niniejszej pracy pobrane zostały z archiwum Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie.



Rysunek 2.11 Zaklejarka



Rysunek 2.12 Gotowy preparat

Rozdział 3

Podstawy analizy morfologicznej i teksturalnej obrazów medycznych

3.1 Wstęp

Morfologia matematyczna została stworzona w latach sześćdziesiątych w Wyższej Szkole Górniczej w Paryżu (Ecole de Mines de Paris) przez G. Matherona i J. Serra. Charakteryzuje się nieliniowym podejściem do przetwarzania obrazu i bazuje na operatorach wyznaczających w sąsiedztwie punktu wartości minimalne i maksymalne [17, 22, 60, 62, 72].

Podstawowe przekształcenia morfologiczne są punktem wyjściowym do przetwarzania obrazu. Ich kombinacje pozwalają na stworzenie złożonych operacji umożliwiających skomplikowane przekształcenia, takie jak analiza kształtu, segmentacja czy analiza wzajemnego położenia różnych elementów danego obrazu [59, 60].

3.2 Reprezentacja binarna obrazu

Przedstawienie obrazu w komputerze jako funkcji ciągłych bądź ich zestawu jest bardzo trudne lub wręcz niemożliwe. Punktem wyjściowym do przekształcania obrazów jest zwykle postać dyskretna. W czasie dyskretyzacji obrazu funkcja ciągła $L(x, y)$ jest zmieniana na macierz $\mathbf{L}(m, n)$, w której m i n oznaczają liczbę wierszy i kolumn. Elementy macierzy zawierają odpowiednie wartości odpowiadające poziomom szarości. Obraz kolorowy jest złożeniem trzech obrazów monochromatycznych RGB (dla barw czerwonej, zielonej i niebieskiej). Stosuje się zwykle dwa sposoby rozmieszczenia dyskretnych wartości obra-

zu [24]:

- siatkę kwadratową
- siatkę heksagonalną.

Druga metoda reprezentacji obrazu dyskretnego jest bardziej zbliżona do naturalnego postrzegania obrazów, ale powoduje znaczne utrudnienia obliczeniowe, stąd najczęściej jest stosowana siatka kwadratowa.

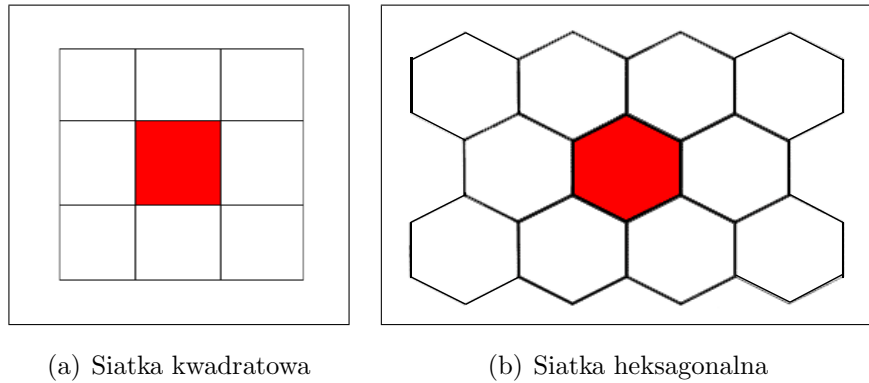
Ważnym parametrem obrazu jest jego rozdzielczość, w obrazach płaskich przedstawiona jako iloczyn liczby elementów podstawowych w poziomie i pionie. W praktyce wybór rozdzielczości jest kompromisem między dokładnością odtwarzania obrazu ciągłego a złożonością obliczeniową. Z jednej strony im wyższa rozdzielczość, tym więcej szczegółów można rozróżnić na obrazie, z drugiej strony powoduje to znaczny wzrost złożoności obliczeniowej i czasu potrzebnego do wykonywania operacji. Najczęściej stosowanymi formatami do odwzorowania kolorów w obrazie są:

- format binarny - najprostszy format zero-jedynkowy. Przechowuje wartość jednego elementu obrazu w jednym bicie (1 bpp);
- format monochromatyczny - (8 bpp). Używa 8 bitów do reprezentacji stopnia szarości piksela. Za pomocą tego formatu można zapisać 256 stopni szarości;
- format kolorowy - w 8 bitach zapisuje nasycenie każdej z trzech barw podstawowych RGB, co oznacza reprezentację 24-bitową. Za pomocą tego formatu można zakodować 16 777 216 kolorów.

W przypadku obrazów medycznych kolor niesie dużą porcję informacji i zwykle obraz jest reprezentowany w trzech kolorach.

3.3 Element strukturalny

Podstawowym pojęciem używanym w przekształceniach morfologicznych jest *element strukturalny* (SE) obrazu. Elementem strukturalnym jest fragment obrazu z wyróżnionym jednym punktem, tak zwanym punktem centralnym. Najczęściej stosuje się element kolisty o promieniu jeden. Przy stosowaniu elementu strukturalnego ważny jest wybór



Rysunek 3.1 Elementy strukturalne oparte na siatce kwadratowej i heksagonalnej

siatki sąsiedztwa - kwadratowej bądź heksagonalnej. Na rysunkach 3.1a i 3.1b przedstawiono dwa rodzaje elementów strukturalnych. W pracy najczęściej stosowano element strukturalny oparty na siatce kwadratowej (rys. 3.1a).

3.4 Erozja

Erozja jest jedną z podstawowych operacji morfologicznych. Definiując tę operację należy zdefiniować obszar X i element strukturalny wraz z punktem środkowym. Figura zerodowana to zbiór środków wszystkich elementów strukturalnych, które w całości zawarte są we wnętrzu obszaru X [63]. Erozję możemy zapisać wzorem:[62]

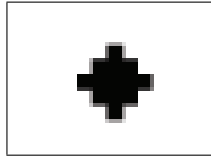
$$\varepsilon_{SE}(X) = \{\mathbf{x} | SE_x \subseteq X\} \quad (3.1)$$

Erozję obrazu binarnego komórek przy pomocy elementu strukturalnego z rysunku 3.2 przedstawia rysunek 3.3. Rysunek 3.3a przedstawia obraz wyjściowy, a rysunek 3.3b obraz wynikowy po operacji erozji. Wyraźnie widoczne jest zmniejszenie zarówno wymiaru, jak i liczby obiektów (obiekty najmniejsze uległy likwidacji). Jak widać na rys. 3.3, operacja erozji może być użytecznym narzędziem przy usuwaniu najmniejszych elementów z obrazu (np. szumu).

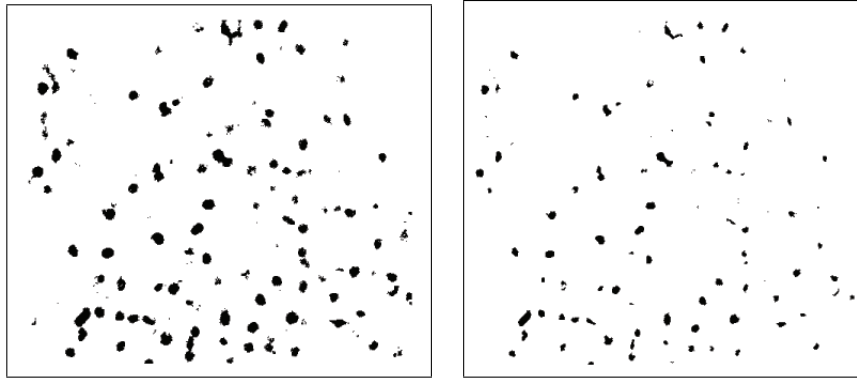
Dla obrazów w skali szarości erozję możemy zdefiniować wzorem:

$$\varepsilon_{SE}(x)|_f = \min f(x + s) \quad (3.2)$$

Erozja posiada następujące cechy:



Rysunek 3.2 Element strukturalny zastosowany w erozji



(a) Obraz przed erozją

(b) Obraz po erozji

Rysunek 3.3 Przykładowe działanie erozji na obrazie binarnym zawierającym komórki

- jest addytywna. Erozja wielokrotna daje wynik odpowiadający wielu powtórzeniom erozji z tym samym elementem strukturalnym;
- ma zdolność eliminacji najmniejszych elementów i wygładzania brzegów figury;
- erozja elementem strukturalnym o podłużnym kształcie pozwala uwypuklić cechy obrazu zorientowane w tym samym kierunku, co element;
- dokonuje generalizacji obrazu, czyli pozostawia największe obiekty na obrazie, usuwając szczegóły;

3.5 Dylatacja

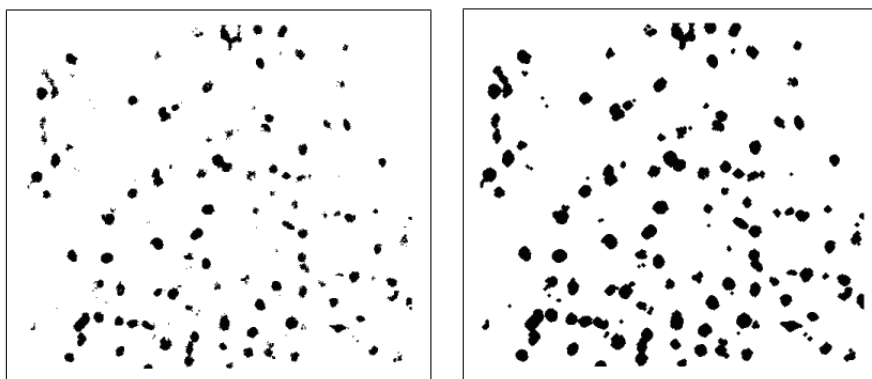
Dylatacja jest operacją odwrotną do erozji. W dylatacji należy zdefiniować obszar X i element strukturalny wraz z punktem środkowym. Figura po dylatacji jest zbiorem środków wszystkich elementów strukturalnych, dla których choć jeden punkt pokrywa się z jakimkolwiek punktem figury wyjściowej. Dylatacja jest opisana wzorem [62]:

$$\delta_{SE}(X) = \{\mathbf{x} | SE_{\mathbf{x}} \cap X \neq \emptyset\} \quad (3.3)$$

Przy reprezentacji obrazu w skali szarości dylatację możemy zdefiniować wzorem:

$$[\delta(f)](x) = \max f(x + s) \quad (3.4)$$

Na rysunku 3.4b przedstawiono wynik dylatacji zastosowanej na obrazie komórek z rys. 3.4a. W wyniku dylatacji nastąpiło zwiększenie obszaru każdej komórki. Komórki położone bardzo blisko siebie uległy połączeniu.



(a) Obraz przed dylatacją

(b) Obraz po dylatacji

Rysunek 3.4 Przykładowe działanie dylatacji na obrazie binarnym zawierającym komórki

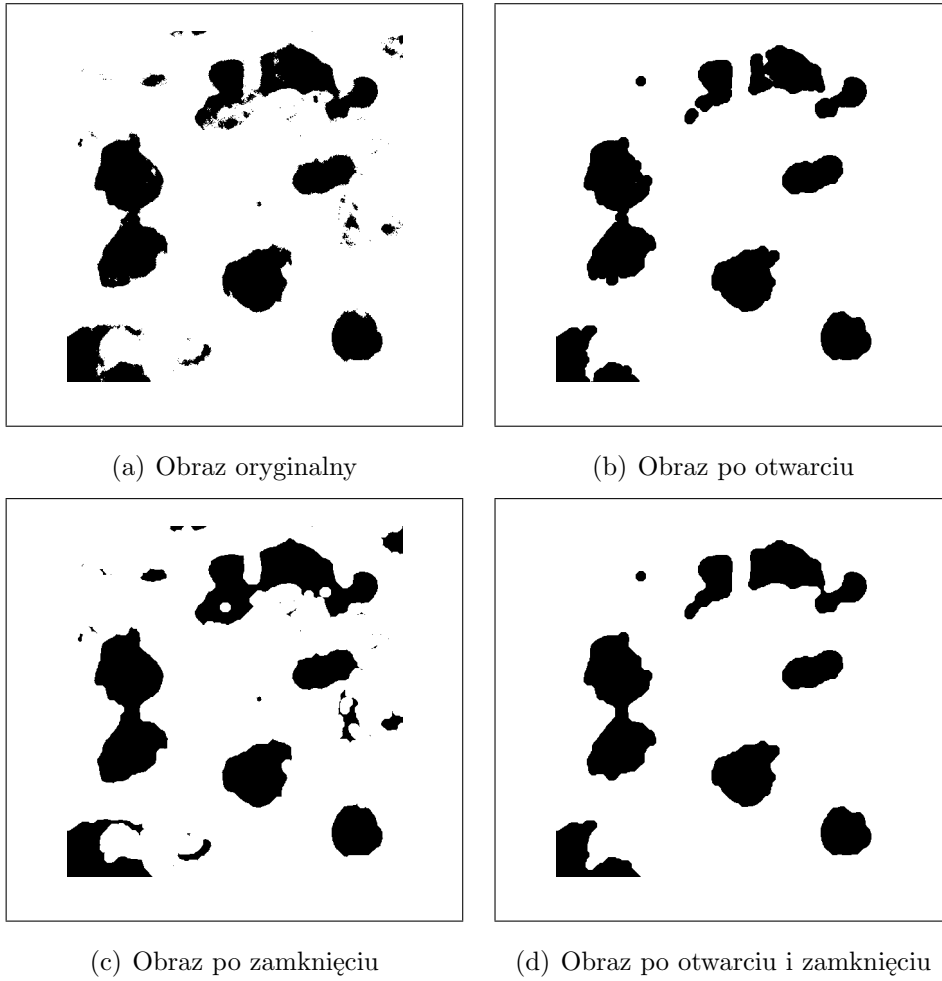
Operacji dylatacji można przypisać następujące cechy:

- zasklepianie małych otworów i zatok w obrazie;
- zwiększanie powierzchni poszczególnych obiektów obrazu;
- połączenie obiektów położonych blisko siebie, co powoduje realne zmniejszenie ich liczby;
- podobnie jak erozja, dylatacja dokonuje generalizacji obrazu.

3.6 Operacje otwarcia i zamknięcia

Zarówno erozja, jak i dylatacja posiadają zasadniczą wadę - zmieniają znacząco rozmiar obrazu. Operacje otwarcia i zamknięcia, podobnie jak erozja i dylatacja, umożliwiają usuwanie bądź powiększanie najmniejszych obiektów obrazu z tą różnicą, że te zachowują podobne rozmiary. Otwarcie i zamknięcie jest złożeniem erozji i dylatacji:

otwarcie = erozja+dylatacja
zamknięcie = dylatacja+erozja



Rysunek 3.5 Otwarcie i zamknięcie na obrazie komórek

Otwarcie dla symetrycznego elementu strukturalnego można opisać wzorem [62]:

$$\gamma_{SE}(X) = \bigcup_x \{SE_x | SE_x \subseteq X\} \quad (3.5)$$

We wzorze (3.5) otwarcie γ jest równoważne sumie takich położeń elementów strukturalnych SE , dla których SE jest zawarte w zbiorze X . Natomiast zamknięcie dla symetrycznego elementu strukturalnego opisać można wzorem: [62]:

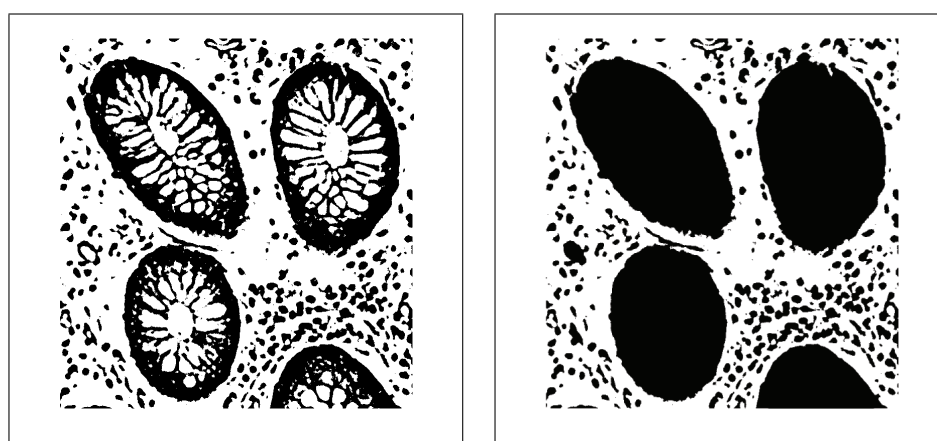
$$\phi_{SE}(X) = \left[\bigcap_x \{SE_x | SE_x \subseteq X^C\} \right]^C \quad (3.6)$$

Zamknięcie ϕ zbioru X jest równoważne otwarciu zbioru komplementarnego do niego, oznaczonego jako X^C . Obie operacje stosuje się przy filtracji nieliniowej obrazu i wygładzaniu jego krawędzi. Oto podstawowe właściwości operacji otwarcia i zamknięcia:

- otwarcie usuwa najmniejsze elementy obrazu, półwyspy i wystające poza główny kontur elementy. Często rozłącza elementy z przewężeniami;
- zamknięcie potrafi wypełniać drobne otwory, zatoki i wąskie wcięcia (stąd zastosowanie w filtracji). Potrafi też łączyć bliskie sobie obiekty w jeden większy twór;
- obie operacje nie zmieniają zasadniczych rozmiarów dużych obiektów;
- obie operacje nie wpływają na kształt obiektów o gładkich brzegach.

Na rysunku 3.5 przedstawiono efekty operacji otwarcia i zamknięcia wykonanych na oryginalnym obrazie pokazanym na rys. 3.5a, przedstawiającym zbiór binarny komórek. Rys. 3.5b przedstawia wynik operacji otwarcia, a rys. 3.5c operacji zamknięcia na obrazie oryginalnym. Obraz na rys. 3.5d przedstawia wynik dwu kolejno po sobie wykonanych operacji otwarcia i zamknięcia. Porównując go z obrazem oryginalnym, można zauważyć efekt filtracji (usunięcia) drobnych elementów, wypełnienie dziur w dużych obiektach oraz wygładzanie brzegów. Zasadnicze wymiary dużych obiektów pozostają takie same jak na obrazie oryginalnym.

3.7 Wypełnianie otworów



(a) Obraz oryginalny

(b) Wypełnione otwory

Rysunek 3.6 Wypełnianie otworów na obrazie zawierającym cewy gruczołowe

Ważnym elementem przetwarzania obrazów medycznych jest wypełnianie dziur i luk istniejących w obrazach oryginalnych. Otwory mogą powstawać na skutek różnych ope-

racji wykonywanych na obrazie, ale są też niejednokrotnie efektem błysków światła przy tworzeniu zdjęcia. Algorytm wypełniania otworów wykorzystano między innymi do wypełniania cew gruczołowych w procesie określania ich parametrów. Algorytm wypełniania otworów składa się z trzech kroków. Są to:

- utworzenie negatywu z obrazu oryginalnego,
- usunięcie brzegów z uzyskanego negatywu - wynikiem są tylko otwory,
- obliczenie sumy logicznej dwóch obrazów - oryginalnego i po usunięciu brzegów.

Na rysunku 3.6 przedstawiono wynik działania algorytmu wypełniania otworów na obrazie przy wydzielaniu cew gruczołowych.

3.8 Progowanie

Istotnym elementem w analizie obrazów jest przejście ze skali szarości do postaci binarnej. Operacja ta nosi nazwę progowania. W najprostszy sposób proces taki można opisać wzorem:

$$B[f(x)] = \begin{cases} 1 & \text{jeśli } t_{min} \leq f(x) \leq t_{max} \\ 0 & \text{w przeciwnym razie} \end{cases} \quad (3.7)$$

Do automatycznego progowania, a więc niewymagającego z góry wartości t_{min} i t_{max} Otsu stworzył w 1979 algorytm progowania działający na zasadzie analizy dyskryminacyjnej. Metoda ta wyznacza automatycznie próg t dzielący piksele na dwie klasy C_1 i C_2 . Oznaczając przez n liczbę pikseli w obrazie, przez L liczbę stopni szarości definiuje się:

$$p_i = \frac{n_i}{n} \quad (3.8)$$

$$\sum_{i=0}^{L-1} p_i = 1 \quad (3.9)$$

p_i - prawdopodobieństwo, z jakim występuje w obrazie piksel o szarości i

n_i - liczba pikseli o jasności i , $i = 0, 1, \dots, L - 1$

n - całkowita liczba pikseli, $n = n_0 + n_1 + \dots + n_{L-1}$

W klasie C_1 znajdują się piksele o jasności $[0...t]$, natomiast w drugiej C_2 piksele o jasności $[t...L - 1]$. Prawdopodobieństwo wystąpienia każdej klasy można obliczyć, korzystając ze wzorów

$$\omega_1(t) = \sum_{i=0}^t p_i \quad (3.10)$$

$$\omega_2(t) = \sum_{i=t+1}^{L-1} p_i \quad (3.11)$$

Średnie jasności pikseli należących do klas C_1 i C_2 przy progu t można wyrazić wzorami

$$\mu_1(t) = \frac{\sum_{i=0}^t i \cdot p_i}{\omega_1(t)} \quad (3.12)$$

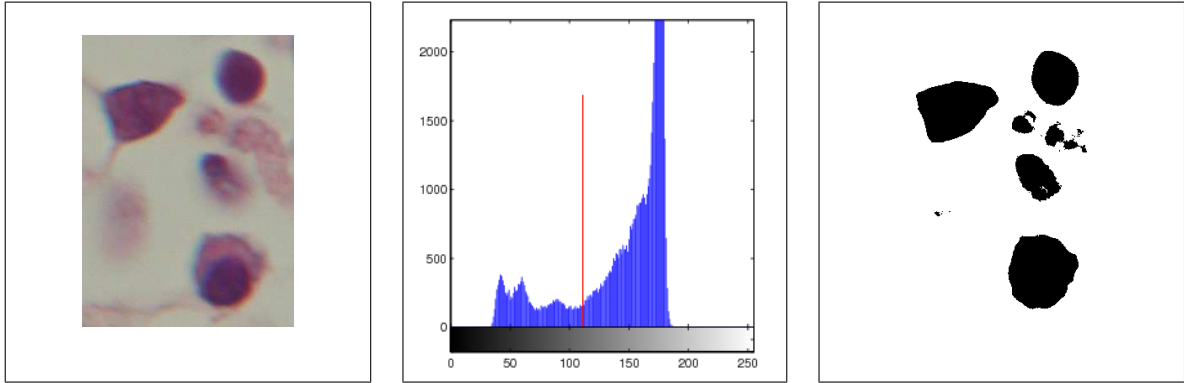
$$\mu_2(t) = \frac{\sum_{i=t+1}^{L-1} i \cdot p_i}{\omega_2(t)} \quad (3.13)$$

natomiast średnia jasność całego obrazu wyrażona jest wzorem

$$\mu_t = \sum_{i=0}^{L-1} i \cdot p_i = \omega_1 \cdot \mu_1 + \omega_2 \cdot \mu_2 \quad (3.14)$$

Wariancję międzyklasową wyznacza się według relacji

$$\sigma_B^2 = \omega_1 \cdot (\mu_1 - \mu_t)^2 + \omega_2 \cdot (\mu_2 - \mu_t)^2 \quad (3.15)$$



(a) Obraz wyjściowy

(b) Histogram

(c) Wynik progowania

Rysunek 3.7 Progowanie metodą Otsu z wyznaczonym automatycznie progiem o wartości $t = 118$

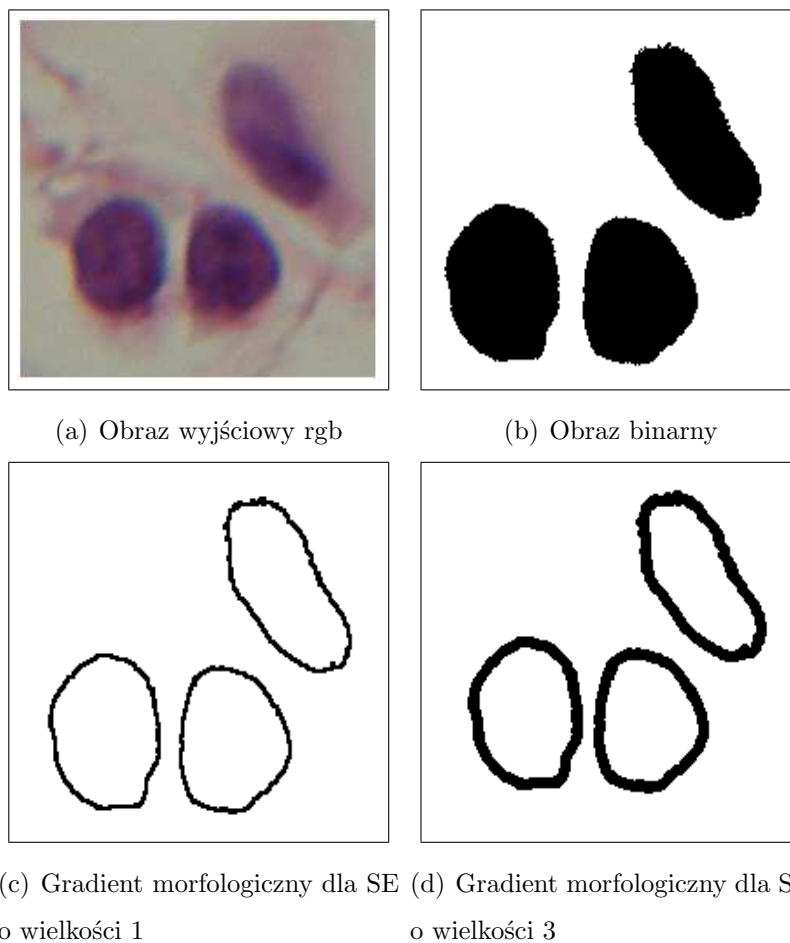
Maksymalna wariancja międzyklasowa oznacza najlepsze odizolowanie dwu klas w obrazie podlegającym binaryzacji. Optymalnym progiem jest taka wartość t , dla której wariancja międzyklasowa jest maksymalna [3, 27, 38, 49], co zapisujemy w postaci

$$t = \text{Arg}\{\text{Max}\{\sigma_B^2\}\} \quad (3.16)$$

Na rys. 3.7 przedstawiono efekt progowania (rys. 3.7c) obrazu komórek (rys. 3.7a) przy zastosowaniu metody Otsu. Rys. 3.7b ilustruje histogram obrazu z zaznaczonym progiem wyznaczonym automatycznie przez wyżej opisany algorytm.

3.9 Gradient morfologiczny

Gradient morfologiczny jest operacją będącą różnicą wyniku erozji i dylatacji.



Rysunek 3.8 Ilustracja wyników działania gradientu morfologicznego

Zapisuje się go (dla obrazów w skali szarości) wzorem:

$$g(f) = \delta(f) - \varepsilon(f) \quad (3.17)$$

Dla obrazów binarnych gradient morfologiczny nosi nazwę konturu i przedstawiony jest wzorem:

$$g(X) = \delta(X) \setminus \varepsilon(X) \quad (3.18)$$

Kontur jest obrysem tych fragmentów obrazu binarnego, które zawierają piksele o wartości równej 1. W pracy użyto gradientu morfologicznego operującego na dylatacji i erozji jednostkowej (działających na jednostkowym elemencie strukturalnym).

Na rys. 3.8a pokazano przykładowy obraz wyjściowy zawierający komórki. Rys.3.8b ilustruje jego postać binarną, a rys. 3.8c i 3.8d pokazują wyniki gradientu morfologicznego - kontury. Wyraźnie widoczne jest, że im większy zastosowany element strukturalny, tym kontur jest grubszy.

3.10 Funkcja odległości

Funkcja odległości określona jest dla obrazów binarnych. Jest przekształceniem morfologicznym stanowiącym podstawę segmentacji obrazu. Dysponując obrazem binarnym (otrzymanym np. za pomocą progowania metodą Otsu), funkcja odległości wyznacza macierz odległości poszczególnych punktów obrazu od tła. Najprościej można ją zdefiniować za pomocą algorytmu [22].

Dopóki \mathbf{K} ulega zmianom, wykonuj następujące operacje:

Dla wszystkich punktów a obrazu \mathbf{I} :

Jeśli $\mathbf{I}(a) \neq 0$ to:

$$\mathbf{K}(a) = \inf \{ \mathbf{I}(b); b \text{ należy do } \mathbf{N}(a) \} + 1$$

$$\mathbf{I} = \mathbf{K}$$

gdzie:

\mathbf{I} - wejściowy obraz binarny i jednocześnie obraz wynikowy w postaci funkcji odległości

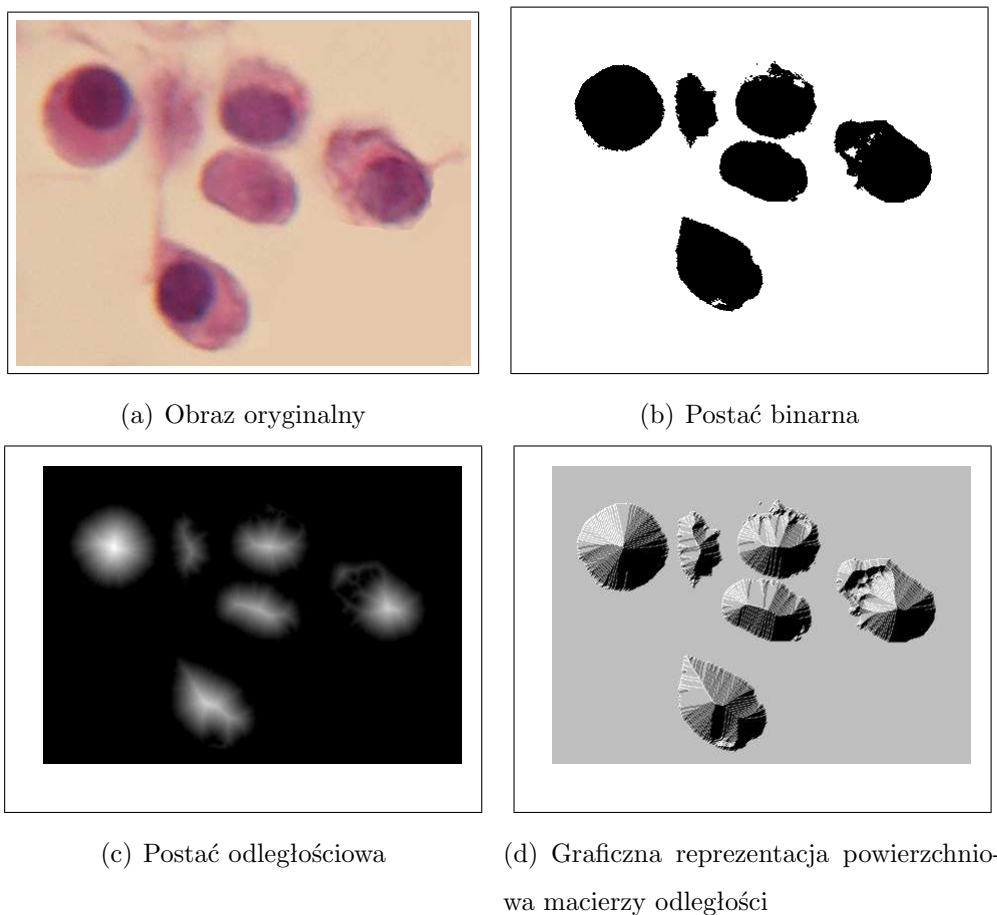
\mathbf{a}, \mathbf{b} - piksele obrazu

$\mathbf{N}(\mathbf{a})$ - najbliższe sąsiedztwo punktu \mathbf{a}

\mathbf{K} - Kopia obrazu \mathbf{I}

Istnieje wiele implementacji algorytmu wyznaczania funkcji odległości (algorytm równoległy, sekwencyjny, kolejkowy). Jednak tego typu zastosowania dla każdego piksela są podatne na zakłócenia i wymagają bardzo dużego nakładu pracy. Lepszą metodą jest wyznaczenie macierzy odległości, posługując się elementem strukturalnym. Wielkość tego elementu określa kolejne strefy odległości, które otrzymuje się poprzez wykonanie erozji obrazu.

Na rysunku 3.9 przedstawiono interpretację graficzną macierzy odległości obrazu ory-



Rysunek 3.9 Ilustracja graficzna postaci odległościowej obrazu komórek

ginalnego (rys. 3.9a). Z obrazu binarnego (rys. 3.9b) wyznaczana jest macierz odległości, której interpretacje graficzne przedstawiają rysunki 3.9c i 3.9d. Wyraźnie widoczne są szczyty w miejscach najbardziej oddalonych od tła.

3.11 Metody segmentacji obrazu

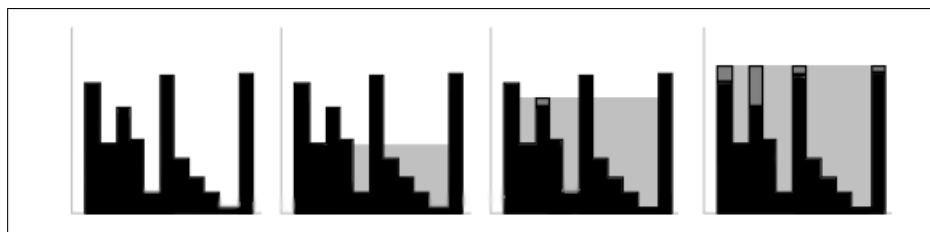
Segmentacja jest procesem polegającym na podzieleniu obrazu na fragmenty, odpowiadające widocznym na obrazie obiektom. Najczęściej po segmentacji następuje proces zwany etykietowaniem, który każdemu fragmentowi przypisuje właściwą etykietę. W pracy segmentacja stanowi podstawowy element przetwarzania obrazu w zadaniach wydzielenia pojedynczych komórek występujących na obrazie o powiększeniu 600x oraz wyodrębnienia cew gruczołowych na obrazie o powiększeniu 100x.

Istnieje wiele metod segmentacji obrazów, w tym statystyczne, działów wodnych, fil-

tracyjne, oparte na transformacji Hougha, z wykorzystaniem modeli Markowa, teksturalne [68]. W pracy zostaną przedstawione trzy z nich - metoda działów wodnych, metoda k-średnich oraz wykorzystanie macierzy Haralicka. Wszystkie te metody znalazły praktyczne zastosowanie w opracowanym systemie w różnych stadiach przetwarzania obrazu.

3.11.1 Metoda działów wodnych

Metoda działów wodnych (cieków wodnych) jest klasyczną metodą segmentacyjną [37]. Operuje na liniach działu wodnego, które rozcinają fragmenty obrazu. Lokalne minima można traktować jako źródła wody wypełniającej zbiorniki wokół tych minimów i zalewającej po kolei następujące po sobie maksima. Sposób działania algorytmu ilustruje rysunek 3.10. Przy zalewaniu poszczególnych maksimów uwidaczniają się linie działowe



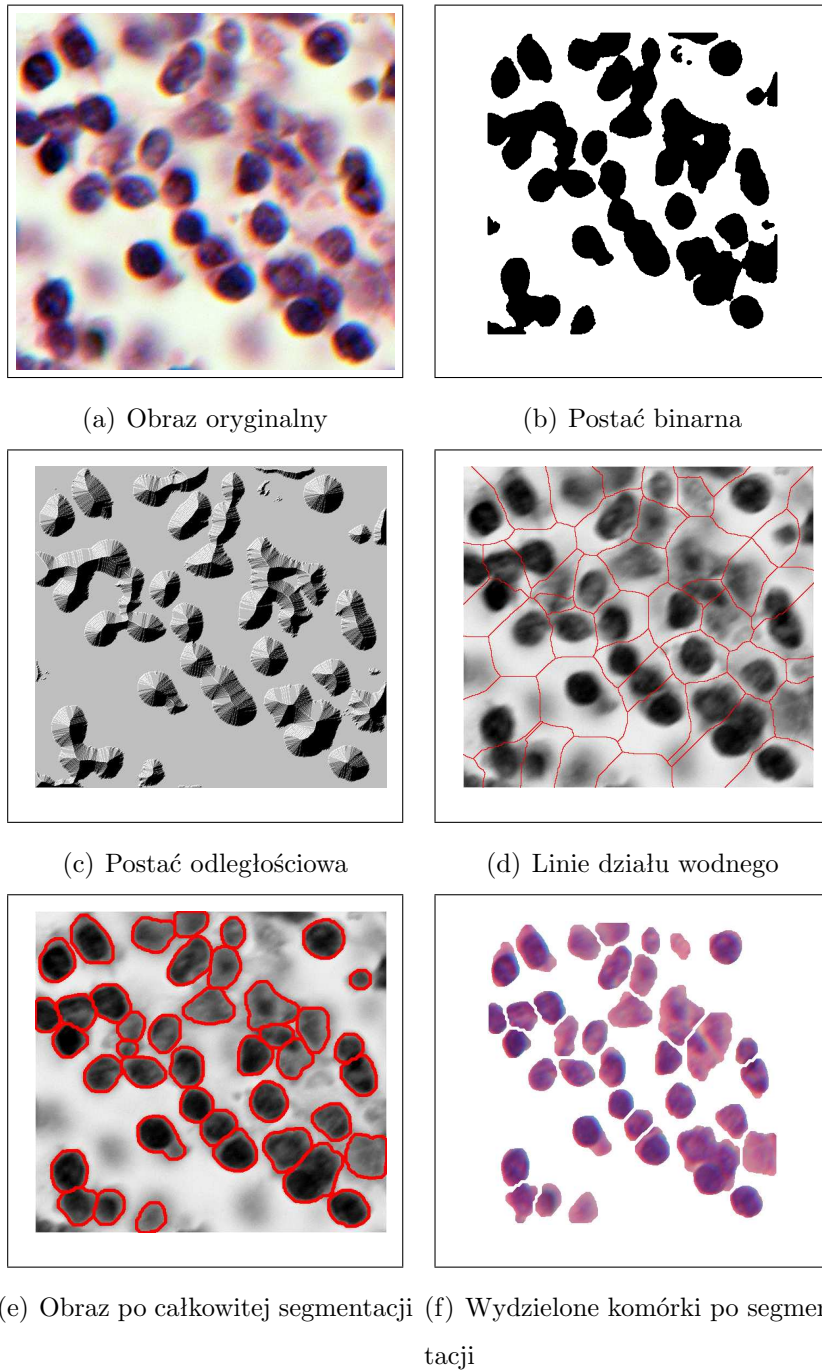
Rysunek 3.10 Ilustracja działania metody działów wodnych

między nimi. Po całkowitym zatopieniu wyznaczają one linię działów wodnych. Algorytm segmentacji poprzez działy wodne można przedstawić w następującej postaci:

- przekształcenie obrazu wyjściowego (rys. 3.11a) z postaci kolorowej na postać poziomów szarości
- przekształcenie obrazu szarociowego na binarny (rys. 3.11b)
- generacja macierzy odległości f dla obrazu o postaci binarnej (rys. 3.11c)
- zastosowanie algorytmu działów wodnych: przyjmując, że macierz odległości f jest obrazem w skali szarości (co przedstawiono na 3.11c), definiuje się zbiory

$$X_0 = \{x : f(x) = 0\} \quad (3.19)$$

$$X_k = \{x : f(x) \leq k\} \quad (3.20)$$



Rysunek 3.11 Działanie algorytmu działów wodnych na obrazie mikroskopowym tkanki jelita

- następujące po sobie zbiory X_k są generowane dla wszystkich odcieni szarości od wartości najmniejszej do największej
- w każdym kroku k rozpatruje się 3 warianty:

- X_k nie zawiera X_{k-1} - oznacza to, że X_k jest minimum lokalnym
- X_k zawiera dokładnie jeden zbiór X_{k-1} - w tej sytuacji zbiornik nie pochodzący od lokalnego minimum nie ulega zmianie bądź staje się większy
- X_k zawiera więcej niż jeden zbiór X_{k-1} - następuje zalanie dwóch zbiorników:

$$X_k = X_k \setminus SKIZ_{X_k}(X_{k-1}) \quad (3.21)$$

- X_{kmax} zawiera linie działów wodnych.
- linie działów wodnych rozcinają obraz na segmenty, w których znajdują się pojedyncze obiekty (rys. 3.11d)

Na rysunkach 3.11e i 3.11f pokazano obrazy z wydzielonymi komórkami. Pierwszy z nich jest obrazem po zastosowaniu operacji gradientu morfologicznego, drugi gotowym wynikiem działania całego algorytmu segmentacyjnego opisanego w dalszej części pracy.

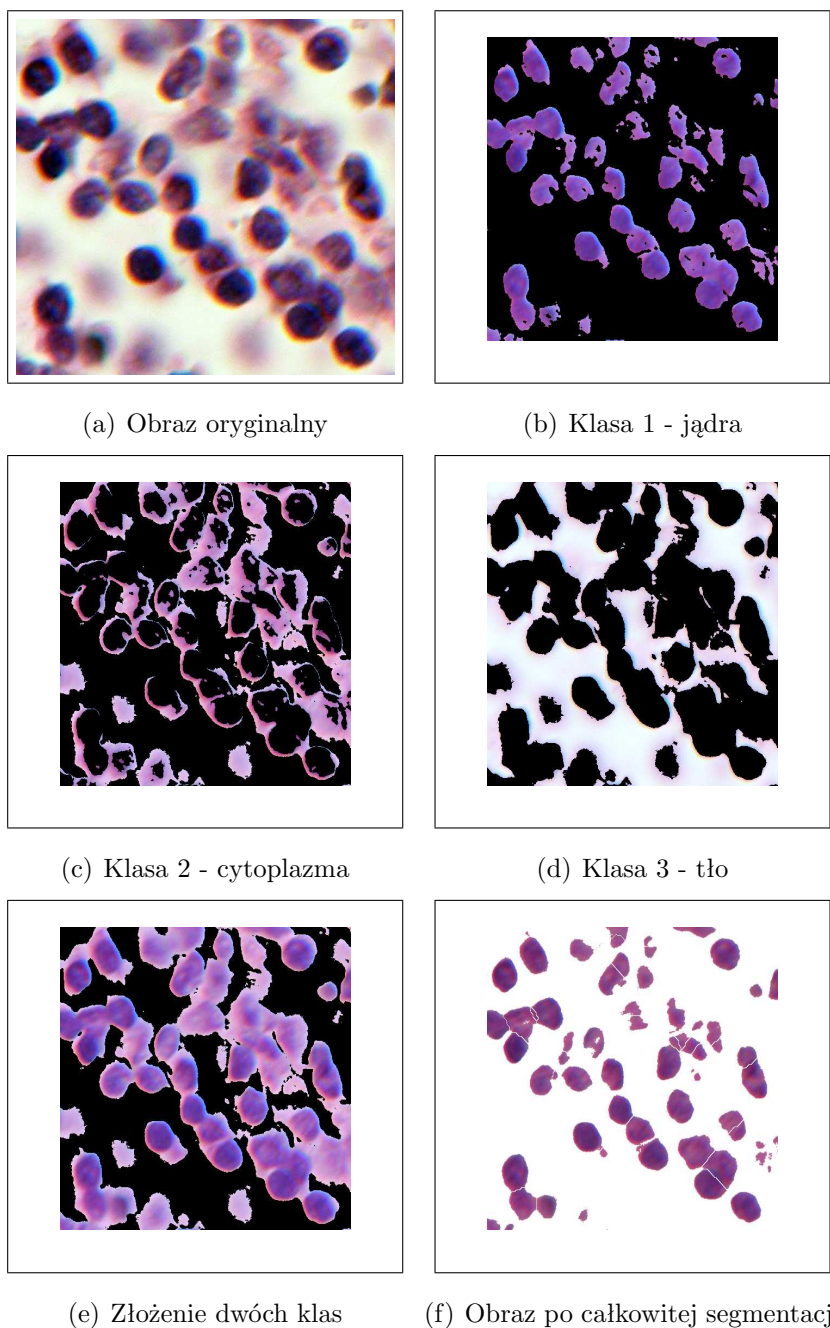
SKIZ (ang. *skeleton by influence zone*) jest przekształceniem zwanym dylatacją bez stykania obszarów, dążącym do rozdzielenia stykających się obszarów. Polega na cyklicznym zastosowaniu operacji erozji, która rozdziela sklezione ze sobą obszary i następnie, aby powrócić do wyjściowej powierzchni, stosuje dylatację unikającą stykania rozdzielonych wcześniej obszarów. Przekształcenie stosuje się wielokrotnie, aż do ustabilizowania się zmian w obrazie.

3.11.2 Segmentacja za pomocą algorytmu k-średnich

Algorytm k-średnich (ang. *k-means*) jest algorytmem grupowania, skupiającym piksele w pewną liczbę klas zwanych klastrami. Kolejne etapy tego algorytmu można przedstawić w następującej postaci:

- przy założonej z góry liczbie klastrów k wybierane jest k punktów możliwie najodleglejszych od siebie, które w tym momencie stają się centrami klastrów;
- następnie dla każdego punktu obrazu sprawdzana jest jego odległość od wszystkich centrów. Punkt jest przypisywany do klastra o najmniejszej odległości. Po przypisaniu go do klastra następuje ponowne określenie centrum tego klastra w postaci średniej z punktów do niego przypisanych (z uwzględnieniem nowo dodanego punktu);

- algorytm działa do momentu zakwalifikowania wszystkich punktów obrazu do k klastrów.



Rysunek 3.12 Działanie algorytmu k -średnich na obrazie mikroskopowym tkanki jelita

Przyjmując wartości poziomów jasności poszczególnych pikseli za wektor wejściowy i zakładając, że liczba klas $k = 3$ (klasa 1 reprezentuje tło, 2 - cytoplazmę, 3 - jądro), algorytm k -średnich może znaleźć proste zastosowanie w segmentacji obrazów. Wynik działania algorytmu, czyli podział obrazu na trzy klasy opisujące przynależne im piksele,

tworzy w efekcie trzy oddzielne obrazy. Dwie klasy o centrach mniejszych od trzeciej (czyli obrazy zawierające piksele ciemniejsze) należy dodać, tworząc jeden obraz wynikowy, a trzecią, jako zawierającą tło, odrzucić. Poszczególne elementy w obrazie wynikowym pozostają dalej niepodzielone. Podziału poszczególnych komórek można dokonać, stosując algorytm działów wodnych. Rysunek 3.12 przedstawia kolejne etapy segmentacji metodą k-średnich: oryginalny obraz wyjściowy (rys. 3.12a), wydzielone klasy: jąder (rys. 3.12b), cytoplazmy (rys. 3.12c), tła (rys. 3.12d), obraz będący złączeniem klasy jąder i cytoplazmy (rys. 3.12e) oraz obraz wynikowy po końcowej segmentacji komórek (rys. 3.12f) po zastosowaniu całego algorytmu segmentacyjnego.

Zaletą takiego postępowania jest uniezależnienie się od naświetlenia obrazu i stopnia wybarwienia.

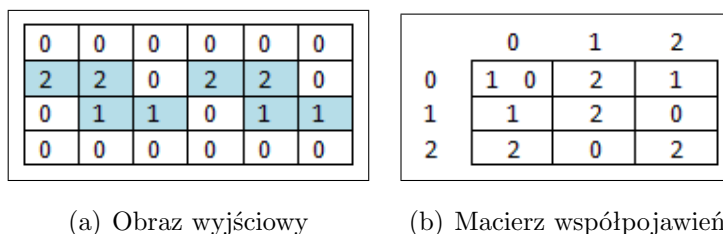
3.11.3 Segmentacja teksturalna

Jeśli w obrazie występują złożone struktury, klasyczne podejście do segmentacji może nie przynieść zamierzonych rezultatów. W pracy przykładem takich złożonych struktur są cewy gruczołowe, które należy wyodrębnić z obrazów o powiększeniu 100x. Dobre rezultaty segmentacji tego typu struktur można uzyskać, stosując metody segmentacji teksturalnej. Istnieje kilka metod takiej segmentacji, z których najważniejsze to metody statystyczne, metody z wykorzystaniem wzorca oraz metoda współczynników momentowych [13, 19].

W pracy zastosowano metodę statystyczną wykorzystującą macierz współjawnień (ang. *co-occurrence matrix*), stosowaną powszechnie w opisie tekstur. Algorytm segmentacji teksturalnej można przedstawić następująco.

- Obraz dzieli się na równe podobrazy o przyjętym z góry rozmiarze.
- Dla każdego podobrazu buduje się macierz współjawnień.
- Dla każdej macierzy współjawnień wyznacza się jej wielkości charakterystyczne zwane współczynnikami Haralicka.
- Na podstawie wyznaczonych współczynników grupuje się podobne obszary przy zastosowaniu na przykład metody k-średnich.
- Pogrupowane obszary przydzielane są do odpowiednich klas, które odpowiadają podobnym sobie teksturom.

Macierz współjawnień \mathbf{C} (zwana również macierzą zdarzeń, przejść, ko-incydencji, histogramu drugiego rzędu) wyraża relacje między wartościami par pikseli. Jest macierzą kwadratową o rozmiarze równym ilości poziomów jasności. Wyznacza się ją dla określonego kierunku i odległości między parami pikseli. Element $C_{a,b}$ macierzy \mathbf{C} powstaje poprzez zliczenie w obrazie wszystkich sąsiadujących par pikseli o kolorach a i b w określonym kierunku. Macierz może być znormalizowana poprzez podzielenie jej przez całkowitą liczbę badanych par pikseli. Najczęściej badanymi kierunkami są 0° , 45° , 90° , 135° . Macierz współjawnień utworzoną z obrazu pokazanego na rysunku 3.13a pokazuje rysunek 3.13b. Kąt, jaki został wybrany, to 0° . Można łatwo zauważyć, że liczba par zawierających dwa sąsiednie elementy o wartości 2 jest równa 2.



Rysunek 3.13 Sposób tworzenia macierzy współjawnień

Podobnie wartość elementu C_{20} jest równa 2, gdyż w obrazie wyjściowym w kierunku poziomym są tylko 2 pary pikseli położonych obok siebie w kolejności 2,0. Na podstawie macierzy \mathbf{C} określa się parametry teksturalne charakteryzujące obraz. Do najważniejszych według Haralicka zaliczają się:

- energia (drugi moment statystyczny kątowny)

$$E = \sum_{a,b} (C_{a,b})^2 \quad (3.22)$$

- kontrast

$$Contrast = \sum_{a,b} ((a - b)^2 \cdot C_{a,b}) \quad (3.23)$$

- korelacja

$$Corr = - \sum_{a,b} \frac{(a - \mu) \cdot (b - \mu)}{\sigma^2} \cdot C_{a,b} \quad (3.24)$$

- wariancja

$$Var = \sum_{a,b} (a - \mu)^2 \cdot C_{a,b} \quad (3.25)$$

- jednorodność (odwrotny moment różnicowy)

$$H = \sum_{a,b} \frac{C_{a,b}}{1 + (a - b)^2} \quad (3.26)$$

- średnia ważona

$$SumAvg = \sum_{k=2}^{2Lg} k \cdot P_{x+y}(k) \quad (3.27)$$

- wariancja ważona

$$SumVar = \sum_{k=2}^{2Lg} (k - SumAvg)^2 \cdot P_{x+y}(k) \quad (3.28)$$

- entropia

$$Entropy = - \sum_{a,b} C_{a,b} \cdot \log(C_{a,b}) \quad (3.29)$$

- entropia ważona

$$SumEntropy = - \sum_{k=2}^{2Lg} P_{x+y}(k) \cdot \log(P_{x+k}(k)) \quad (3.30)$$

- wariancja różnicowa

$$DiffVar = \sum_{k=0}^{Lg-1} k^2 \cdot P_{x-y}(k) \quad (3.31)$$

- entropia różnicowa

$$DiffEntropy = - \sum_{k=0}^{Lg-1} P_{x-y}(k) \cdot \log(P_{x-y}(k)) \quad (3.32)$$

W powyższych wzorach użyto następujących oznaczeń:

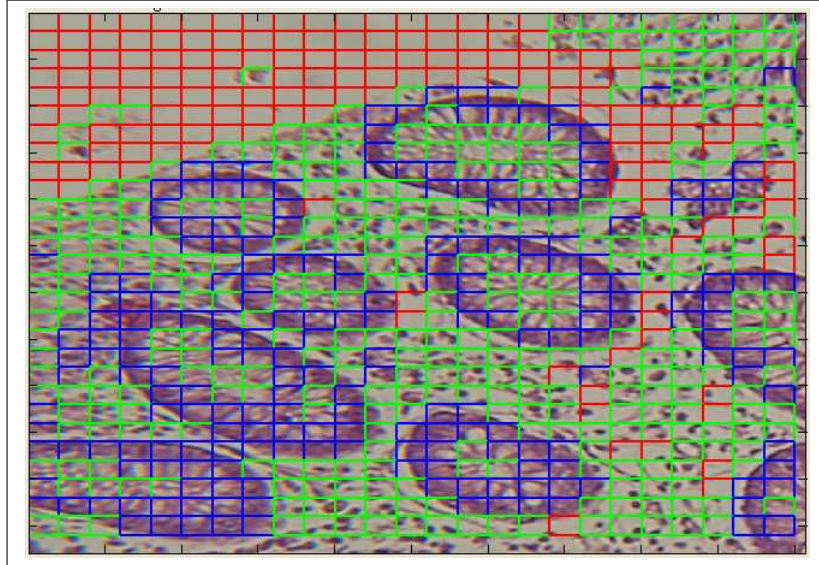
$$\mu = \mu_x = \mu_y = \sum_a \sum_b a C_{a,b} = \sum_b \sum_a b C_{a,b}$$

$$\sigma = \sigma_x = \sigma_y = \sum_a (a - \mu)^2 \cdot \sum_b C_{a,b}$$

$$P_{x+y}(k) = \sum_{a,b|a+b=k} C_{a,b}$$

$$P_{x-y}(k) = \sum_{a,b|a-b=k} C_{a,b}$$

Lg - liczba poziomów jasności Na rysunku 3.14 widoczny jest wynik segmentacji teksturalnej. Obraz podzielony został na fragmenty należące do trzech klas. Fragmenty czerwone reprezentują tło, niebieskie to cewy gruczołowe, natomiast zielone zawierają komórki i artefakty.



Rysunek 3.14 Wynik segmentacji z użyciem cech teksturalnych

3.12 Rekonstrukcja obrazu

Jedną z bardziej znanych i użytecznych operacji geodezyjnych jest rekonstrukcja. Wynikiem jej działania jest odtworzenie obrazu maski na podstawie obrazu ze znacznikami. Powszechne w zastosowaniu są dwa rodzaje rekonstrukcji:

- rekonstrukcja przez dylatację,
- rekonstrukcja przez erozję.

Przy wykonywaniu dylatacji geodezyjnej o rosnących rozmiarach obraz w pewnym momencie przestaje ulegać zmianom. Takie przekształcenie nosi nazwę rekonstrukcji przez dylatację. Wzór (3.33) pokazuje, że rekonstrukcja jest operacją iteracyjną dla kolejnych wartości i

$$R_g(f) = \delta_g^{(i)}(f) \quad (3.33)$$

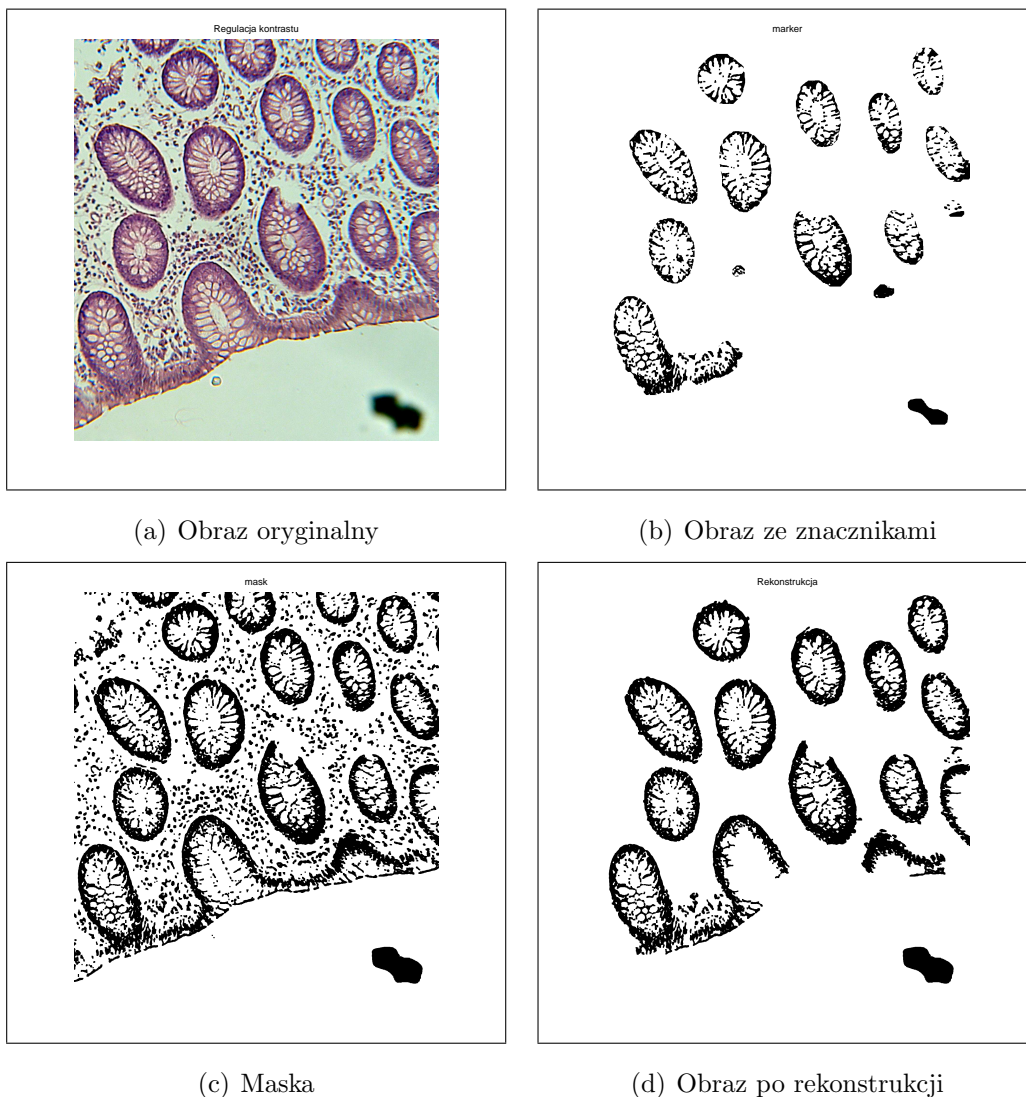
gdzie:

$$i : \delta_g^{(i)}(f) = \delta_g^{(i+1)}(f) \quad (3.34)$$

$R_g(f)$ - jest wynikiem rekonstrukcji przez dylatację

$\delta_g^{(i)}(f)$ - jest dylatacją geodezyjną obrazu f

$g(X)$ - jest maską



(a) Obraz oryginalny

(b) Obraz ze znacznikami

(c) Maska

(d) Obraz po rekonstrukcji

Rysunek 3.15 Poszczególne elementy i wynik operacji rekonstrukcji służącej do segmentacji cew

$f(Y)$ - jest obrazem ze znacznikami

Rekonstrukcja przez erozję może być opisana wzorem:

$$R_g(f) = \varepsilon_g^{(i)}(f) \quad (3.35)$$

gdzie:

$$i : \varepsilon_g^{(i)}(f) = \varepsilon_g^{(i+1)}(f) \quad (3.36)$$

$\varepsilon_g^{(i)}(f)$ - oznacza erozję geodezyjną na obrazie f

Na rysunku 3.15 zilustrowano poszczególne etapy i elementy rekonstrukcji zastosowane do wydzielenia cew. Obraz 3.15a jest obrazem wyjściowym, natomiast obrazy 3.15b i

3.15c to odpowiednio obraz ze znacznikami i maska dla operacji rekonstrukcji. Obraz ze znacznikami i maska powstały w wyniku działania opracowanego przez autora algorytmu wydzielenia cew. Rysunek 3.15d przedstawia wynik operacji - widoczne jest, że operacja rekonstrukcji pozostawia tylko te elementy z obrazu maski, które znajdują się na obrazie ze znacznikami, usuwając pozostałe. Operacja rekonstrukcji znalazła szerokie zastosowanie w pracy, między innymi do wydzielenia cew gruczołowych, jak to pokazano między innymi na rysunku 3.15.

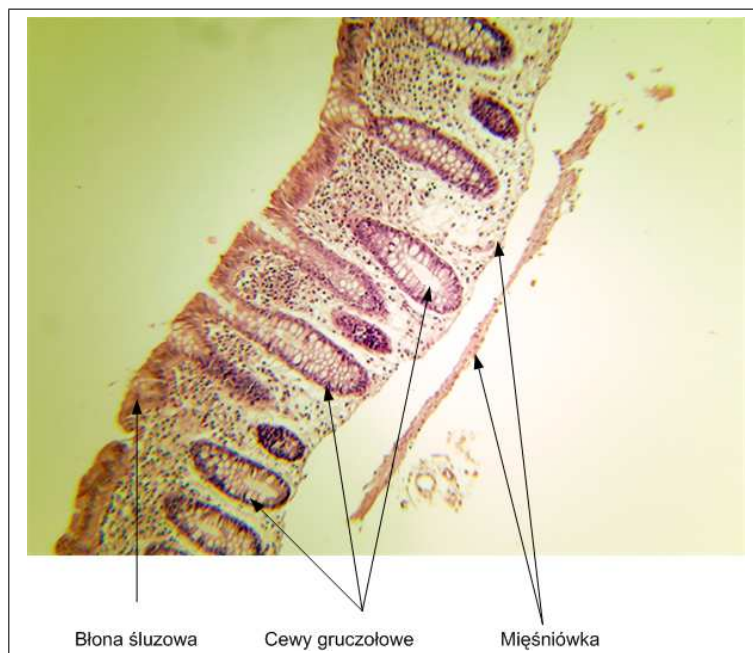
Rozdział 4

Lokalizacja cew gruczołowych i estymacja ich parametrów

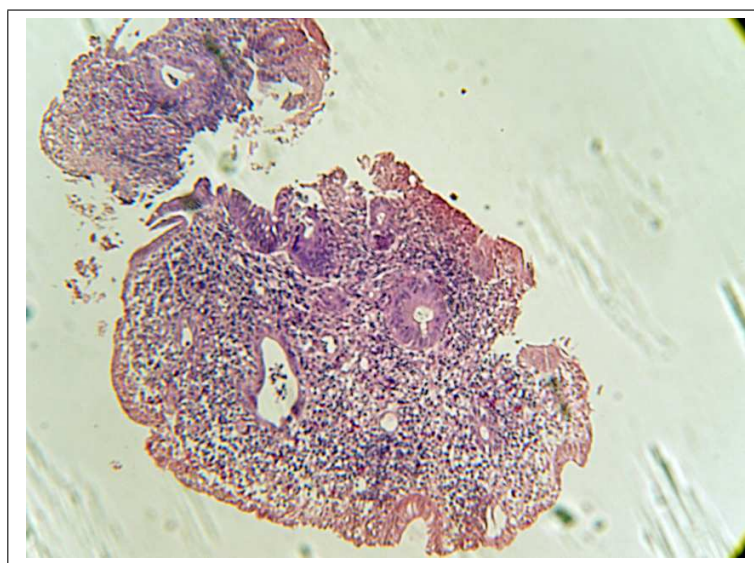
W procesie rozpoznawania stanów zapalnych jelit istotną rolę odgrywa ocena stopnia degradacji struktury cew gruczołowych przez system obronny organizmu. Celem tego fragmentu pracy jest przeprowadzenie pomiarów parametrów cew, które umożliwią lekarzom stwierdzenie, czy poszczególne stany chorobowe różnią się na kolejnych zdjęciach i czy można określić rodzaj choroby tylko na podstawie zdjęcia mikroskopowego, czy też jest ono jedynie dodatkiem do wielu badań diagnostycznych. W tym celu należy wydzielić struktury samych cew, opisać je za pomocą wielkości numerycznych, a w szczególności dokonać pomiaru odległości między najbliższymi cewami.

Dla opracowania metodyki pomiaru parametrów cew niezbędne jest przeprowadzenie kolejnych etapów przetwarzania obrazu tkanki w taki sposób, aby móc wyodrębnić poszczególne cewy, a następnie określić parametry je charakteryzujące. Rysunek 4.1 pokazuje przykładowy obraz mikroskopowy tkanki jelita o powiększeniu 100x. Jest to obraz tkanki człowieka o małym nasileniu stopnia zapalnego.

Obrazy tkanek mogą być bardzo zróżnicowane - od łagodnych zmian zapalnych, aż po ciężkie, które nie pasują praktycznie do żadnego „wzorca”, i w których wyodrębnienie cew jest bardzo trudne. Przykład ciężkiego stanu zapalnego pokazuje rysunek 4.2. Widoczne jest prawie całkowite zniszczenie regularnego kształtu cew. Określenie ich granic w obrazie nawet przez doświadczonego lekarza jest bardzo problematyczne.



Rysunek 4.1 Obraz mikroskopowy jelita o małym stopniu nasilenia stanu zapalnego w powiększeniu 100x



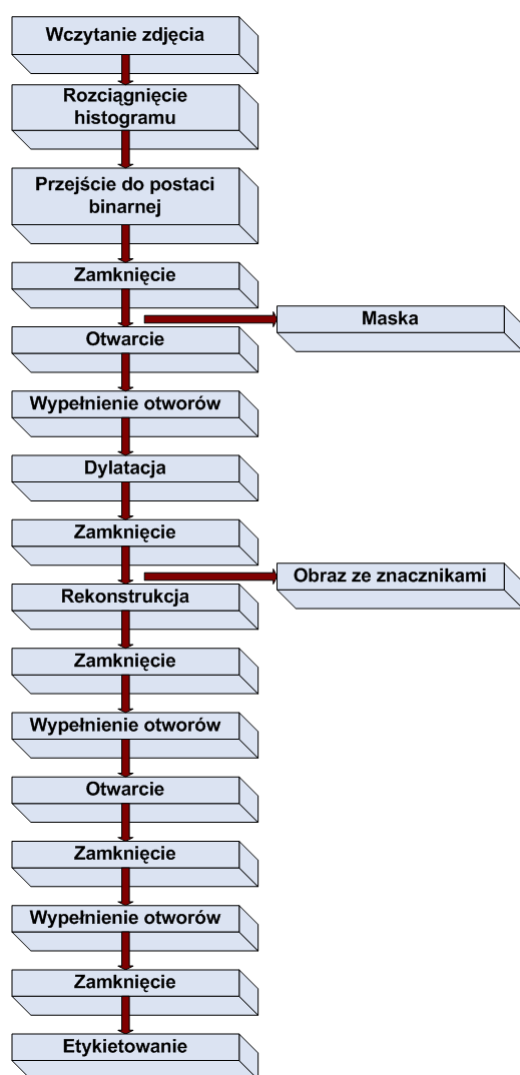
Rysunek 4.2 Obraz mikroskopowy ciężkiego stanu zapalnego tkanki jelita

4.1 Algorytm ekstrakcji cew gruczołowych

W rozprawie analizowano dwa rodzaje algorytmów do segmentacji cew gruczołowych - algorytm na bazie funkcji morfologicznych i algorytm oparty na rozpoznawaniu tekstur (opisany w rozdziale 3). Po analizie otrzymanych wyników zdecydowano się na imple-

mentację algorytmu morfologicznego. Algorytm oparty na rozpoznawaniu tekstur dawał podobne, minimalnie tylko słabsze rezultaty, ale czas jego działania był nieporównywalnie dłuższy, co było przyczyną zaniechania jego używania. Funkcje określające wartości cech teksturalnych z tego algorytmu znalazły zastosowanie przy opisie komórek poprzez cechy diagnostyczne.

Do wyodrębnienia cew gruczołowych opracowano i zaimplementowano w pracy algorytm, którego schemat działania przedstawiono na rysunku 4.3. Po wczytaniu zdjęcia o



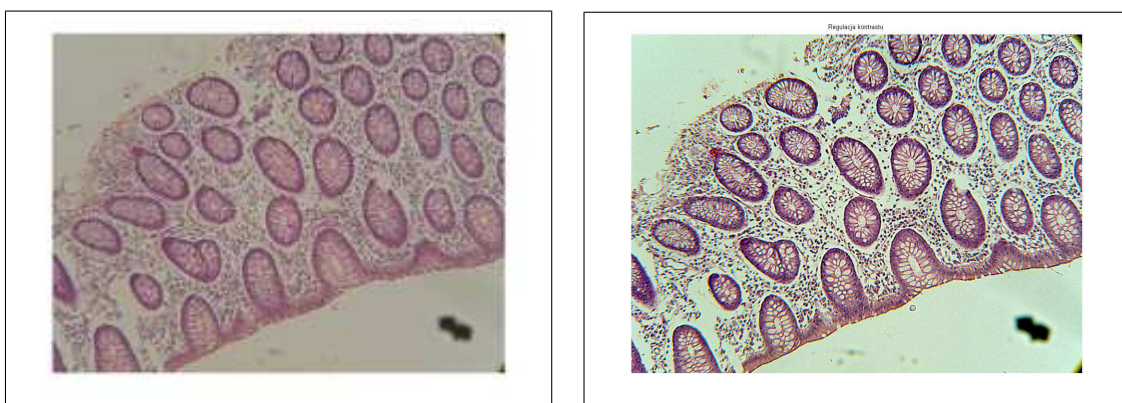
Rysunek 4.3 Zaimplementowany w pracy algorytm ekstrakcji cew

powiększeniu 100x pierwszym krokiem jest rozciągnięcie histogramu. Poprawia to znacznie wyrazistość obrazu. Rozciągnięcie histogramu polega na zmianie wartości jasności

poszczególnych pikseli, co można zapisać wzorem:

$$L'(x, y) = \frac{L - 1}{L_{max} - L_{min}}(L(x, y) - L_{min}) \quad (4.1)$$

w którym $L'(x, y)$ jest nową jasnością piksela na pozycji (x, y) , $L(x, y)$ - oryginalną jasnością, L_{max} - najwyższą wartością jasności piksela, L_{min} - najniższą wartością. Rozciągnięcie histogramu zmienia jasności poszczególnych pikseli, ale nie ma żadnego wpływu na parametry geometryczne, które przy zastosowaniu wyżej opisanej operacji nie ulegają zmianie.



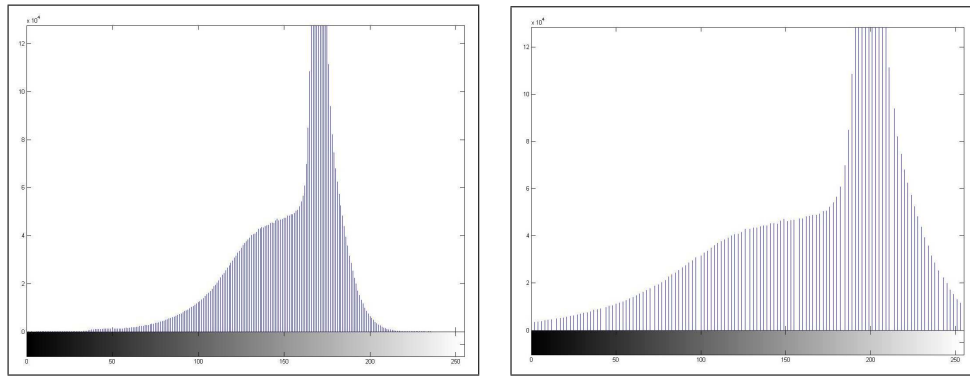
(a) Obraz oryginalny

(b) Obraz po rozciągnięciu histogramu

Rysunek 4.4 Obraz oryginalny tkanki jelita po zastosowaniu operacji rozciągnięcia histogramu

Rysunek 4.4 pokazuje obraz oryginalny i obraz wynikowy powstały w wyniku działania operacji rozciągania. Widoczna jest duża poprawa wyrazistości poszczególnych elementów obrazu. Rysunek 4.5 pokazuje histogram obrazu oryginalnego oraz przetworzonego. W wyniku przeprowadzonego przeskalowania nastąpiło istotne rozciągnięcie szerokości histogramu.

Następnym krokiem algorytmu jest przejście do postaci binarnej obrazu. Progowanie odbywa się za pomocą metody Otsu. Dysponując postacią binarną, można wykonywać odpowiednie operacje morfologiczne: zamknięcie elementem strukturalnym o kształcie dysku (u nas o rozmiarze 3) i otwarcie elementem o takim samym kształcie, lecz większym rozmiarze (u nas o rozmiarze 7). Te dwie operacje mają za zadanie oczyścić obraz z małych obiektów - komórek i artefaktów, które przeszkadzają w procesie segmentacji cew. Tak wstępnie przygotowany obraz poddawany jest operacji wypełnienia otworów, która wy-



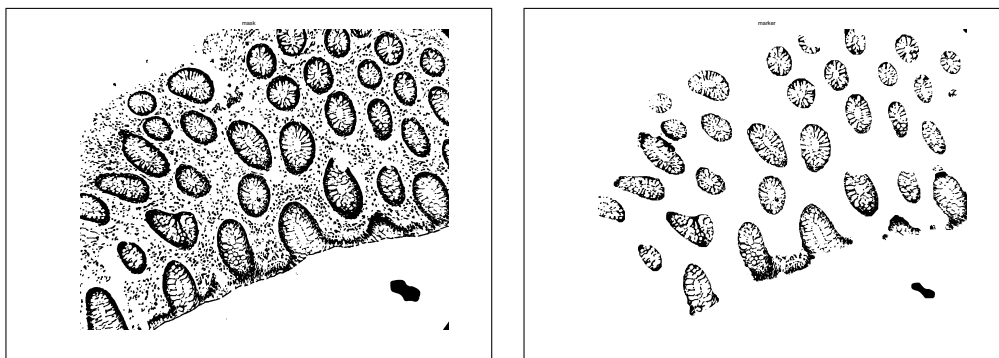
(a) Histogram oryginalny

(b) Histogram po operacji rozciągnięcia

Rysunek 4.5 Histogram obrazu tkanki jelita przed i po użyciu operacji rozciągnięcia

pełnia cewy, tak aby nie były one podatne na operacje usuwające małe obiekty.

Następnym etapem przetwarzania jest rekonstrukcja obrazu. Przygotowane w toku algorytmu dwa obrazy - maska (rys. 4.6a) i obraz ze znacznikami (rys. 4.6b) biorą udział w operacji rekonstrukcji, której wynik przedstawiono na rys. 4.7. Celem rekonstrukcji jest odtworzenie pierwotnych kształtów cewy bez odtwarzania pozostałych komórek i artefaktów. Schemat z rysunku 4.3 pokazuje etapy tworzenia maski i obrazu ze znacznikami. Po ope-



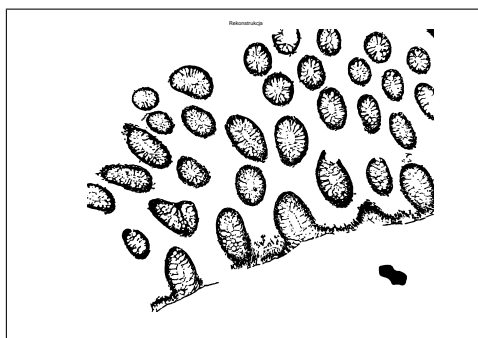
(a) Maska

(b) Obraz ze znacznikami

Rysunek 4.6 Maska i obraz ze znacznikami użyte w operacji rekonstrukcji

racji rekonstrukcji przeprowadzone zostały sekwencyjnie kolejne operacje morfologiczne: zamknięcie, wypełnienie otworów, otwarcie, zamknięcie, wypełnienie otworów, otwarcie. Operacje te mają na celu wyczyszczenie obrazu ze wszelkich komórek i artefaktów. Obraz wynikowy przedstawiono na rysunku 4.8a.

Kończącym etapem algorytmu jest etykietowanie obiektów reprezentujących cewy gru-

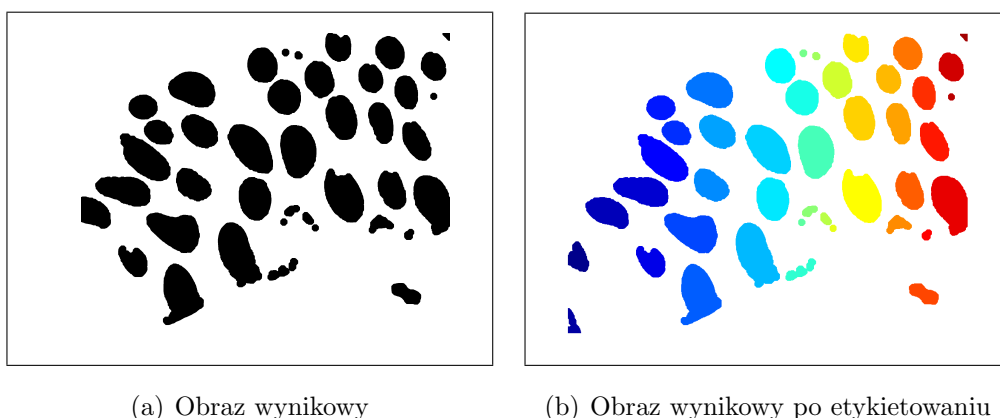


Rysunek 4.7 Obraz tkanki powstały w wyniku rekonstrukcji

czołowe. Poetykietowane cewy gruczołowe są obiektami, które w łatwy sposób można opisać i zidentyfikować poprzez cechy geometryczne.

Etykietowanie jest operacją polegającą na przypisaniu niestykającym się elementom w obrazie binarnym numerów, które je identyfikują. W zwykłym obrazie binarnym reprezentacja obrazu wyrażana jest za pomocą zer i jedynek. W obrazie po operacji etykietowania jedynki zastąpione są liczbami całkowitymi, innymi dla każdego osobnego obiektu. Po przypisaniu każdej liczbie osobnego koloru wynik operacji pokazano na rysunku 4.8b.

Obraz, zawierający wyodrębnione cewy gruczołowe poddane etykietowaniu, jest obrazem wyjściowym dla następnego etapu, jakim jest parametryzacja cew oraz zmierzenie odległości między nimi.



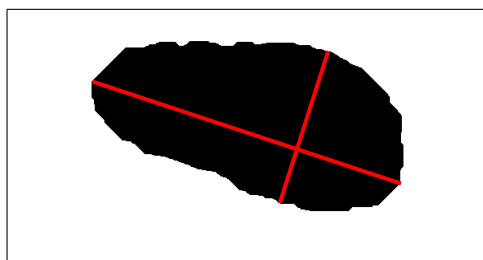
Rysunek 4.8 Obraz wynikowy zawierający cewy gruczołowe przed i po operacji etykietowania

4.2 Parametryzacja cew gruczołowych

Parametry geometryczne cew, określone przez lekarza, mają pomóc w analizie statystycznej danego schorzenia. Zaliczają się do nich:

- powierzchnia rzeczywista - liczba pikseli mieszczących się w obrębie cewy,
- średnica duża - najdłuższa linia łącząca 2 najbardziej skrajne piksele obrazu cewy,
- średnica mała - najdłuższa linia prosta łącząca 2 najbardziej skrajne piksele obrazu cewy, prostopadła do średnicy dużej,
- współczynnik kolistości - stosunek średnicy małej do średnicy dużej,
- obwód rzeczywisty - liczba pikseli mieszczących się w obwodzie obrazu cewy,
- obwód wypukły - długość obwodu wielokąta wypukłego opisanego na obrazie cewy,
- powierzchnia wypukła - liczba pikseli mieszczących się w wielokącie wypukłym opisyującym cewę.

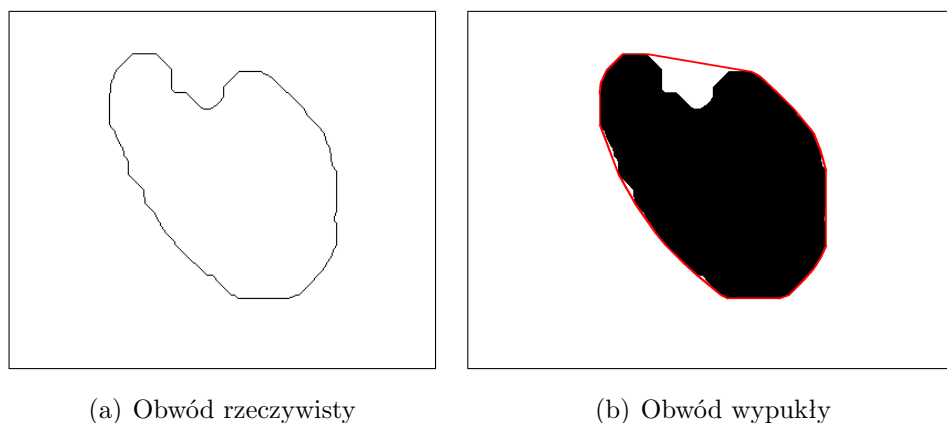
Ponieważ cewy mają w większości przypadków kształty eliptyczne, przyjęto, że można wyznaczyć dla nich średnicę dużą i małą. Na potrzeby pracy do obliczenia długości średnicy dużej i małej opracowano następujący algorytm: wyznaczono najdłuższą linię łączącą dwa najbardziej odległe od siebie piksele. Linia ta reprezentuje średnicę dużą. Następnie wzdłuż tej linii poszukiwano najdłuższej linii prostopadłej łączącej skrajne piksele po dwóch stronach średnicy dużej. Znaleziona linia jest średnicą małą cewy. Średnice dużą i małą obrazuje rysunek 4.9.



Rysunek 4.9 Ilustracja średnicy dużej i małej na obrazie cewy gruczołowej

Na podstawie wyznaczonych długości średnicy dużej i małej wyznacza się współczynnik kolistości jako stosunek długości obu średnic. Im bliższy jest on wartości jeden, tym cewa ma bardziej kolisty kształt.

Ważnymi parametrami cewy dla diagnozy lekarskiej są długości obwodu rzeczywistego i wypukłego. Różnica między nimi wskazuje na „pączkowanie”, czyli rozdwanie się cewy. Na rysunku 4.10 pokazano różnice między obwodem rzeczywistym i wypukłym.



Rysunek 4.10 Ilustracja pojęcia obwodu rzeczywistego i wypukłego

Rysunek 4.10a obrazuje obwód rzeczywisty utworzony przez skrajne piksele, natomiast rysunek 4.10b obwód wypukły. Jest oczywiste, że dla obiektu o kształcie nieregularnym, mocno pofałdowanym, obwód rzeczywisty będzie znacznie większy od wypukłego. Odwrotne zależności dotyczą powierzchni - rzeczywistej i wypukłej. Będzie ona znacznie większa w przypadku obiektów o kształtach nieregularnych (mocno pofałdowanych).

4.3 Algorytm pomiaru odległości

Inną informacją ważną dla lekarza z punktu widzenia diagnostycznego jest odległość pomiędzy najbliższymi cewami. Przy stanie zapalnym odległość ta zwiększa się, ponieważ w podścielisku tkanki pojawia się płyn.

W pracy opracowano i zaimplementowano oryginalny algorytm do pomiaru tych odległości. Ważną wskazówką przy opracowaniu algorytmu było stwierdzenie, że sąsiednie cewy mają bardzo podobną orientację przestrzenną. Na algorytm składają się następujące etapy [31].

- Określenie dużych średnic dla wszystkich cew - pozwala to na znalezienie orientacji przestrzennej cew. Cewy mają zwykle eliptyczny, podłużny kształt, dzięki temu przebieg dużej średnicy pozwala zorientować się, jak względem siebie położone są poszczególne cewy.
- Dla każdej dużej średnicy konstruowane są proste prostopadłe, poczynając od początku średnicy, co 20 pikseli, do jej końca.
- Jeżeli prosta prostopadła przecina dużą średnicę innej cewy, to linię od obrysu jednej cewy do drugiej traktuje się jako linię wchodzącą w skład wyznaczania odległości między nimi. Zazwyczaj takich linii jest wiele, więc wyznacza się wartość średnią i odchylenie standardowe. Odchylenie standardowe pozwala stwierdzić, czy średnia odległość wyznaczona tą metodą jest wartością miarodajną.
- Przy pomiarze odległości bierze się pod uwagę tylko najbliższe sobie cewy, przy czym nie może między nimi leżeć żadna inna.



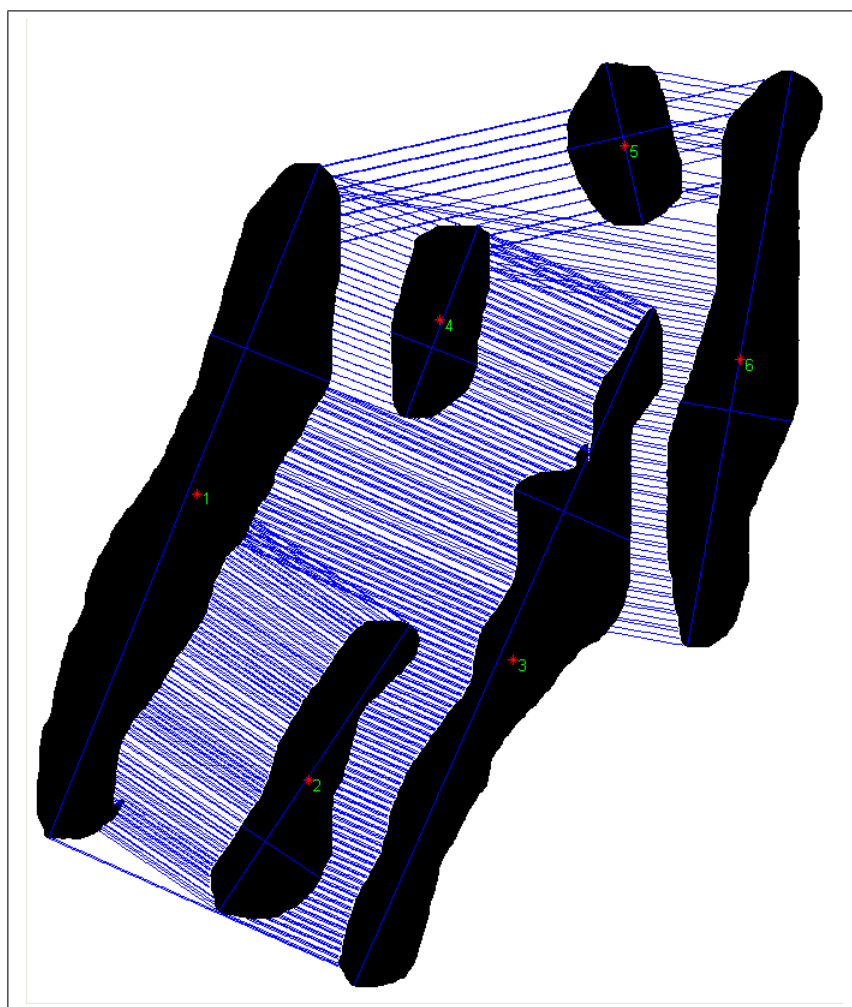
Rysunek 4.11 Obraz wyjściowy tkanki jelita

Działanie algorytmu pomiaru odległości między cewami dla obrazu z rys. 4.11 zilustrowano na rysunku 4.12. Rysunek ten pokazuje 6 wydzielonych przez algorytm cew. Pokazano linie wyznaczające odległość między sąsiednimi cewami, biegnące od jednej dużej średnicy cewy do drugiej. Na rysunku cewy są ponumerowane, ponieważ numeracja ta jest zapisywana w pliku wynikowym.

Tabela 4.1 Wyniki działania algorytmu pomiaru odległości między najbliższymi cewami

Cewy sąsiednie	Odległość	Std.
1-4	127,49	32,2
2-3	103,21	21,1
3-6	69,74	23,5
4-1	127,49	32,7
5-6	102,14	40,2
6-3	69,74	23,4

Tabela 4.1 zawiera przykładowe wyniki działania algorytmu pomiaru odległości między cewami. Zmienna „Odległość” oznacza średnią ze wszystkich mierzonych odległości liczo-



Rysunek 4.12 Działanie algorytmu pomiaru odległości między cewami

nych między sąsiednimi cewami, a „Std.” jest odchyleniem standardowym tych odległości. W wyniku działania algorytmu wyodrębniono 6 par cew, dla których należało określić odległości. Ważne są tylko te pary cew gruczołowych, dla których odległości są najmniejsze, przy czym nie może być pominięta żadna cewa. Tabela 4.2 przedstawia przykładowe war-

Tabela 4.2 Przykładowe wyniki parametryzacji cew gruczołowych

Nazwa	Nr.	Pow. rz.	Pow. wyp.	Śr. d.	Śr. m.	Wsp. kol.	Obw. wyp.	Obw. rz.
P9889xp	1	223917	257517	1270.3	225.2	0.177	2526	3963
	2	73476	86888	602.6	167.2	0.277	1237	1592
	3	165396	228160	1296.0	222.0	0.171	2632	3019
	4	46424	47053	358.9	163.0	0.454	830	815
	5	44015	44188	291.1	186.5	0.640	718	527
	6	151493	173683	1022.3	199.1	0.194	2119	2100

tości parametrów geometrycznych cew wyznaczanych automatycznie przez program dla tkanki jelita przedstawionej na rys. 4.11. W opisie użyto następujących skrótów, używanych przez program:

- Nazwa - specjalny zestaw znaków oznaczających nazwę pliku unikatową dla każdego pacjenta;
- Nr. - numer cewy na rysunku;
- Pow. rz. - powierzchnia rzeczywista cewy (w pikselach);
- Śr. d. - średnica duża cewy gruczołowej (w pikselach);
- Śr.m. - średnica mała cewy gruczołowej (w pikselach);
- Wsp. kol. - współczynnik kolistości;
- Obw. rz. - obwód rzeczywisty (w pikselach);
- Obw. wyp. - obwód wypukły (w pikselach);
- Pow. wyp. - powierzchnia wypukła (w pikselach).

Łatwo zauważyć, że np. cewa numer 3 (rys. 4.12), która ma najbardziej nieregularny, pofałdowany kształt, posiada największą różnicę między powierzchnią rzeczywistą i wypukłą.

Uśrednione pomiary odległości między najbliższymi cewami dla losowo wybranych 10 pacjentów przedstawiono w tabeli 4.3. W opisie tabeli przyjęto następujące oznaczenia:

Tabela 4.3 Uśrednione wyniki pomiaru cew dla 10 przykładowych pacjentów

Nazwa	Pow. rz.	Śr. d.	Śr. m.	Wsp. kol.	Obw. rz.	Obw. wyp.	Pow. wyp.	Odl.	Std.
P10323									
średnia	78198	673	137	0,226	1360	1233	90157	112,49	25,8
std.	31969	216	32	0,089	415	414	38965	83,77	18,25
P10324									
średnia	64138	494	158	0,39	1008	861	70442	103	20,33
std.	43791	271	34	0,168	517	508	55158	88,63	9,75
P10325									
średnia	21267	208	133	0,708	507	377	22115	80,57	12,65
std.	10832	86	18	0,184	154	137	11582	36,13	8,13
P10326									
średnia	37451	318	149	0,512	724	590	39502	92,4	19,96
std.	16423	108	46	0,18	229	218	18490	67	14
P10327									
średnia	44930	393	142	0,4	870	681	52219	76	20
std.	29062	187	26,83	0,11	351	300	38263	25	15
P10328									
średnia	107421	678	214	0,4	1413	1233	130113	133	45
std.	62965	349	31	0,25	697	671	91720	94	37
P10329									
średnia	65434	461	172	0,45	981	839	69290	107	24
std.	46081	266	44	0,17	473	422	50829	53	15
P10330									
średnia	63058	521	152	0,32	1122	997	73250	87	23
std.	32540	216	44	0,11	420	406	39927	50	11
P10331									
średnia	43652	337	162	0,51	749	600	45442	73	17
std.	18175	102	33	0,14	208	178	20695	51	11
P10332									
średnia	41831	348	141	0,48	738	626	43352	69	15
std.	29233	172	30	0,19	321	300	31024	15	9,3

- Odl. - średnia odległość między najbliższymi cewami gruczołowymi;
- std. - odchylenie standardowe ze średniej odległości między cewami.

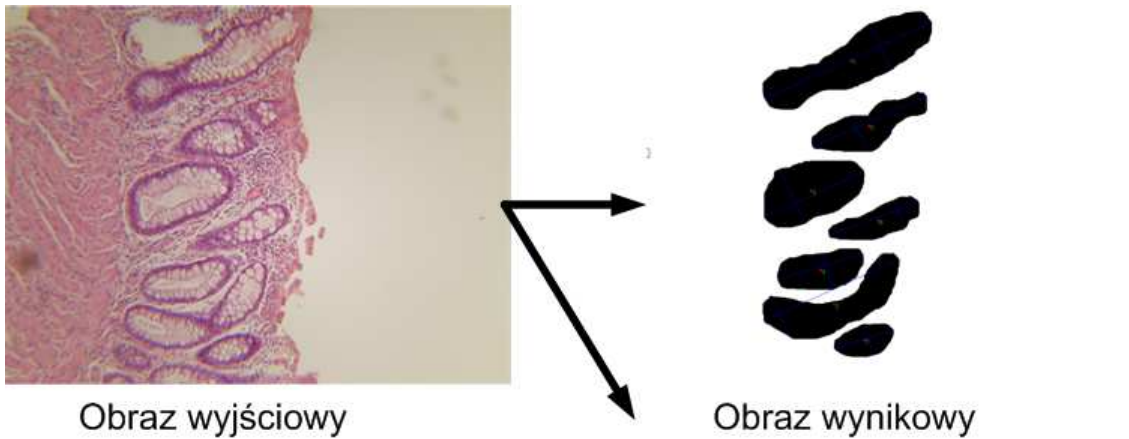
4.4 Analiza wyników działania systemu

W wyniku pracy stworzono komputerowy system, który automatycznie analizuje obrazy tkanek, umożliwiając wykonanie takich czynności jak:

- wczytywanie obrazu tkanki,
- segmentacja cew gruczołowych z obrazu,
- pomiar odległości między sąsiednimi cewami,
- wyznaczanie parametrów geometrycznych cew, wymaganych w diagnozie choroby,
- zapisywanie wyników do pliku wynikowego w Excelu,
- archiwizacja obrazu binarnego wyodrębnionych cew występujących na obrazie.

Jednym z trudniejszych zadań w tej części pracy było stworzenie uniwersalnego algorytmu segmentującego w sposób efektywny cewy. Pożądana byłaby forma algorytmu działającego całkowicie automatycznie, bez ingerencji człowieka. W toku pracy stwierdzono, że budowa całkowicie automatycznego algorytmu segmentacji jest procesem niezwykle złożonym i trudnym ze względu na ogromną różnorodność zdjęć medycznych (różne rodzaje naświetlenia, barwienia, różne nasilenia stanu zapalnego). W wyniku wielu prób zdecydowano się na budowę systemu półautomatycznego - to jest takiego, w którym człowiek ma możliwość ingerencji. Nadzór polega na kontroli wyników segmentacji cew. W celu uniknięcia ewentualnych błędów operator ma możliwość manualnego usuwania pewnych połączeń cew z błoną śluzową. Ponadto przy obrazach o nieco innym barwieniu możliwa jest ręczna regulacja poziomu progowania, połączona z graficznym wyświetlaniem aktualnych wyników.

W pracy przebadano 201 obrazów tkanki jelita o powiększeniu 100x. Dane dotyczyły pacjentów o różnym nasileniu chorób. W wyniku uzyskano 2944 cewy gruczołowe, które zostały wyodrębnione i zmierzone. Na każdym zdjęciu zostały wyodrębnione cewy, następnie ponumerowane i tak przetworzone obrazy zostały zapisane do pliku. Osobno utworzony został plik Excela, w którym zapisano wyniki wszystkich pomiarów. Spośród 201 obrazów 18 dotyczących stanów bardzo ciężkich nie udało się przeanalizować. Cewy



wyniki.xls [Compatibility Mode] - Microsoft Excel

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1891	P439-10xp.tif	16	4772	231.0411	180.7125	0.78217	1130	388	13	130,1187	15	30997	
1892	P439-10xp.tif	17	27830	224.3413	165.614	0.73822	557	380	10	230,4154	10	27901,5	
1893	P439-10xp.tif	18	71977	428.565	275.8043	0.64355	1122	706	12	99,618	42	85062,5	
1894	P440-10xp.tif	1	235075	1056.7956	295.2965	0.27943	2194	1944	5	173,3942	20	267062,5	
1895	P440-10xp.tif	2	160559	854.3378	261.358	0.30592	1940	1572	4	43,00696	24	229509	
1896	P440-10xp.tif	3	167294	632.7093	347.6795	0.54951	1473	1154	5	65,64007	12	169679	
1897	P440-10xp.tif	4	92261	513.1101	220.4926	0.42972	1180	990	2	43,00696	24	94776,5	
1898	P440-10xp.tif	5	112095	717.2419	225.2044	0.31399	1520	1328	3	65,64007	12	127388	
1899	P440-10xp.tif	6	75101	550.9129	177.2005	0.32165	1182	1044	4	56,09304	9	79732	
1900	P440-10xp.tif	7	49846	357.0952	188.5099	0.5279	793	684	2	228,4979	75	50124	
1901	P441-10xp.tif	1	63982	362.1077	238.3464	0.65822	880	588	3	308,116	27	64748,5	

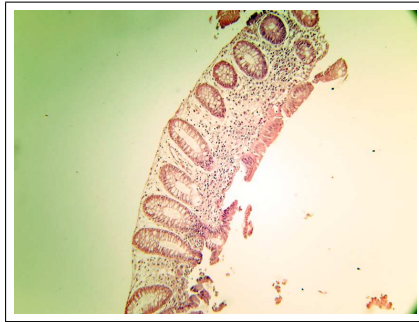
Plik wyniki.xls z wynikami

Rysunek 4.13 Wyniki działania systemu ekstrakcji cew

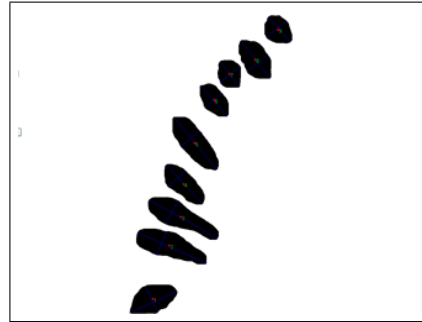
gruczołowe były na nich praktycznie nierozróżnialne od tła, co uniemożliwiało ich segmentację. Również lekarz specjalista nie był w sposób odpowiedzialny ustalić położenia i identyfikacji cew.

W 31 przypadkach potrzebna była interwencja ludzka w pracę systemu. Obrazy, dla których system automatycznie nie był w stanie dokonać poprawnej segmentacji przy automatycznych nastawach, zawierały cewy gruczołowe połączone grubą warstwą błony śluzowej posiadającej budowę bardzo zbliżoną do budowy cewy. Przeszkodą w automatycznej segmentacji były także zdjęcia o innym naświetleniu i bardzo dużym nasileniu stanu zapalnego, gdzie komórki „zbijały” się w jedną masę.

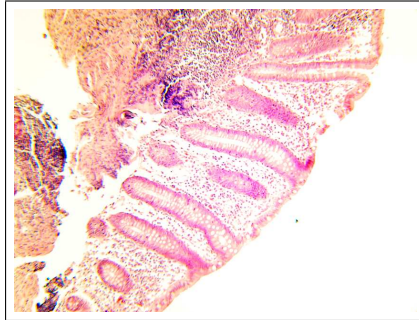
Na rysunku 4.14 przedstawiono przykładowe obrazy podlegające automatycznej segmentacji bez ingerencji człowieka w działanie algorytmu. Cewy są wyraźnie zaznaczone,



(a) P382-10x



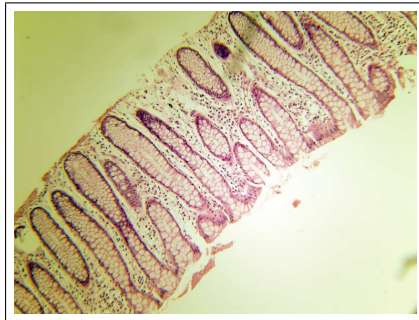
(b) P382-wynik



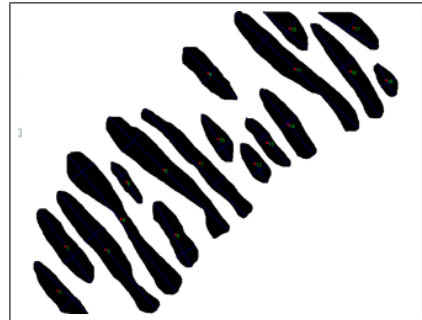
(c) P419-10x



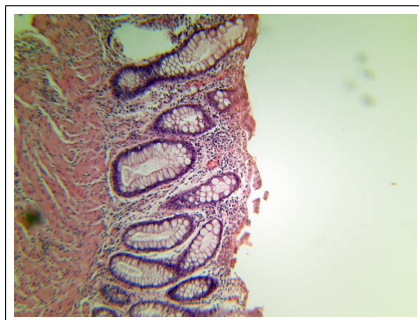
(d) P419-wynik



(e) P605-10x



(f) P605-wynik

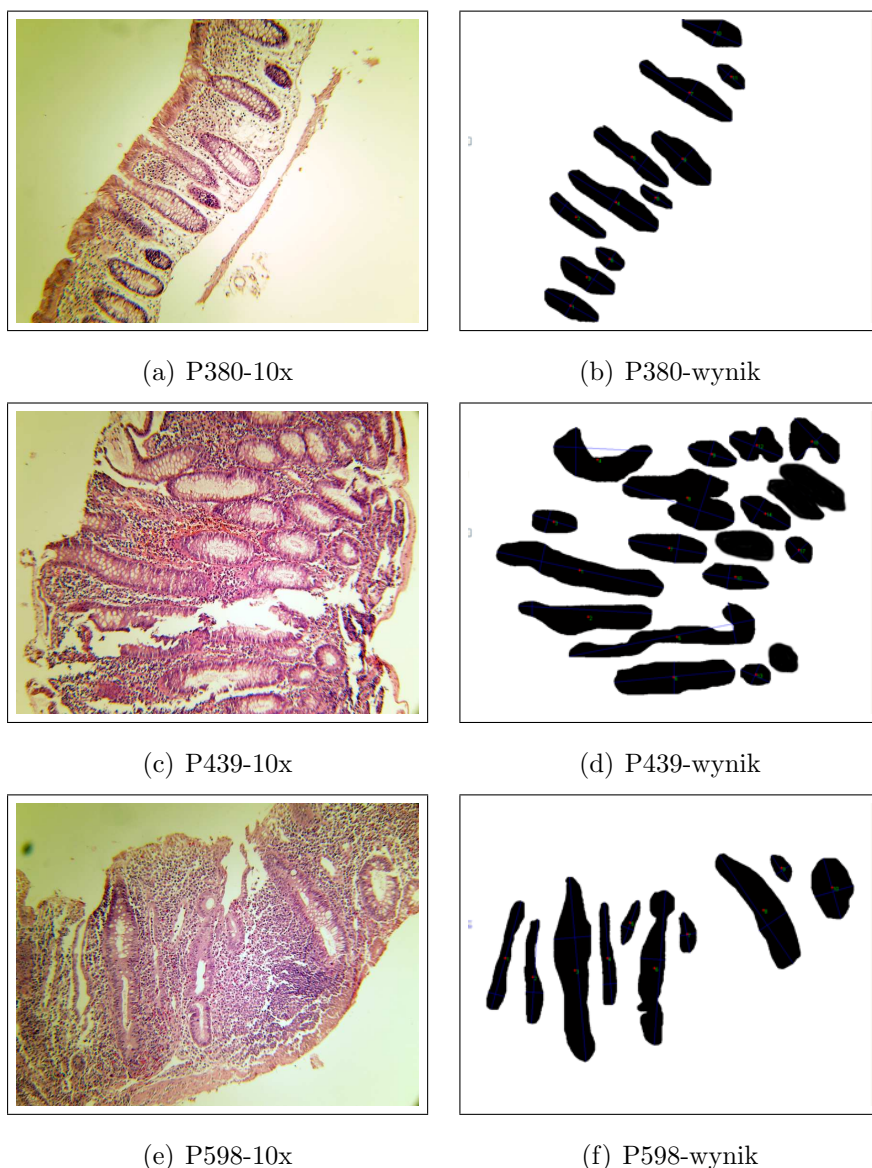


(g) P440-10x



(h) P440-wynik

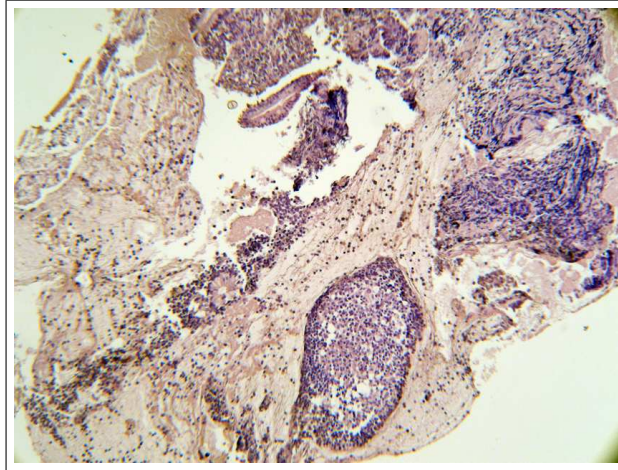
Rysunek 4.14 Przykłady obrazów podlegających segmentacji w pełni automatycznej dla czterech pacjentów: lewa kolumna - obrazy wyjściowe, prawa kolumna - obrazy po wydzieleniu cew



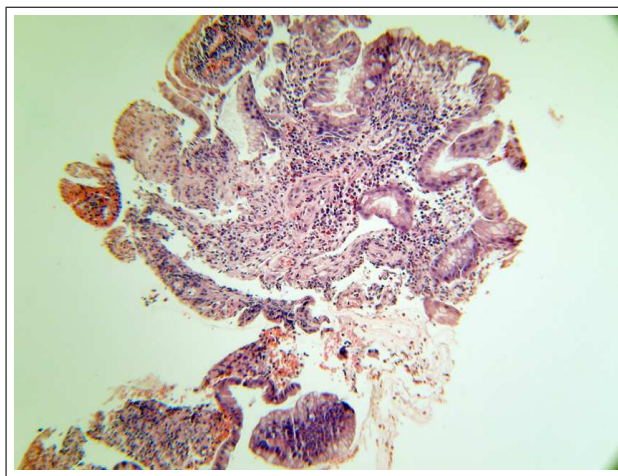
Rysunek 4.15 Przykłady obrazów podlegających segmentacji półautomatycznej dla trzech pacjentów: lewa kolumna - obrazy wyjściowe, prawa kolumna - obrazy po wydzieleniu cew

nie występuje gruba warstwa błony śluzowej, liczba komórek między cewami jest również ograniczona. W pracy przebadano 152 obrazy tego typu, uzyskując poprawne (zdaniem eksperta) wyniki.

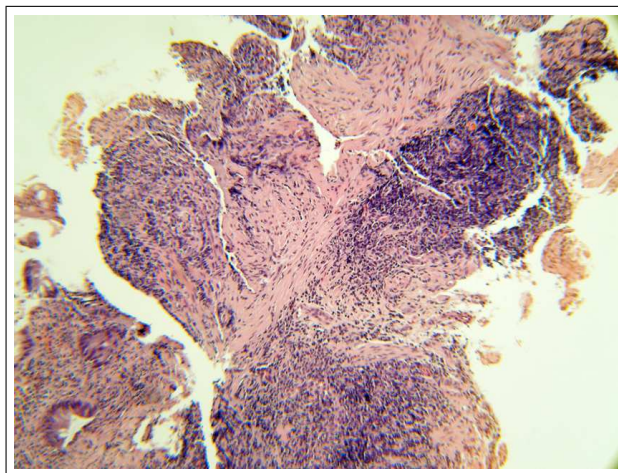
Rysunek 4.15 przedstawia z kolei obrazy, których segmentacja wymagała częściowej interwencji człowieka. W większości wypadków musiało to być ręczne rozcięcie cew przylegających do grubej błony śluzowej (rysunek 4.15a) bądź regulacja wartości progowania (rysunki 4.15c,4.15e).



(a) P2903-10x



(b) P3289-10x



(c) P3904-10x

Rysunek 4.16 Przykłady obrazów, dla których system nie był w stanie dokonać poprawnej segmentacji

Ostatnim typem obrazów przedstawionych na rysunku 4.16 są obrazy niepoddające się segmentacji. Widoczny jest całkowity brak cew gruczołowych bądź cewy w szczątkowej formie. Zadanie to okazało się również bardzo trudne dla eksperta ludzkiego, który nie był w stanie wykonać identyfikacji poszczególnych cew.

Rozdział 5

Narzędzia klasyfikacyjne

W ocenie stanu zapalnego jelita ważną rolę odgrywa identyfikacja komórek obronnych organizmu, występujących pomiędzy cewami. W rozprawie rolę identyfikatora rodzaju komórek spełniają klasyfikatory. Można je podzielić na kilka podstawowych grup: liniowe, wielomianowe, nieliniowe, statystyczne, neuronowe, drzewa decyzyjne.

Należy przy tym zwrócić uwagę, że powyższa klasyfikacja jest stosunkowo mało precyzyjna, gdyż następuje zazębianie się różnych typów klasyfikatorów ze sobą. Na przykład klasyfikatory neuronowe posiadają cechy zarówno klasyfikatorów nieliniowych, jak i statystycznych. W pracy zastosowano pięć różnych klasyfikatorów tworzących tak zwany zespół klasyfikatorów. Należą do nich:

- perceptron wielowarstwowy (MLP),
- sieć radialna RBF (RBF),
- Support Vector Machine (SVM),
- liniowy dyskryminator Fishera (FLD),
- klasyfikator k-sąsiadów (KNN).

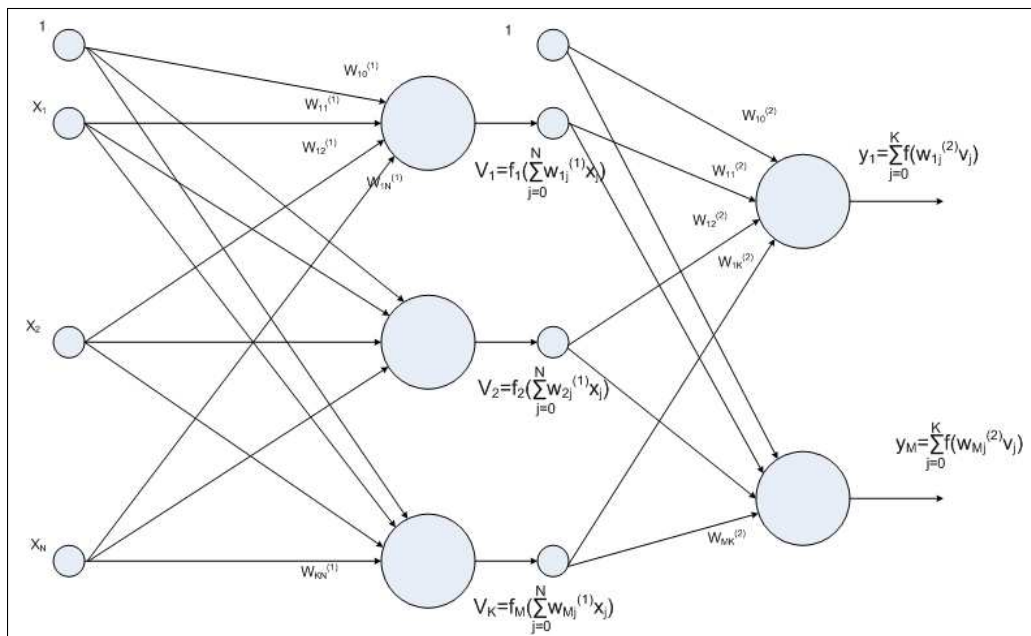
Klasyfikatory te połączono w zespół klasyfikatorów, zintegrowany w jeden system o wydajności wyższej niż najlepszy z klasyfikatorów indywidualnych.

5.1 Klasyfikator perceptronowy

Perceptron wielowarstwowy (MLP) jest siecią, którą tworzą neurony ułożone w wielu warstwach, przy czym prócz warstwy wejściowej i wyjściowej istnieje przynajmniej jedna warstwa ukryta [48]. Funkcja aktywacji $f(u)$ neuronów jest w postaci sigmoidalnej (unipolarnej lub bipolarnej). Oznaczając przez \mathbf{x} wektor wejściowy sieci, przez $\mathbf{y}(\mathbf{x})$ związany z nim wektor aktualnych odpowiedzi i przez \mathbf{d} wektor wartości zadanych, definiuje się cel uczenia jako dobór wag wszystkich warstw sieci \mathbf{w} , gwarantujący najlepsze dopasowanie aktualnych odpowiedzi $\mathbf{y}(\mathbf{x})$ do wartości zadanych \mathbf{d} w całym zbiorze uczącym. Przy założeniu sieci MLP o jednej warstwie ukrytej (jak na rysunku 5.1), uczenie sieci sprowadza się do minimalizacji wartości funkcji celu, którą definiuje się w postaci

$$\min_{\mathbf{w}} E(\mathbf{w}) = \sum_{i=1}^p \|\mathbf{y}(\mathbf{w}, \mathbf{x}_i) - \mathbf{d}(\mathbf{x}_i)\|^2 \quad (5.1)$$

We wzorze tym p oznacza liczbę par uczących $(\mathbf{x}_i, \mathbf{d}_i)$, przy czym $\mathbf{x} \in R^N$, $\mathbf{y} \in R^M$, $\mathbf{d} \in R^M$, N - liczba wejść, M - liczba wyjść sieci. Najskuteczniejsze algorytmy uczenia sieci MLP stosują metody gradientowe optymalizacji (metoda Lavenberga-Marquarda, zmiennej metryki, gradientów sprzężonych). Do generacji wektora gradientu używa się metody propagacji wstecznej. Dobór wag sieci w trybie uczenia odbywa się na zbiorze



Rysunek 5.1 Schemat sieci dwuwarstwowej MLP

uczącym, jednak główne działanie sieci to tryb odtwarzania, w którym przy ustalonej

wartości wag podaje się na wejście sygnały \mathbf{x} niewchodzące w skład zbioru uczącego. Głównym celem uczenia sieci jest taka adaptacja wag, aby na podstawie zbioru uczącego sieć była w stanie odtworzyć cechy charakterystyczne procesu podlegającego modelowaniu. Wytrenowana sieć przenosi więc swoją wiedzę na dane testujące, które nie podlegały uczeniu. W celu uzyskania dobrych wyników generalizacji proces uczenia powinien spełniać warunki:

- dane uczące powinny być reprezentatywne dla procesu. Ich liczba powinna być znacznie większa od liczby dobieranych parametrów;
- struktura sieci powinna być jak najprostsza, o możliwie najmniejszej liczbie wag, ale gwarantująca satysfakcjonujące wyniki uczenia;
- proces uczenia powinien odbywać się przy zastosowaniu efektywnego algorytmu uczącego i trwać skończony okres czasu.

Błąd średni $E(\mathbf{w})$ odtworzenia danych na zbiorze $(\mathbf{x}_i, \mathbf{d}_i)$ uczącym bądź testującym może być interpretowany jako wartość oczekiwana różnicy między wartością aktualną funkcji $\mathbf{y}(\mathbf{x}_i)$ dla określonego wyjścia sieci, a wartością zadaną \mathbf{d}_i . Może być on rozdzielony na część odpowiadającą obciążeniu $B(\mathbf{w})$ oraz wariancji $V(\mathbf{w})$ [20]:

$$E(\mathbf{w}) = B^2(\mathbf{w}) + V(\mathbf{w}) \quad (5.2)$$

gdzie:

$$B(\mathbf{w}) = E[f(\mathbf{x}, \mathbf{w})] - E[d(\mathbf{x})]$$

$$V(\mathbf{w}) = E[(f(\mathbf{x}, \mathbf{w}) - E[f(\mathbf{x}, \mathbf{w})])^2]$$

Obciążenie $B(\mathbf{w})$ wyraża niezdolność sieci do dokładnej aproksymacji funkcji zadanej \mathbf{d} i może być uważane za błąd aproksymacji. Składnik $V(\mathbf{w})$ jest wariancją funkcji aproksymującej $f(\mathbf{x}, \mathbf{w})$ mierzoną na zbiorze danych $(\mathbf{x}_i, \mathbf{d}_i)$. Wyraża sobą nieadekwatność informacji zawartej w zbiorze danych uczących w stosunku do rzeczywistej funkcji \mathbf{d} i może być uważana za błąd estymacji. Przy określonej wartości błędu średniokwadratowego małe obciążenie musi być okupione zwiększoną wariancją. W praktyce przyjmuje się, że sieć MLP potrafi dobrze generalizować, jeśli liczba danych uczących jest wielokrotnie większa od liczby wag zastosowanych w sieci.

W zadaniu klasyfikacji wektor wartości zadanych \mathbf{d} zawiera numery klas dla poszczególnych danych uczących, a wektor wyjściowy \mathbf{y} wskazuje, do jakiej klasy przyporządkowa-

ny jest aktualnie testowany wzorzec \mathbf{x} . Kodowanie klas jest binarne. Na etapie testowania wektor wejściowy \mathbf{x} jest przypisany do klasy reprezentowanej przez neuron o najwyższej wartości sygnału wyjściowego. Możliwe jest istnienie minimalnego progu, poniżej którego żaden neuron nie zwycięży (brak przynależności do wybranych klas).

5.2 Klasyfikator oparty na sieci RBF

W odróżnieniu od sieci MLP sieć radialna RBF stosuje lokalną funkcję aktywacji neuronów najczęściej w postaci funkcji gaussowskiej [5, 48]. Z definicji jest siecią zawierającą jedną warstwę ukrytą neuronów radialnych. Neuron radialny w odróżnieniu od neuronu sigmoidalnego ma działanie lokalne (niezerowa odpowiedź jedynie w otoczeniu centrum funkcji gaussowskiej). Sieć działa na zasadzie wielowymiarowej aproksymacji przez złożenie lokalnych odpowiedzi neuronów ukrytych. Przy ograniczeniu się do K funkcji bazowych rozwiązanie aproksymujące można przedstawić w postaci:

$$F(\mathbf{x}) = \sum_{i=1}^K \mathbf{w}_i \cdot \varphi(\|\mathbf{x} - \mathbf{c}_i\|) \quad (5.3)$$

gdzie $K < p$, a \mathbf{c}_i ($i = 1, 2, \dots, K$) jest zbiorem centrów funkcji gaussowskich, które należy wyznaczyć w procesie uczenia.

Zadanie aproksymacji polega na dobraniu odpowiedniej liczby oraz parametrów funkcji radialnych $\varphi(\|\mathbf{x} - \mathbf{c}_i\|)$ i takim doborze wag \mathbf{w}_i , aby rozwiązanie (5.3) najlepiej przybliżyło rozwiązanie dokładne. Problem doboru parametrów funkcji radialnych oraz wartości wag \mathbf{w}_i sieci można zatem sprowadzić do minimalizacji funkcji celu, którą przy wykorzystaniu normy euklidesowej daje się zapisać w postaci

$$E = \sum_{i=1}^p \left[\sum_{j=1}^K \mathbf{w}_j \varphi(\|\mathbf{x}_i - \mathbf{c}_j\|) - \mathbf{d}_i \right]^2 \quad (5.4)$$

W równaniu tym K reprezentuje liczbę neuronów radialnych, natomiast p liczbę par uczących (\mathbf{x}_i, d_i) , gdzie \mathbf{x}_i jest wektorem wejściowym, a d_i - odpowiadającą mu wielkością zadaną. Można przyjąć $\mathbf{d} = [d_1, d_2, \dots, d_p]^T$ jako wektor wielkości zadanych na wyjściu dla wszystkich danych uczących, $\mathbf{w} = [w_0, w_1, \dots, w_K]$ jako wektor wag sieci z uwzględnieniem

polaryzacji (w_0), a przez \mathbf{G} - macierz radialną, zwaną macierzą Greena

$$\mathbf{G} = \begin{bmatrix} 1 & \varphi(\|\mathbf{x}_1 - \mathbf{c}_1\|) & \varphi(\|\mathbf{x}_1 - \mathbf{c}_2\|) & \dots & \varphi(\|\mathbf{x}_1 - \mathbf{c}_K\|) \\ 1 & \varphi(\|\mathbf{x}_2 - \mathbf{c}_1\|) & \varphi(\|\mathbf{x}_2 - \mathbf{c}_2\|) & \dots & \varphi(\|\mathbf{x}_2 - \mathbf{c}_K\|) \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & \varphi(\|\mathbf{x}_p - \mathbf{c}_1\|) & \varphi(\|\mathbf{x}_p - \mathbf{c}_2\|) & \dots & \varphi(\|\mathbf{x}_p - \mathbf{c}_K\|) \end{bmatrix}$$

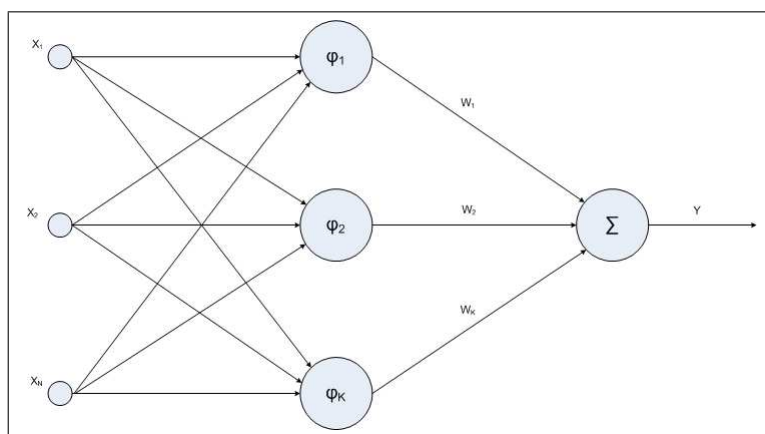
Przy ograniczeniu liczby funkcji bazowych do K , macierz \mathbf{G} jest prostokątna o liczbie wierszy zwykle dużo większej niż liczba kolumn ($p \gg K$). Przy znajomości parametrów funkcji radialnych problem uczenia optymalizacyjnego sprowadza się do rozwiązania układu równań liniowych względem wag \mathbf{w}

$$\mathbf{G}\mathbf{w} = \mathbf{d} \quad (5.5)$$

Wobec prostokątności macierzy \mathbf{G} wektor wag \mathbf{w} wyznacza się, wykorzystując pojęcie pseudoinwersji macierzy \mathbf{G} , to jest

$$\mathbf{w} = \mathbf{G}^+ \mathbf{d} \quad (5.6)$$

gdzie $\mathbf{G}^+ = (\mathbf{G}^T \mathbf{G})^{-1} \mathbf{G}^T$ oznacza pseudoinwersję macierzy prostokątnej \mathbf{G} . W praktyce pseudoinwersja jest obliczana przy wykorzystaniu dekompozycji SVD. Schemat sieci RBF przedstawia rysunek 5.2



Rysunek 5.2 Schemat sieci RBF

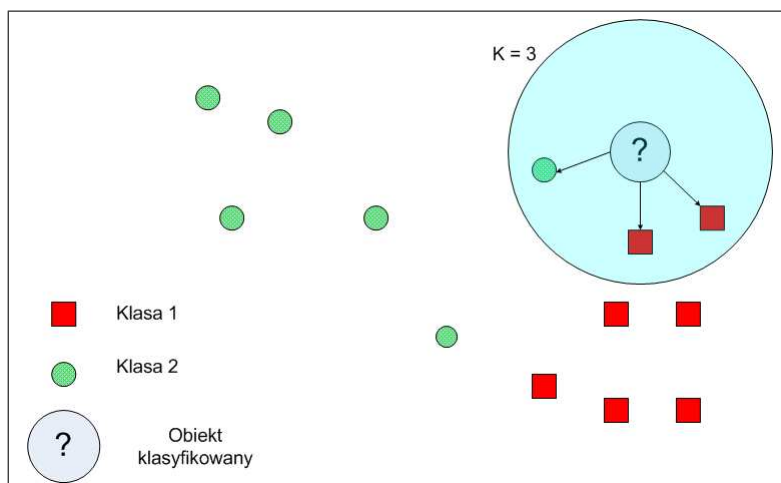
Położenia centrów funkcji radialnych są wyznaczane w oddzielnym procesie grupowania danych [48]. Centra otrzymanych klastrów stanowią poszukiwane centra \mathbf{c}_i funkcji radialnych. Szerokość funkcji radialnych σ_i nie wpływa w sposób istotny na wynik

odwzorowania. Dobiera się ją zwykle na podstawie odległości danego centrum od kilku najbliższych sąsiadów.

Po wytrenowaniu sieci parametry ulegają zamrożeniu i sieć jest gotowa do trybu od-twarzania. W trybie klasyfikatora sieć RBF przypisuje wektor wejściowy \mathbf{x} do klasy reprezentowanej przez kod najbliższy wartości aktualnej sygnału wyjściowego $y(\mathbf{x})$. Przy wartości $y(\mathbf{x})$ poniżej dolnego progu wektor wejściowy nie będzie przypisany do żadnej z wytrenowanych klas.

5.3 Klasyfikator oparty na metodzie k najbliższych sąsiadów (KNN)

W tej metodzie klasyfikacja aktualnego wzorca wejściowego \mathbf{x} odbywa się poprzez porów-nanie go z najbliższymi sąsiadami. Aktualny wektor \mathbf{x} zaliczany jest do klasy reprezento-wanej przez większość z jego K najbliższych (w sensie odległości) sąsiadów (rysunek 5.3). Możliwy jest brak przypisania do klasy, jeśli każda z odległości przekracza dozwolony próg, ustalony zwykle na podstawie pewnej liczby eksperymentów wstępnych. Klasyfikator w swojej decyzji bazuje wyłącznie na porównaniu aktualnego wektora \mathbf{x} z dostępną bazą danych uczących (brak typowego dla sieci neuronowych procesu uczenia). Jest to jedno z najprostszych rozwiązań klasyfikatorów. Do jego głównych zalet należy nieograniczona liczba klas, brak procesu uczenia i parametrów związanych z tym procesem, bardzo prosty sposób działania, łatwość w implementacji i praktyczność. Pomimo swej prostoty wyka-zuje nadspodziewanie dobre wyniki w wielu problemach klasyfikacyjnych. Do wad tego typu klasyfikatorów można zaliczyć: duże zapotrzebowanie na pamięć, kosztowny sposób wyłaniania zwycięzcy przy prezentacji nowego wektora \mathbf{x} (wymagane każdorazowe obli-czanie odległości \mathbf{x} od wszystkich centrów wzorcowych, pogrupowanie wyników według odległości i wybór K najbliższych klas dla wyłonienia zwycięzcy), powolne działanie przy dużej liczbie danych wzorcowych. Istotnym problemem przy dużej liczbie analiz jest dobór właściwej wartości K . Dobór taki odbywa się na zbiorze uczącym i polega na przeprowa-dzeniu prób z wieloma wartościami K , a następnie weryfikacji każdego wyniku na zbiorze weryfikacyjnym (testującym). Za optymalną wartość K uważa się taką, która zapewnia największą dokładność działania na zbiorze weryfikacyjnym. Dobrym rozwiązaniem jest zastosowanie techniki „cross-walidacji” polegającej na podzieleniu zbioru uczącego na M



Rysunek 5.3 Ilustracja metody KNN - obiekt zostanie zaklasyfikowany do klasy 1

części. $M - 1$ podzbiorów jest traktowane jako wzorcowe, a M -ty jako weryfikujący. Przeprowadza się procedurę, M -krotnie wymieniając za każdym razem podzbiór testujący z jednym spośród podzbiorów uczących. Za właściwą liczbę K uznaje się taką, dla której sumaryczny błąd na wszystkich podzbiórach weryfikujących jest najmniejszy. Na rysunku 5.3 zilustrowano działanie algorytmu klasyfikacyjnego KNN, przy założeniu $K = 3$.

5.4 Klasyfikator Fishera

Jest to metoda klasyfikacji, której głównym zadaniem jest zredukowanie przestrzeni m -wymiarowej do $K - 1$ wymiarowej (K - liczba klas) w taki sposób, aby separacja klas w nowym układzie współrzędnych była optymalna [74]. W przypadku występowania dwóch klas dane zostaną rzutowane w przestrzeń jednowymiarową (prostą), a następnie, w nowej przestrzeni danych, zostanie przeprowadzona klasyfikacja z użyciem odległości Euklidesa.

Dla przykładu założymy liczbę klas $K = 2$ i liczbę danych N reprezentowanych przez wektory \mathbf{x}_i ($i = 1, 2, \dots, N$), których przynależność do klas jest znana. N_1 to liczba danych należących do klasy $C^{(1)}$, a N_2 to liczba danych należących do klasy $C^{(2)}$. Zdefiniujmy wektor \mathbf{y} w postaci liniowej kombinacji cech oryginalnych (wyrażonych wektorem \mathbf{x}):

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{x} \quad (5.7)$$

gdzie m -wymiarowy wektor $\boldsymbol{\rho}$ może być traktowany jako hiperpłaszczyzna w m -wymiarowej przestrzeni cech, natomiast \mathbf{y} jest rzutem wektora \mathbf{x} na tę hiperpłaszczyznę. Wektor war-

tości średnich cech $\mathbf{m}_i(\mathbf{x})$ w poszczególnych klasach $C^{(i)}$ kreślony jest wzorem:

$$\mathbf{m}_i(\mathbf{x}) = \frac{1}{N_i} \sum_{\mathbf{x} \in C^{(i)}} \mathbf{x}_i \quad (5.8)$$

Średnia $\mathbf{m}_i(\mathbf{y})$ wektorów cech rzutowanych na prostą $\boldsymbol{\rho}$ jest rzutem wartości $\mathbf{m}_i(\mathbf{x})$

$$\mathbf{m}_i(\mathbf{y}) = \frac{1}{N_i} \sum_{\mathbf{y}_i \in C^{(i)}} \mathbf{y}_i = \frac{1}{N_i} \sum_{\mathbf{x} \in C^{(i)}} \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{m}_i(\mathbf{x}) \quad (5.9)$$

Po rzutowaniu na hiperpłaszczyznę odległość pomiędzy wartościami średnimi wektorów w obu klasach określona jest wzorem:

$$|\mathbf{m}_1(\mathbf{y}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{y})| = |\boldsymbol{\rho}^T(\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x}))| \quad (5.10)$$

Aby uzyskać optymalną separację klas, należy uwzględnić wariancję próbek. W tym celu definiuje się macierz rozproszenia \mathbf{W}_i o rozmiarach $m \times m$ (dla dwu klas $i = 1, 2$).

$$\mathbf{W}_i = \sum_{\mathbf{x} \in C^{(i)}} (\mathbf{x} - \mathbf{m}_i(\mathbf{x}))(\mathbf{x} - \mathbf{m}_i(\mathbf{x}))^T \quad (5.11)$$

\mathbf{W}_i jest estymatorem kowariancji i -tej klasy i reprezentuje miarę rozproszenia sygnału należącego do tej klasy. Macierz rozproszenia wewnątrzklasowego \mathbf{W} jest zdefiniowana jako:

$$\mathbf{W} = \mathbf{W}_1 + \mathbf{W}_2 \quad (5.12)$$

Wartość rozproszenia dla i -tej klasy wektorów rzutowanych na hiperpłaszczyznę $\boldsymbol{\rho}$ dana jest wzorem:

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_i^2 &= \sum_{\mathbf{y}_i \in C^{(i)}} (\mathbf{y}_i - \mathbf{m}_i(\mathbf{y}_i))^T (\mathbf{y}_i - \mathbf{m}_i(\mathbf{y}_i)) = \sum_{\mathbf{x} \in C^{(i)}} (\boldsymbol{\rho}^T \mathbf{x} - \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{m}_i(\mathbf{x}))^2 = \\ &= \sum_{\mathbf{x} \in C^{(i)}} \boldsymbol{\rho}^T (\mathbf{x} - \mathbf{m}_i(\mathbf{x})) (\mathbf{x} - \mathbf{m}_i(\mathbf{x}))^T \boldsymbol{\rho} = \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{W}_i \boldsymbol{\rho} \end{aligned} \quad (5.13)$$

Sumę rozproszeń dla obu klas wyznacza relacja:

$$\hat{\sigma}_1^2 + \hat{\sigma}_2^2 = \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{W} \boldsymbol{\rho} \quad (5.14)$$

Macierz rozproszenia międzyklasowego wyrażona jest zależnością:

$$\mathbf{B} = (\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x}))(\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x}))^T \quad (5.15)$$

Macierz ta reprezentuje rozproszenie pomiędzy wartościami średnimi w różnych klasach. Rozproszenie międzyklasowe w jednowymiarowej przestrzeni (po rzutowaniu na prostą

ρ) określone jest wzorem:

$$\begin{aligned} \|(\mathbf{m}_1(\mathbf{y}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{y}))\|^2 &= (\boldsymbol{\rho}^T \mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{m}_2(\mathbf{x}))^2 = \\ &= \boldsymbol{\rho}^T (\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x})) (\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x}))^T \boldsymbol{\rho} = \boldsymbol{\rho}^T \mathbf{B} \boldsymbol{\rho} \end{aligned} \quad (5.16)$$

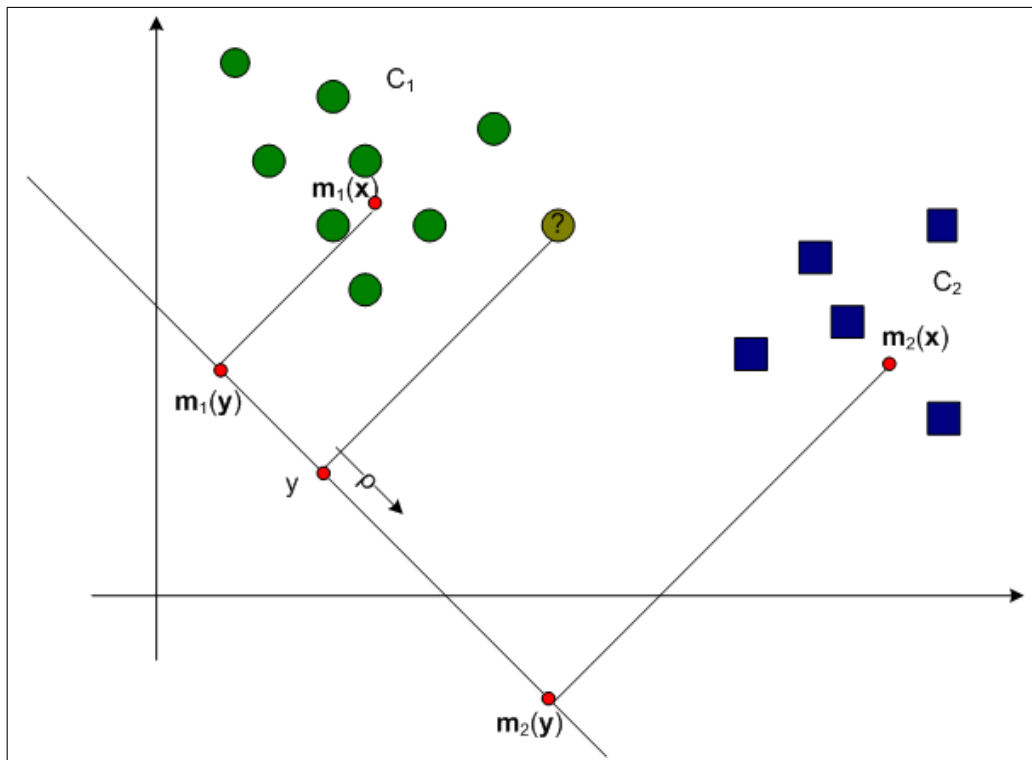
Aby uzyskać dobrą separację pomiędzy klasami, wariancja dla każdej z klas powinna być jak najmniejsza. Miarą jakości separacji klas jest iloraz Rayleigha:

$$J(\boldsymbol{\rho}) = \frac{\boldsymbol{\rho}^T \mathbf{B} \boldsymbol{\rho}}{\boldsymbol{\rho}^T \mathbf{W} \boldsymbol{\rho}} \quad (5.17)$$

Osiąga on maksimum dla

$$\boldsymbol{\rho} = \mathbf{W}^{-1}(\mathbf{m}_1(\mathbf{x}) - \mathbf{m}_2(\mathbf{x})) \quad (5.18)$$

Mając dany wektor $\boldsymbol{\rho}$ można dokonać klasyfikacji, rzutując klasyfikowany wektor \mathbf{x} oraz



Rysunek 5.4 Ilustracja działania klasyfikatora Fishera

wektory wartości średnich w obu klasach na prostą wyznaczoną przez wektor $\boldsymbol{\rho}$. Następnie oblicza się odległości Euklidesowe pomiędzy rzutem wektora \mathbf{x} i rzutem wartości średnich dla obu klas. Wektor \mathbf{x} przypisuje się do klasy, dla której obliczona odległość będzie najmniejsza.

Na rysunku 5.4 zilustrowano działanie klasyfikatora Fishera dla dwu klas danych. Ponieważ odległość rzutu wektora klasyfikowanego od klasy pierwszej jest mniejsza niż od klasy drugiej, wektor \mathbf{x} zostanie zaklasyfikowany do klasy pierwszej. W rozwiązaniu tym możliwy jest brak przypisania do określonej klasy, jeśli odległość rzutu wektora \mathbf{x} od rzutów obu centrów jest większa niż przyjęta wartość progu.

5.5 Klasyfikator oparty na sieci SVM

Sieci SVM (*ang. Support Vector Machine*) są sieciami jednokierunkowymi, najczęściej o strukturze dwuwarstwowej - z warstwą ukrytą i wyjściową. Implementują różne typy funkcji aktywacji: liniową, wielomianową, radialną i sigmoidalną [48, 57]. Stosowane są w zadaniach klasyfikacji i aproksymacji. W przypadku klasyfikacji maksymalizuje się szerokość marginesu separacji między dwoma klasami reprezentowanymi przez dane $(\mathbf{x}_i, \mathbf{d}_i)$.

Sieć SVM jest układem o jednym neuronie wyjściowym, stąd pojedyncza sieć może separować tylko dwie klasy. W przypadku danych separowalnych liniowo równanie hiperpłaszczyzny separującej obie klasy może być opisane wzorem:

$$\mathbf{y}(\mathbf{x}) = \mathbf{w}^T \mathbf{x} + b = 0 \quad (5.19)$$

gdzie: $\mathbf{w} = [w_1, w_2, \dots, w_N]^T$, $\mathbf{x} = [x_1, x_2, \dots, x_N]^T$. Warunki przynależności do obu klas są zdefiniowane w postaci

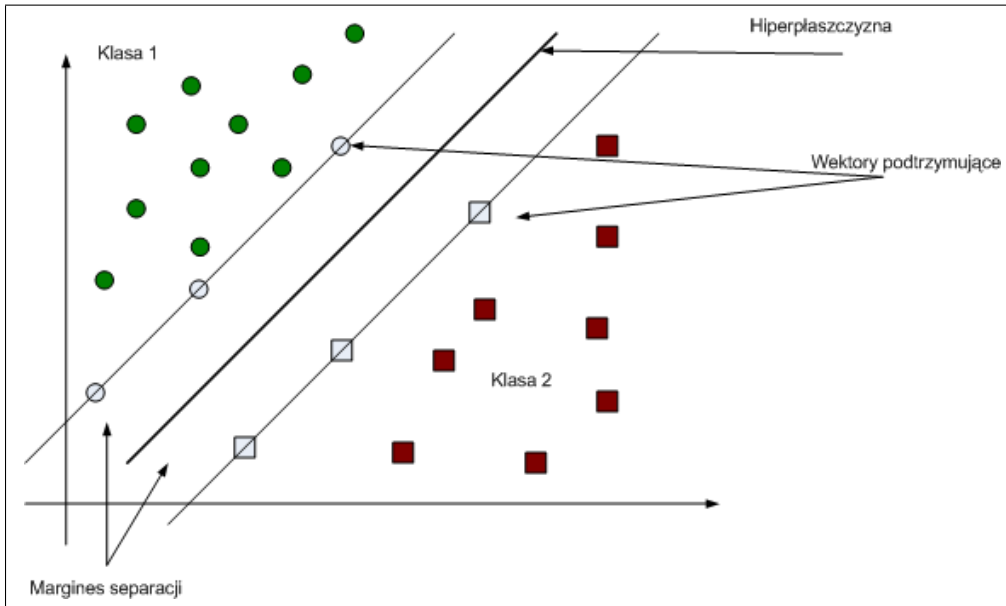
$$y(\mathbf{x}) > 0 \rightarrow \textit{klasa pierwsza} \quad (5.20)$$

$$y(\mathbf{x}) < 0 \rightarrow \textit{klasa pierwsza} \quad (5.21)$$

Uczenie sieci SVM polega na takim doborze wag, aby zmaksymalizować margines separacji między skrajnymi reprezentantami obu klas. Rysunek 5.5 przedstawia ideę działania sieci SVM, działającej w trybie klasyfikacji.

Przy braku separowalności liniowej danych stosuje się, podobnie jak w sieciach RBF, rzutowanie danych oryginalnych w inną przestrzeń funkcyjną, w której dane są separowalne liniowo. Zgodnie z twierdzeniami Covera, dane nieseparowalne liniowo rzutowane są w tak zwaną przestrzeń cech o wymiarze $K \geq N$, w której istnieje duże prawdopodobieństwo, że będą separowalne liniowo. Po rzutowaniu wektora \mathbf{x} w przestrzeń cech równanie hiperpłaszczyzny separującej przyjmuje postać [57]:

$$y(\mathbf{x}) = \mathbf{w}^T \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}) + b \quad (5.22)$$



Rysunek 5.5 Ilustracja podstawowych pojęć sieci SVM

Możliwe jest ustawienie progu, poniżej którego testowany wektor nie będzie przypisany do żadnej klasy. Uczenie sieci SVM polega na doborze centrów rzutowania (są nimi wybrane wektory uczące \mathbf{x}) oraz wartości wag. Dla jego przeprowadzenia definiuje się problem pierwotny uczenia jako zadanie optymalizacji z ograniczeniami liniowymi. Przy wprowadzeniu funkcji Lagrange'a problem pierwotny jest przekształcany w problem dualny, sprowadzający się do zadania maksymalizacji funkcji $L(\boldsymbol{\alpha})$ o postaci kwadratowej względem mnożników Lagrange'a α_i ($i = 1, 2, \dots, p$), z których każdy odpowiada za ograniczenia związane z przynależnością do odpowiedniej klasy danych uczących. Zadanie dualne zapisuje się w postaci [48, 57, 66]:

$$\max L(\boldsymbol{\alpha}) = \sum_{i=1}^p \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^p \alpha_i \alpha_j d_i d_j \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_i)^T \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_j) \quad (5.23)$$

przy ograniczeniach:

$$\sum_{i=1}^p \alpha_i d_i = 0 \quad (5.24)$$

$$0 \leq \alpha_i \leq C \quad (5.25)$$

We wzorze tym C oznacza współczynnik kary za przekroczenie ograniczeń, a iloczyn skalarny $\boldsymbol{\varphi}^T(\mathbf{x}_i)\boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_j)$ jest zwany funkcją jądra $K(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j)$

$$K(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j) = \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_i)^T \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_j) \quad (5.26)$$

Poprzez rozwiązanie problemu dualnego możliwe jest znalezienie optymalnych wartości mnożników Lagrange'a i na ich podstawie określenie optymalnych wartości wag tworzących wektor \mathbf{w}

$$\mathbf{w} = \sum_{i=1}^{N_{sv}} \alpha_i d_i \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_i) \quad (5.27)$$

Wartość b jest wyliczana przy założeniu $y(\mathbf{x}_{sr}) = \mathbf{W}^T \boldsymbol{\varphi}(\mathbf{x}_{sr}) + b$, gdzie \mathbf{x}_{sr} jest oznaczeniem dowolnego wektora \mathbf{x} przyjętego za centrum (tzw. wektor podtrzymujący). Ostatecznie sygnał wyjściowy sieci SVM określa się wzorem

$$y(\mathbf{x}) = \sum_{i=1}^{N_{sv}} \alpha_i d_i K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) + b \quad (5.28)$$

Istotną rolę w uczeniu sieci SVM odgrywa dobór funkcji jądra $K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i)$. Funkcja ta musi spełniać warunki Mercera [66]. Najczęściej stosowane funkcje jądra to: jądro liniowe $K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) = \mathbf{x}_i^T \mathbf{x} + \gamma$, wielomianowe $K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) = (\mathbf{x}_i^T \mathbf{x} + \gamma)^P$, radialne $K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) = e^{-\gamma \|\mathbf{x} - \mathbf{x}_i\|^2}$ oraz sigmoidalne $K(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) = tgh(\beta_1 \mathbf{x}_i^T \mathbf{x} + \beta_0)$.

5.5.1 Klasyfikacja wieloklasowa za pomocą SVM

Wobec jednego wyjścia, przy binarnej funkcji decyzyjnej sieć SVM dokonuje podziału danych na dwie klasy. Jeżeli rozważana jest większa ilość klas, należy zastosować jedną z dwóch technik:

- jeden przeciw wszystkim (jedna klasa przeciwstawiona pozostałym),
- jeden przeciw jednemu (jedna klasa przeciwstawiona innej).

W metodzie pierwszej buduje się N modeli SVM, gdzie N odpowiada liczbie klas. Każdy model dokonuje podziału na dwie klasy - pierwszą, w której zawarte są dane z jednej klasy, i drugą, w której dane przynależne są do klas pozostałych. Przykładowo, w pracy dokonuje się podziału na cztery klasy, a więc $N = 4$.

- Klasa 1 - Limfocyty
- Klasa 2 - Plazmocyty
- Klasa 3 - Granulocyty kwasochłonne
- Klasa 4 - Granulocyty obojętnochłonne

Poszczególne modele SVM wyglądają następująco:

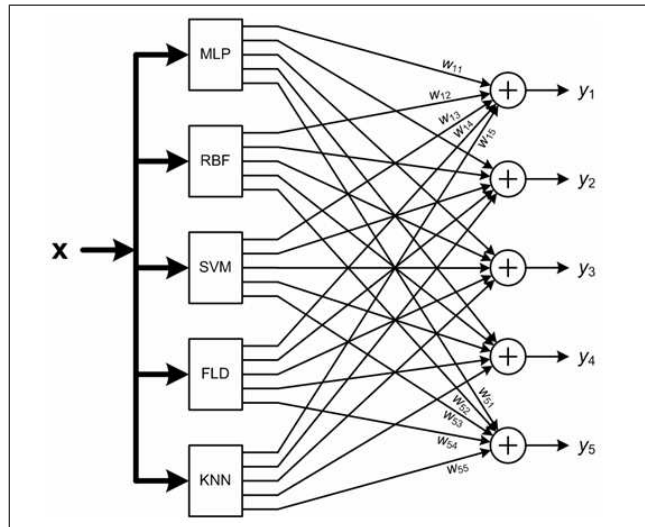
- SVM₁ - Klasa 1 przeciwko pozostałym klasom 2+3+4,
- SVM₂ - Klasa 2 przeciwko pozostałym klasom 1+3+4,
- SVM₃ - Klasa 3 przeciwko pozostałym klasom 1+2+4,
- SVM₄ - Klasa 4 przeciwko pozostałym klasom 1+2+3,

Następnie testowany wektor \mathbf{x} zaliczany jest do klasy na podstawie wartości funkcji decyzyjnej (wektor \mathbf{x} przypisany do klasy o największej wartości $y(\mathbf{x})$).

W metodzie jeden przeciw jednemu buduje się $N(N - 1)/2$ modeli. Dla 4 rodzajów klas rozważanych w pracy należy wytrenować 6 sieci SVM dokonujących rozpoznawania wszystkich kombinacji klas ze sobą w szczególności (1,2), (1,3), (1,4), (2,3), (2,4), (3,4). Przy testowaniu aktualnego wektora \mathbf{x} określa się odpowiedź każdej sieci na pobudzenie tym samym wektorem \mathbf{x} . Za zwycięzcę uważa się tę klasę, która została wskazana najczęściej jako zwycięska.

5.6 Zespół klasyfikatorów

Dla uzyskania najwyższej dokładności rozpoznania zastosowano zespół klasyfikatorów złożony z wymienionych 5 rodzajów. Połączenie ich w jeden zespół, zamiast wybrania pojedynczego, najlepszego klasyfikatora, ma na celu wykorzystanie wyników cząstkowych dla poprawy dokładności. Biorąc pod uwagę, że każdy pojedynczy klasyfikator „widzi” problem klasyfikacyjny z innej perspektywy, połączenie ich w jeden zespół stwarza szanse kompensacji wzajemnej błędów cząstkowych i polepszenia dokładności finalnej. Schemat integratora zaprojektowanego na potrzeby pracy dla 5 klas (4 rodzaje komórek oraz piąta klasa nierozpoznanych obiektów, np. artefakty, komórki rozcięte itp.; gdy dany klasyfikator nie zaklasyfikuje rozpoznawanego obiektu do żadnej z 4 klas, będzie on zaklasyfikowany do klasy 5.) przedstawiony jest na rysunku 5.6. Każdy z klasyfikatorów ma wpływ na końcowy wynik za pośrednictwem wag. Waga w_{ij} wskazuje współczynniki, z jakimi na klasę i -tą wpływa klasyfikator j -ty. Wynik y_i generowany na wyjściu zespołu wskazuje na prawdopodobieństwa wystąpienia i -tej klasy przy prezentacji wektora \mathbf{x} . Dane scharakteryzowane poprzez ten wektor zostaną przypisane do klasy o najwyższym prawdopodobieństwie. Ideą zastosowania integracji ważonej klasyfikatorów jest przypisanie każdemu



Rysunek 5.6 Schemat połączenia poszczególnych klasyfikatorów

klasyfikatorowi odpowiedniej wagi. Im wyższa sprawność klasyfikatora przy rozpoznawaniu danych uczących dla konkretnej klasy, tym wyższa waga przykładana do wskazania danego klasyfikatora. W przypadku, gdy dokładność poszczególnych klasyfikatorów jest porównywalna, dobre wyniki uzyskuje się przyjmując

$$w_{ij} = \frac{\eta_{ij}}{\sum_{k=1}^5 \eta_{ik}} \quad (5.29)$$

gdzie:

i - oznaczenie klasy

j - numer (rodzaj) klasyfikatora

η_{ik} - dokładność klasyfikatora k -tego przy rozpoznaniu danych uczących należących do i -tej klasy.

Tak zdefiniowane wagi tworzą system znormalizowany ($\sum_{j=1}^5 w_{ij} = 1$). W przypadku, gdy integracji podlegają klasyfikatory o bardzo zróżnicowanej dokładności, formuła powyższa może prowadzić do pogorszenia wyników w stosunku do klasyfikatora najlepszego. W takim przypadku lepiej jest przyjąć wzór na wartość wag premiujący wyżej klasyfikatory o wyższej sprawności. W pracy zaproponowano wzór:

$$w_{ij} = \frac{\eta_{ij}^m}{\sum_{k=1}^5 \eta_{ik}^m} \quad (5.30)$$

w którym wykładnik pozwala sterować wpływem klasyfikatora o zróżnicowanej sprawności odpowiednio do wymagań użytkownika. Przy rozpiętości dokładności klasyfikatorów w zakresie 5-15 % za optymalną wartość m (po wielu próbach) uznano $m = 4$.

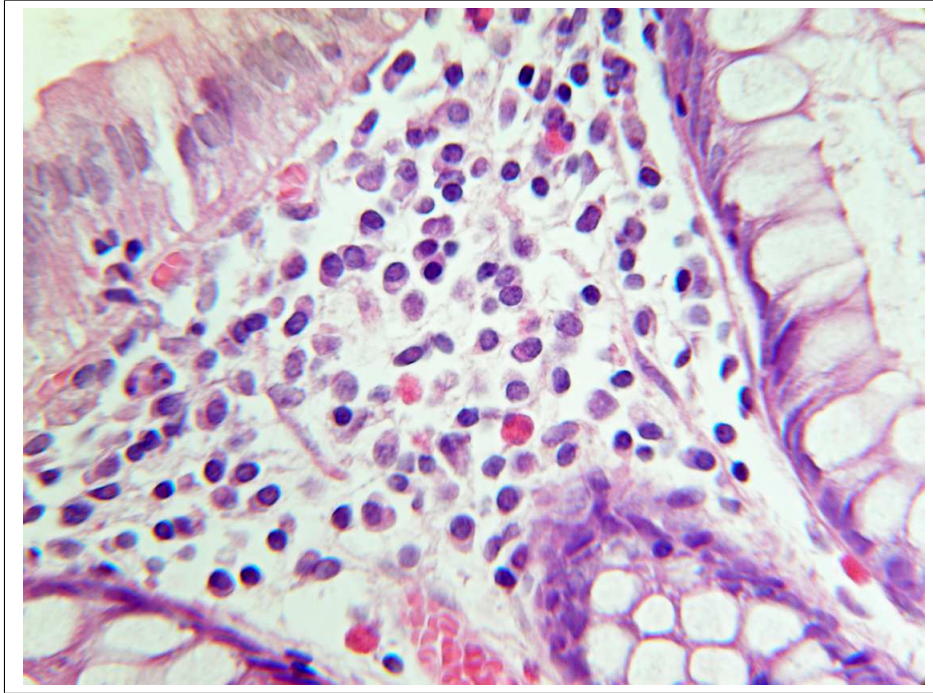
Rozdział 6

Rozpoznawanie komórek obronnych w chorobach idiopatycznych jelit

W diagnostyce i leczeniu pacjentów dotkniętych chorobami idiopatycznymi jelit ważną rolę odgrywa rozpoznanie i zliczanie komórek obronnych (limfocytów, plazmocytów, granulocytów kwasochłonnych i obojętnochłonnych) występujących w obszarze tkanki. Badania takie wykonywane są na obrazach o powiększeniu 600x. Obrazy dotyczą mikroskopowych wycinków jelit pobranych podczas biopsji. Na podstawie analizy występowania oraz liczby i proporcji poszczególnych rodzajów komórek lekarz dokonuje diagnozy co do występowania stanu zapalnego i jego nasilenia. Jednym z elementów badań ogólnych jest odpowiedź na pytanie, czy da się powiązać rodzaj schorzenia z liczebnością i występowaniem określonego rodzaju komórek. Ewentualny wynik pozytywny miałby duże znaczenie diagnostyczne we wczesnym rozpoznaniu rodzaju choroby. Badania takie wymagają jednak wykonania tysięcy prób i podsumowania statystycznego wyników. Opracowany przez autora system komputerowy znakomicie ułatwia wykonanie takich badań, przyspieszając wielokrotnie dojście do wyników końcowych lekarza.

Przykładowy obraz fragmentu tkanki przedstawiono na rysunku 6.1. Na brzegach obrazu wyraźnie widoczne są cewy gruczołowe, które w tym rodzaju analizy kwalifikują się do usunięcia. Obiektem przetwarzania są komórki nacieku zapalnego widoczne w środku zdjęcia pomiędzy cewami. Zadaniem tego fragmentu pracy jest wyodrębnienie poszczególnych komórek, rozpoznanie ich rodzaju i zliczenie w ramach poszczególnych klas. Prawidłowe rozwiązanie problemu wymagało wykonania takich czynności jak:

- opracowanie algorytmu przygotowującego obraz do segmentacji komórek. Podstawo-

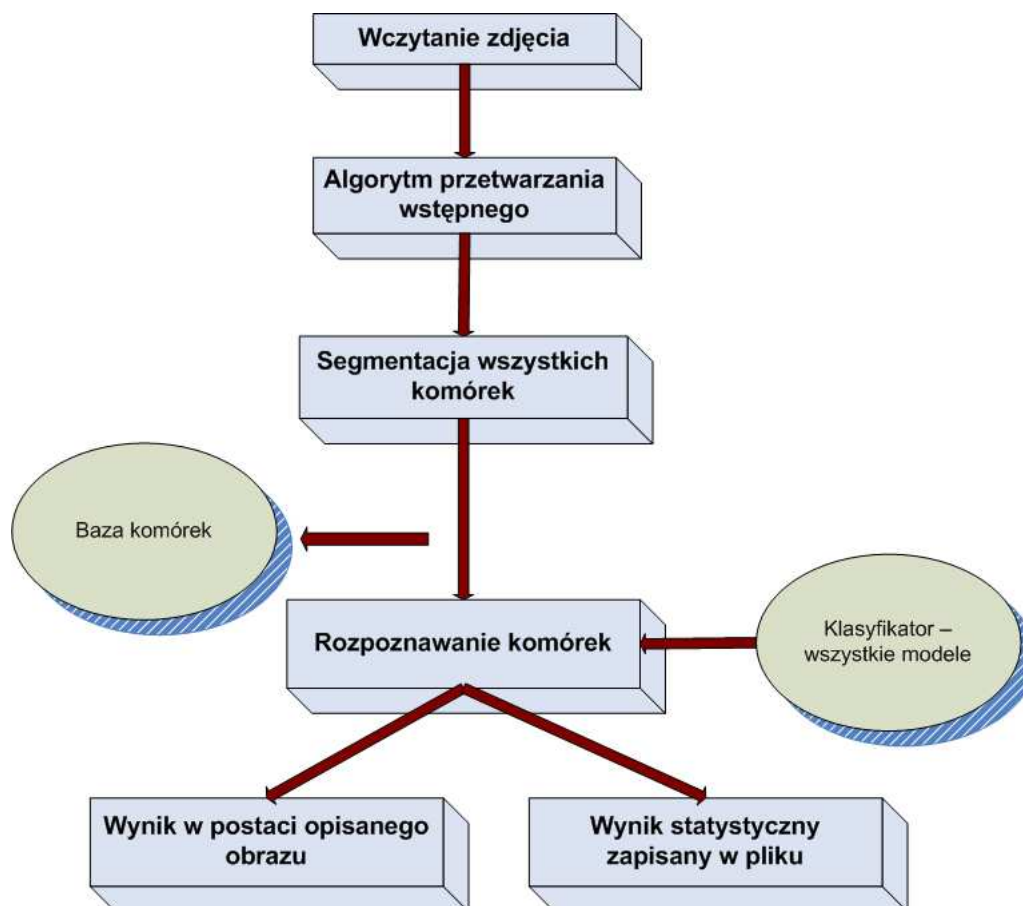


Rysunek 6.1 Obraz mikroskopowy jelita o powiększeniu 600x

wym zadaniem jest tu eliminacja cew gruczołowych. Jest to etap przygotowawczy;

- opracowanie i implementacja komputerowa algorytmu segmentacji komórek z obrazu;
- wyodrębnienie pojedynczych komórek i opracowanie bazy danych do ich przechowywania i przetwarzania;
- opracowanie zestawu cech diagnostycznych najlepiej opisujących komórki każdego typu;
- selekcja cech diagnostycznych najbardziej różnicujących różne typy komórek;
- wybór i wytrenowanie (na bazie danych uczących komórek) klasyfikatorów do rozpoznawania wszystkich typów komórek oraz połączenie ich w jeden zespół klasyfikacyjny;
- wyodrębnienie i rozpoznanie komórek występujących na dużym zbiorze obrazów otrzymanych z Wojskowego Instytutu Medycznego;

- analiza porównawcza otrzymanych wyników z oceną dokonaną przez lekarza eksperta.



Rysunek 6.2 Schemat działania systemu automatycznego rozpoznającego komórki

Rysunek 6.2 przedstawia ogólny schemat działania systemu automatycznego rozpoznającego komórki z uwzględnieniem najważniejszych etapów i algorytmów.

Preparaty, z których zrobiono zdjęcia, pochodzą z archiwum Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie przy ulicy Szaserów. Wybrane przez pracownika Instytutu wycinki jelit były fotografowane pod mikroskopem. Wszystkie zdjęcia mikroskopowe wykonał autor niniejszej pracy. Były one wykonane za pomocą jednego urządzenia, z rozdzielczością 2816x2112 pikseli i zapisane w formacie RGB. Aby zredukować wpływ regulacji manualnej, zdjęcia robione były przy automatycznie dobieranej temperaturze barwowej, stałym naświetleniu i czułości.

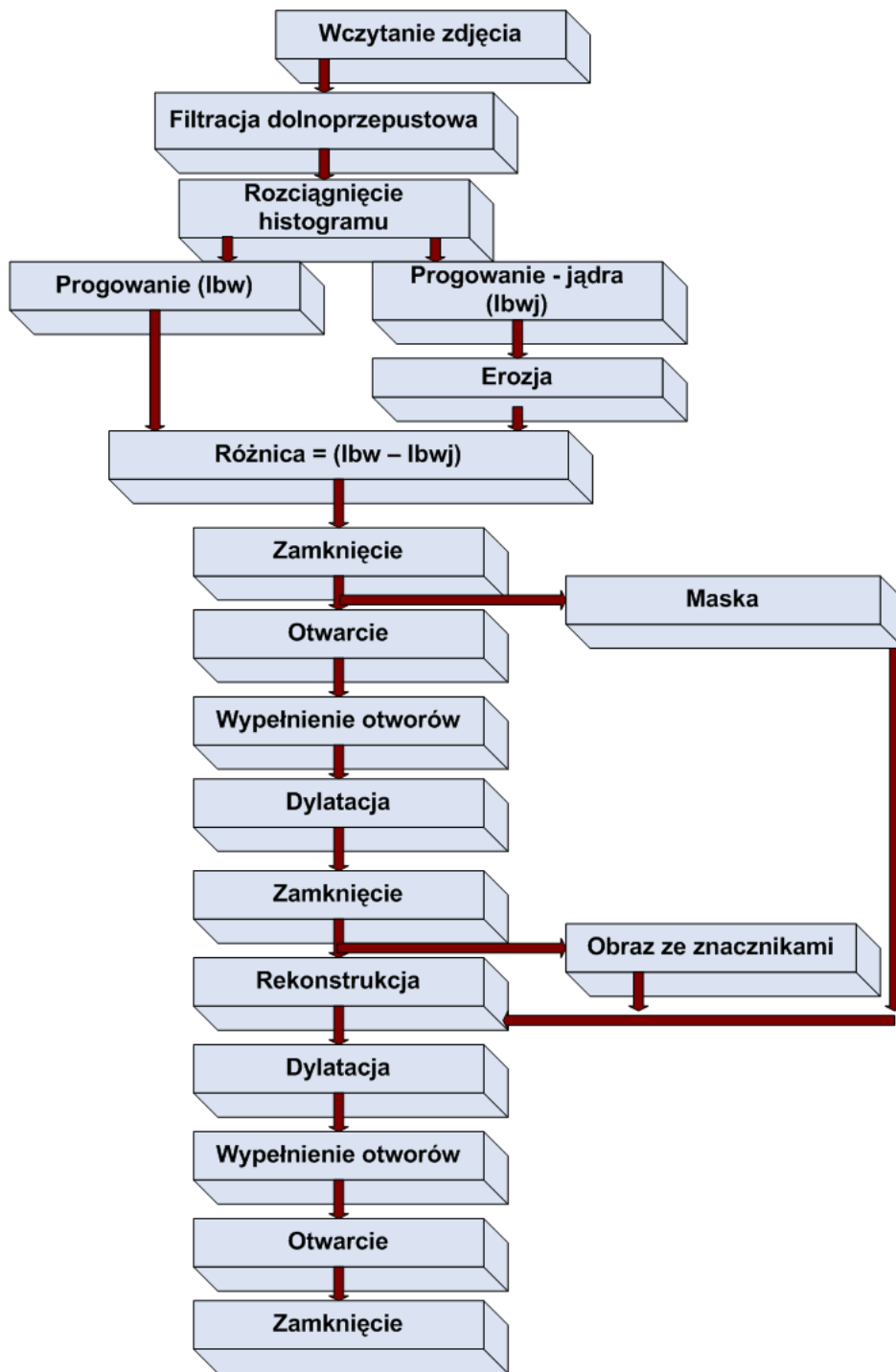
6.1 Etap przygotowawczy - eliminacja cew gruczołowych

Celem etapu wstępnego jest przygotowanie zdjęcia do dalszego przetwarzania. Głównym zadaniem tego etapu jest identyfikacja, a następnie eliminacja cew gruczołowych. W procesie ekstrakcji komórek cewy gruczołowe są obiektami, które wprowadzają dużą ilość artefaktów bardzo komplikujących proces, dlatego muszą zostać usunięte. Oprócz usunięcia cew, zadaniem etapu przygotowawczego jest filtracja obrazu i regulacja kontrastu. Schemat algorytmu przetwarzania wstępnego przedstawia rysunek 6.3.

Pierwszą czynnością algorytmu jest filtracja dolnoprzepustowa obrazu. Filtracja ta ma na celu usunięcie drobnych zakłóceń w obrazie, odpowiadających wysokim częstotliwościom. Jej ubocznym skutkiem jest minimalne rozmycie krawędzi, co nie przeszkadza jednak w dalszej części przetwarzania. Filtracja działa w sposób uśredniający poszczególne wartości jasności pikseli. W algorytmie zastosowano maskę o kształcie funkcji Gaussa i rozmiarze 4x4.

Następnym etapem jest rozciągnięcie histogramu w celu poprawienia kontrastu. Po tej operacji następują po sobie dwa równoległe przejścia do postaci binarnej - pierwsze odbywa się przez progowanie metodą Otsu i ma na celu pozbycie się tła (rys. 6.4b). Drugie przeprowadzone jest z bardzo niskim progiem i ma na celu odnalezienie w obrazie jąder komórek. Jądra są elementami najciemniejszymi i już na tym etapie powinny zostać usunięte, ponieważ przeszkadzają w procesie segmentacji cew. Po identyfikacji jąder dokonywana jest jeszcze erozja obrazu w celu ich powiększenia (reprezentacja graficzna w środowisku Matlab, w którym został zaimplementowany system, stosuje odwrotną notację - obraz czarny reprezentowany jest przez piksele o wartości 0, biały 1), tak aby obejmowały także fragment cytoplazmy je otaczający (rys. 6.4c), a następnie wykonywana jest operacja odjęcia dwóch obrazów - od obrazu otrzymanego metodą Otsu odejmuje się obraz zawierający jądra. Wynikiem operacji jest obraz binarny zawierający pozostałości ciemniejszego tła, cewy i resztki cytoplazmy (rys. 6.4d).

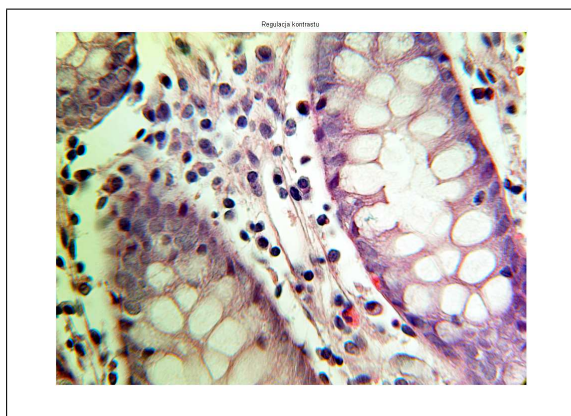
Następne operacje mają na celu przygotowanie dwóch obrazów - maski (rys. 6.5a) i obrazu ze znacznikami służącymi (rys. 6.5b) do rekonstrukcji. W rozwiązaniu autora maskę otrzymuje się poddając obraz wynikowy operacji zamknięcia. Dla otrzymania obrazu ze znacznikami obraz wynikowy poddawany jest kolejno operacjom otwarcia, wypełnienia



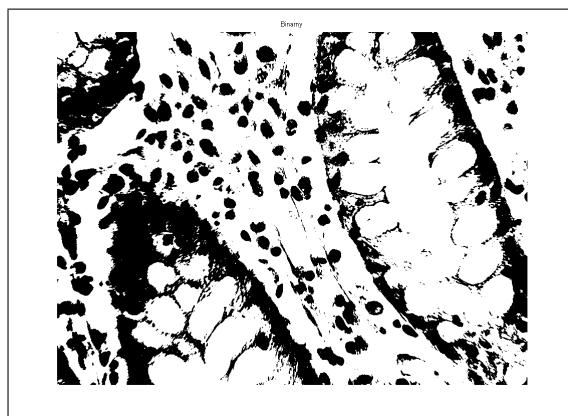
Rysunek 6.3 Algorytm przetwarzania wstępnego

otworów, dylatacji i zamknięcia. Mają one na celu dalsze „oczyszczenie” obrazu tak, aby zawierał on elementy cew, które mogą zostać odtworzone w wyniku operacji rekonstrukcji.

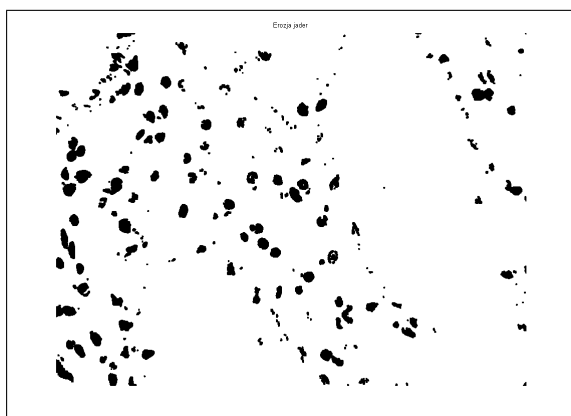
Rysunek 6.5 przedstawia wynik operacji rekonstrukcji (rys. 6.5c), przeprowadzonej z użyciem maski (rys. 6.5a) i obrazu ze znacznikami (rys. 6.5b).



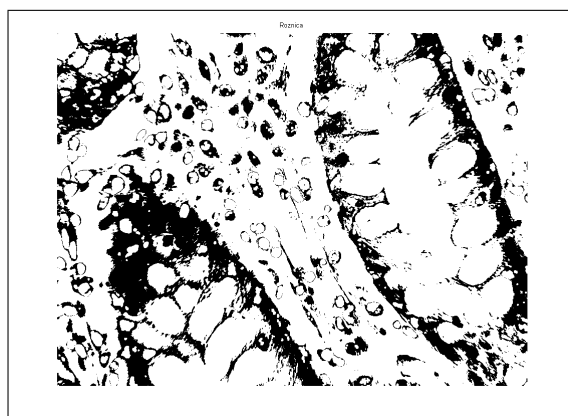
(a) Obraz po filtracji i rozciągnięciu histogramu



(b) Obraz binarny otrzymany metodą Otsu



(c) Obraz binarny po erozji, zawierający jądra

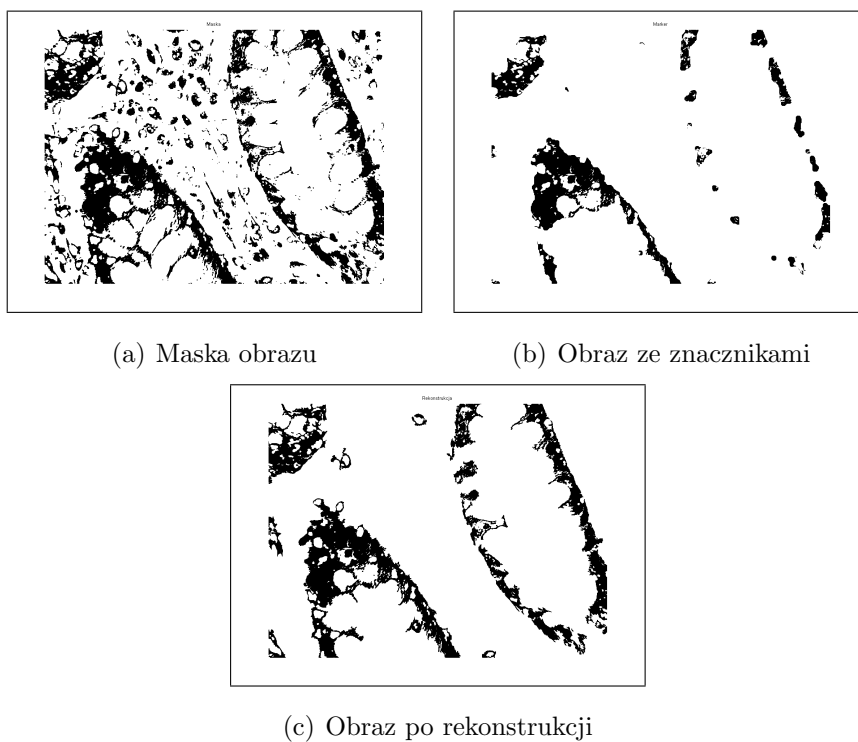


(d) Obraz wynikowy, będący różnicą dwóch obrazów binarnych

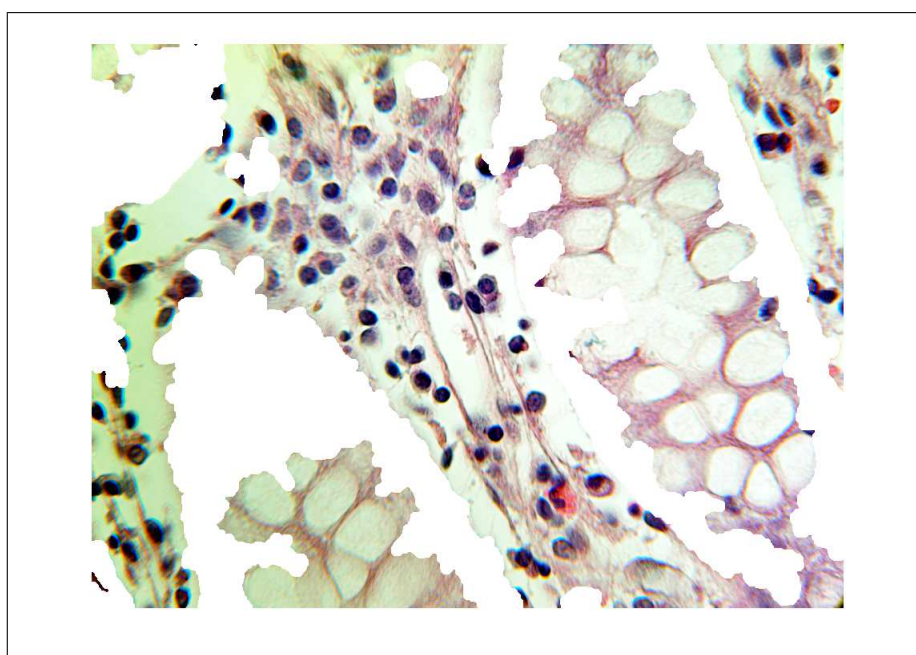
Rysunek 6.4 Operacja odejmowania dwóch obrazów binarnych

Dalszymi etapami algorytmu są operacje „doczyszczające” obraz i powiększające znalezione cewy. Należą do nich: dylatacja, wypełnienie otworów, otwarcie i zamknięcie. W wyniku otrzymuje się obraz zawierający jedynie cewy gruczołowe. Ostatnim elementem etapu wstępnego jest usunięcie z obrazu wyjściowego wszystkich cew gruczołowych, pozostawiając jedynie komórki podlegające identyfikacji i ekstrakcji do bazy danych oraz drobne artefakty.

Na rysunku 6.6 przedstawiono wynik działania algorytmu wstępnego usuwania cew. Kolor biały odpowiada powierzchni obrazu po usunięciu cew. Widoczne jest, że algorytm usunął główną strukturę cew, pozostawiając przypominający jej tło środek. Artefakt ten usuwany jest (sprowadzany do barwy białej) w wyniku dalszych operacji wraz z tłem.



Rysunek 6.5 Ilustracja kolejnych etapów rekonstrukcji obrazu



Rysunek 6.6 Obraz wynikowy tkanki jelita po zastosowaniu algorytmu usuwania cew

6.2 Segmentacja komórek

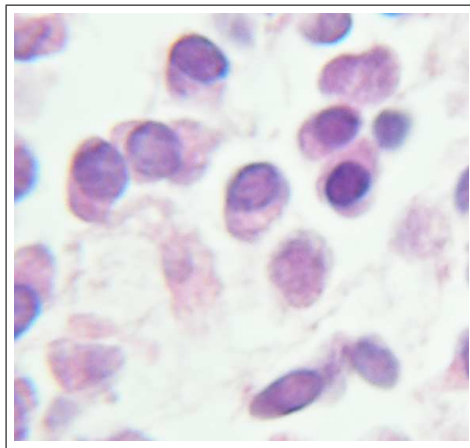
Obraz wynikowy po wstępnym przetworzeniu stanowi punkt wyjściowy dla procesu ekstrakcji komórek. Schemat blokowy przetwarzania prowadzący do wydzielenia pojedyn-

czych komórek przedstawiony jest na rys. 6.7.

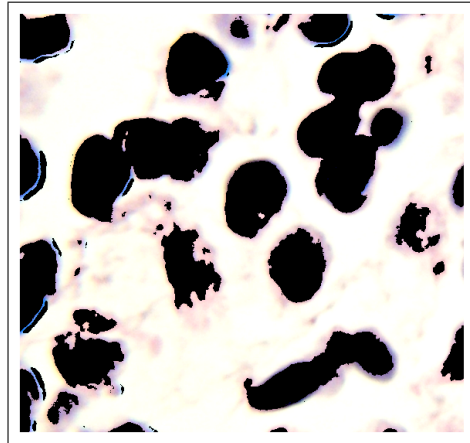


Rysunek 6.7 Schemat algorytmu ekstrakcji komórek

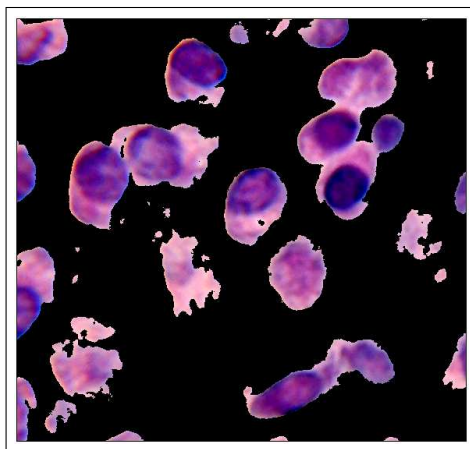
Wstępne eksperymenty przeprowadzane na obrazie pokazały, że ze względu na rozmycie krawędzi komórek klasyczne filtry wykrywające krawędzie (Prewitta, Sobela, Roberts) nie zdają egzaminu, prowadząc do dużych błędów segmentacji. W związku z tym zdecydowano się na zastosowanie nieliniowych operacji morfologicznych, w tym bardzo skuteczne-



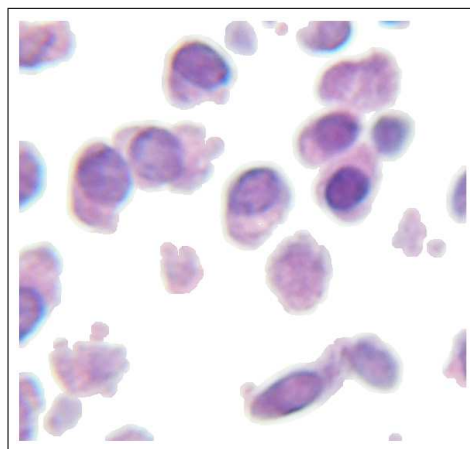
(a) Obraz wyjściowy tkanki



(b) Obraz ilustrujący klasę tła



(c) Obraz klasy jąder i cytoplazmy



(d) Obraz tkanki po sprowadzeniu klasy tła do barwy białej

Rysunek 6.8 Ilustracja procesu usuwania tła za pomocą algorytmu k-means

go algorytmu działów wodnych. Działanie algorytmu rozpoczyna się od wczytania obrazu przygotowanego przy użyciu algorytmu przetwarzania wstępnego. Piksele wczytanego obrazu podlegają klasyfikacji do trzech grup przy pomocy algorytmu k-średnich (k-means). Do klasy pierwszej zaliczane są piksele o najwyższej jasności. Tworzą one tło obrazu (rys. 6.8b). Piksele te zostaną usunięte poprzez zmianę ich wartości na barwę białą.

Dwie pozostałe klasy zawierają piksele reprezentujące cytoplazmę i jądra (rys. 6.8c). Tworzą one wspólnie obraz wyjściowy do dalszego etapu algorytmu (rys. 6.8d). W następnym etapie obraz transformowany jest do postaci binarnej przy zastosowaniu metody Otsu. Otwarcie ma na celu pozbycie się drobnych elementów i artefaktów. Kolejnym etapem jest przygotowanie do zastosowania algorytmu działów wodnych.

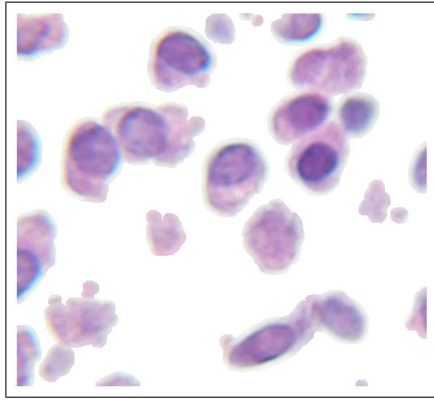
Pierwszym krokiem w tym algorytmie jest utworzenie macierzy odległości (rys. 6.9b). Najlepsze efekty uzyskuje się przy zastosowaniu elementu strukturalnego w kształcie dysku o rozmiarze 10. Zastosowanie elementów strukturalnych o mniejszych rozmiarach powodowało częste rozcinanie komórek, co jest zjawiskiem bardzo niekorzystnym, prowadzącym do podwojenia ich liczby.

Po określeniu lokalnych maksimów w macierzy odległości dokonano ich dylatacji. Dylatacja ma na celu złączenie najbliższych siebie maksimów, zapobiegając dalszemu rozcinaniu komórek. Następnie macierz odległości poddaje się negacji, tak aby maksima stały się minimami, stanowiącymi źródła w algorytmie działów wodnych. Algorytm działów wodnych (rys. 6.9) wodnych rozcina stykające się ze sobą komórki, prowadząc do ich separacji. W przypadku komórek o dwóch jądrach, takich jak granulocyty kwasochłonne, standardowy algorytm segmentujący, opracowany dla pozostałych komórek, przecinał je na pół, dlatego do poszukiwania tego typu komórek zastosowano inną metodę, opisaną w dalszej części pracy.

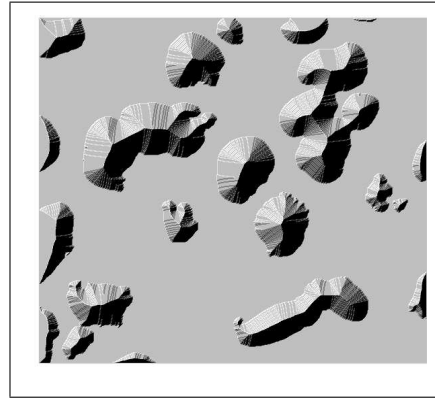
W wyniku zastosowania algorytmu działów wodnych otrzymuje się segmentację obrazu z jedną komórką zawartą w każdym segmencie. Efekt obramowania wyodrębnionych komórek, przedstawionych na rysunku (rys. 6.9d), uzyskano, stosując gradient morfologiczny z użyciem elementów strukturalnych o kształcie dysku i rozmiarach 3 i 2. Obramowanie ma wyłącznie charakter ilustracyjny i nie ma wpływu na wynik segmentacji.

Wydzielone obiekty podlegają następnie procesowi etykietowania. Obiekty najmniejsze (poniżej 2000 pikseli) oraz największe (powyżej 10000 pikseli) są odrzucane, gdyż nie spełniają ograniczeń co do wielkości obrazu komórek. Wśród komórek odrzucanych mogą pojawić się komórki rozcięte lub złączone ze sobą.

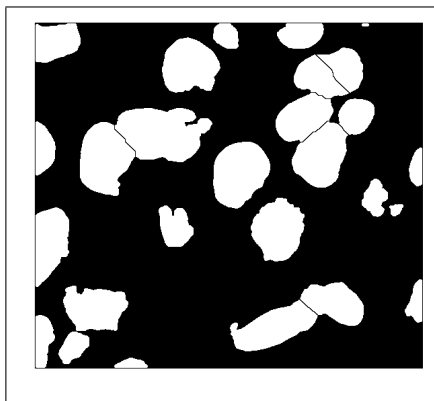
Na rysunku 6.9 zilustrowano najważniejsze etapy tej części algorytmu. Rysunek 6.9a przedstawia obraz wyjściowy po etapie wstępnym (usunięciu tła). Na rysunku 6.9b zilustrowano postać odległościową obrazu jako przygotowanie do zastosowania algorytmu działów wodnych. Wynik działania algorytmu działów wodnych przedstawia rysunek 6.9c, a wydzielone obiekty rysunek 6.9d. Część tych obiektów stanowią komórki, a pozostałą część obiekty zbyt małe, aby mogły być uznane za komórki. Obiekty uznane za komórki są przydzielane do klasy komórek i dopisywane do bazy danych (z uwzględnieniem reprezentacji RGB).



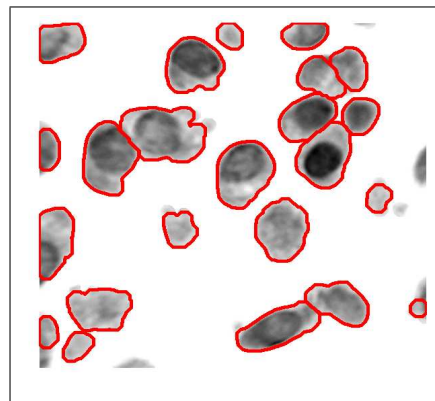
(a) Obraz wyjściowy, po przetworzeniu algorytmem k-średnich



(b) Postać odległościowa obrazu



(c) Obraz wynikowy po algorytmie działów wodnych



(d) Wysegmentowane obiekty obrazu

Rysunek 6.9 Ilustracja działania algorytmu segmentacji przy zastosowaniu metody działów wodnych

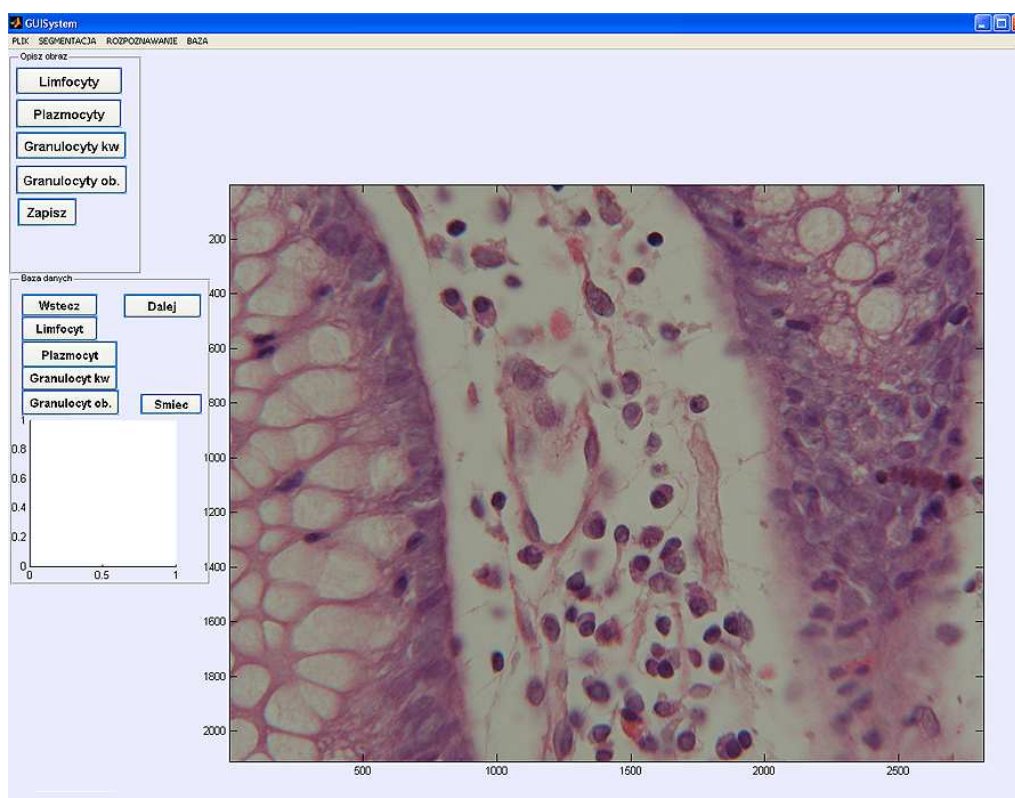
6.3 Baza komórek uczących

Komórki wchodzące w skład bazy danych stanowiąc będą podstawę do wytrenowania i testowania systemu klasyfikacyjnego. Ogółem w ramach pracy wyodrębniono 4 rodzaje komórek podlegających rozpoznaniu i zliczaniu. Są to: limfocyty, plazmocyty, granulocyty kwasochłonne, granulocyty obojętnochłonne. Piątą grupę stanowią obiekty niespełniające warunków stawianych komórkom. Są to komórki przecięte, cienie komórkowe, pozostałości cew, naczynia krwionośne, ślady błon mięśniowych i śluzowych itd. W tabeli 6.1 przedstawiono liczby komórek należących do poszczególnych klas, użytych w eksperymentach numerycznych.

Tabela 6.1 Liczebność poszczególnych klas komórek zapisanych w bazie

Rodzaj komórek	Liczba
Limfocyty	511
Plazmocyty	420
Granulocyty kwasochłonne	253
Granulocyty obojętnochłonne	187
Razem	1371

Jest wyraźnie widoczne, że liczba komórek dwóch pierwszych klas (limfocytów i plazmocy-

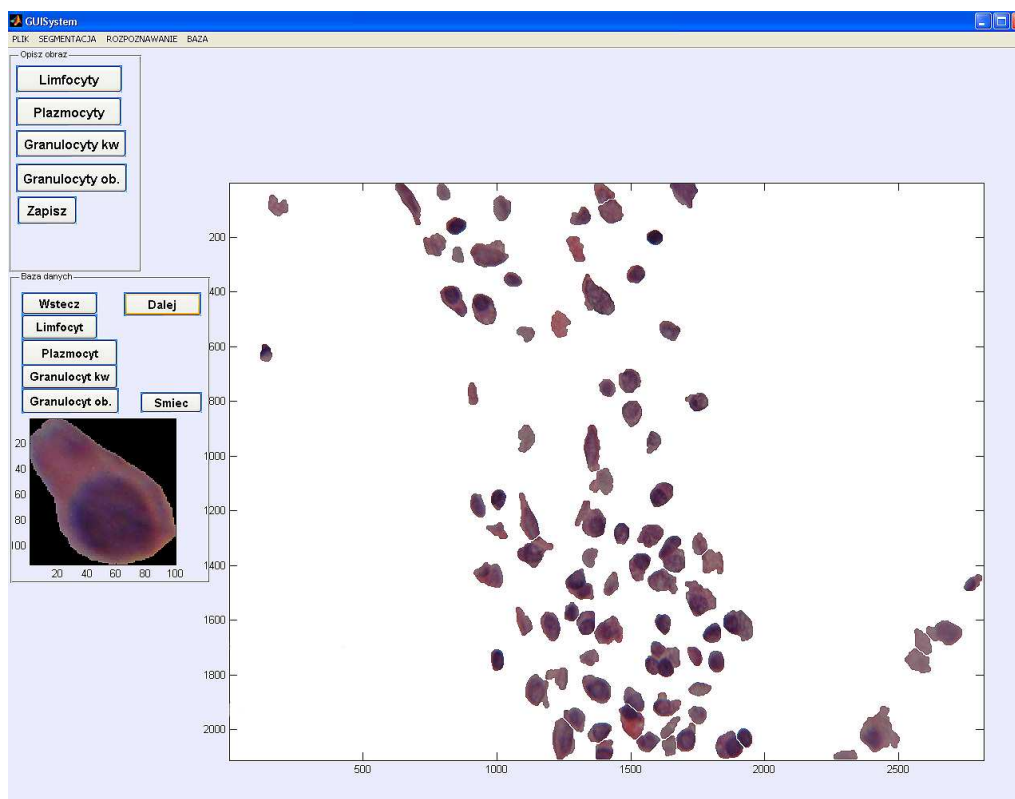


Rysunek 6.10 Widok interfejsu graficznego systemu z wczytanym zdjęciem tkanki jelita

tów) jest znacznie większa niż pozostałych. Spowodowane jest to ich licznym występowaniem w obrazach. Limfocytów i plazmocytów jest z reguły dużo więcej niż granulocytów. Najmniej liczną klasą są granulocyty obojętnochłonne. Ich pojawienie się w obrazie wskazuje na silny stan zapalny. W obrazach tkanek jelita jest ich tak mało, że dla umożliwienia poprawnego uczenia klasyfikatora konieczne było wyodrębnienie komórek tego rodzaju z

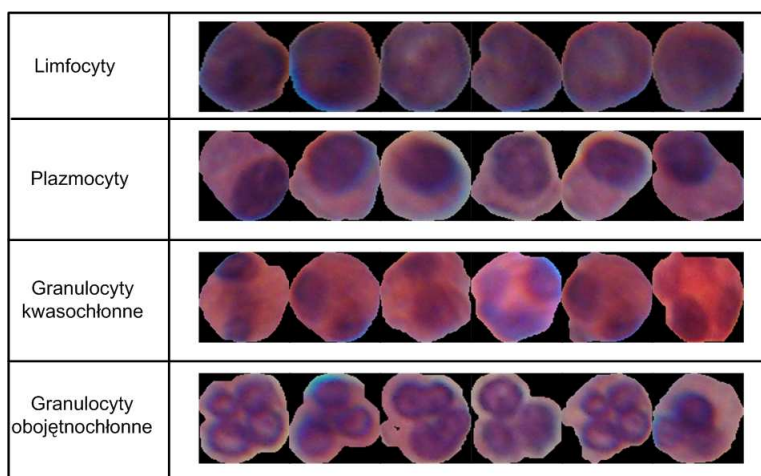
obrazów tkanek żołądka (niepodlegających przetwarzaniu w niniejszej pracy).

W pracy stworzono system przetwarzania i klasyfikacji komórek, działający w środowisku



Rysunek 6.11 Widok interfejsu graficznego systemu po wykonanej segmentacji

Matlab, wykonujący w sposób automatyczny kolejne etapy przetwarzania,



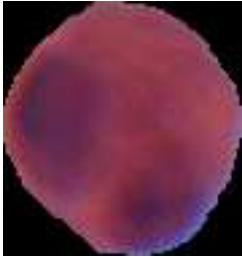
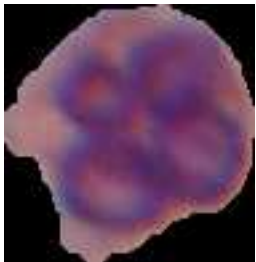


Rysunek 6.12 Przykłady komórek tworzących bazę danych uczących

w tym implementację algorytmów segmentacyjnych, zapis segmentowanych komórek do

pliku, jak również pełne przeprowadzenie procesu klasyfikacyjnego. Rys. 6.10 ilustruje interfejs graficzny systemu z wczytanym obrazem tkanki jelita. Po wczytaniu obrazu system może wykonać pełny zakres przetwarzania kończący się klasyfikacją komórek bądź też dokonać tylko segmentacji służącej zapisowi komórek do bazy, co pokazuje rys. 6.11.

Tabela 6.2 Typowe obrazy komórek należących do poszczególnych rodzin

Nazwa	Właściwości	Obraz
Limfocyt	Brak lub bardzo mało cytoplazmy. Najmniejsza powierzchnia. Ciemne pojedyncze jądro. Kolor czarny lub ciemny granat.	
Plazmocyt	Dużo cytoplazmy. Jądro ciemne, przesunięte względem centrum. Cytoplazma jasna.	
Granulocyt kwasochłonny	Dużo czerwono wybarwionej cytoplazmy. Dwa ciemne jądra, przesunięte względem centrum.	
Granulocyt obojętnochłonny	Charakterystyczne jądro o kształcie połączonych kul, położone centralnie. Lekko czerwona (różowa) cytoplazma.	

Jak przedstawiono na ilustracji 6.11, wydzielone komórki można obejrzeć w powiększeniu przed zapisem do bazy danych. Ma to na celu zapobieżenie ewentualnym pomyłkom.

W tabeli 6.2 przedstawiono typowe obrazy komórek należących do poszczególnych rodzin oraz ich krótką charakterystykę. Należy podkreślić, że poszczególne rodzaje komórek należące do tej samej rodziny mogą różnić się znacząco między sobą. Różnice dotyczą wybarwienia, wielkości, kształtu oraz położenia jądra w komórce, jak również proporcji wielkości jądra i cytoplazmy. Na rys. 6.12 przedstawiono po 6 reprezentantów poszczególnych typów komórek. Ilustrują one trudności stawiane klasyfikatorom na etapie rozpoznania.

6.4 Cechy diagnostyczne

Automatyczne rozpoznanie komórek przy użyciu klasyfikatorów na podstawie ich obrazu wymaga zastosowania opisu za pomocą skończonego zbioru parametrów charakteryzujących różne aspekty obrazu. Parametry te nazywać będziemy dalej cechami diagnostycznymi. Cechy te powinny odzwierciedlać takie elementy obrazu, które brane są pod uwagę przy wzrokowym rozpoznaniu komórek prowadzonym przez eksperta. W pracy zaproponowano cechy diagnostyczne uwzględniające geometrię komórek, rozkład stopni jasności (histogram kolorów), statystykę rozkładu kolorów oraz tekstury [19, 34, 39, 70, 76, 81].

Powyższe cechy diagnostyczne w lepszy lub gorszy sposób różnicują poszczególne rodzaje komórek. Dla ujednolicenia wartości parametrów diagnostycznych konieczna jest ich normalizacja. W pracy zastosowano najprostszą normalizację typu min - maks, którą można opisać wzorem

$$x_i = \frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (6.1)$$

We wzorze tym x_{\min} i x_{\max} oznaczają odpowiednio najmniejszą i największą wartość i-tej cechy diagnostycznej w całej rodzinie komórek uwzględnionej w eksperymentach.

6.4.1 Cechy geometryczne

Cechy geometryczne odzwierciedlają właściwości geometryczne komórek i są związane z ich kształtem. W pracy użyto takich cech geometrycznych jak:

- pole powierzchni komórki, jądra, cytoplazmy;

- pole powierzchni wypukłej komórki - pole powierzchni wielokąta wypukłego opisanego na komórce - jądra, cytoplazmy;
- obwód rzeczywisty komórki, jądra;
- obwód wypukły komórki, jądra;
- długość średnicy dużej i małej całej komórki i jądra;
- stosunek długości średnicy dużej i małej całej komórki;
- stosunek pola jądra do pola komórki;
- stosunek pola cytoplazmy do pola komórki;
- stosunek pola jądra do pola cytoplazmy;
- odległość centrum jądra od centrum komórki.

6.4.2 Cechy teksturalne

Cechy teksturalne opisują właściwości tekstur komórek w ujęciu statystycznym. W opisie zastosowano metodę opisu tekstur bazującą na macierzy współpojawięń i parametrach Haralicka. W wyniku analizy teksturalnej obrazu zastosowano następujące parametry:

- kontrast obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.23)
- korelacja obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.24)
- energia obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.22)
- jednorodność obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.26)
- entropia obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.29)
- średnia ważona obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.27)
- wariancja obrazu jądra i cytoplazmy (wzór 3.28)

6.4.3 Cechy określone na podstawie histogramu

Następną grupę cech wyznaczono z histogramu obrazu komórek dla każdej barwy oddzielnie. Histogram opisuje rozkład poziomów jasności poszczególnych pikseli. Na jego podstawie wyznaczono cechy diagnostyczne takie jak:

- średnia wartość poziomów jasności pikseli, oddzielnie dla trzech kolorów (czerwonego, zielonego i niebieskiego) dla całej komórki, jądra oraz cytoplazmy;
- odchylenie standardowe poziomów jasności pikseli całej komórki, jądra oraz cytoplazmy obliczane oddzielnie dla trzech kolorów RGB;
- skośność rozkładu poziomów jasności pikseli całej komórki, jądra i cytoplazmy określana oddzielnie dla trzech kolorów RGB;
- kurtoza rozkładu poziomów jasności pikseli całej komórki, jądra i cytoplazmy określana oddzielnie dla trzech kolorów RGB;
- współczynniki wielomianu Hermita aproksymującego histogram. W pracy użyto wielomianów Hermita trzeciego stopnia [2].

6.4.4 Dodatkowe cechy diagnostyczne w postaci współczynników

Dodatkowe cechy diagnostyczne powstały jako funkcje bądź operacje określone na pewnych kombinacjach wcześniej zdefiniowanych cech. Część cech diagnostycznych w pracy zdefiniowano poprzez operacje na wcześniej zdefiniowanych cechach. Zbiór wszystkich cech współczynnikowych przedstawiono poniżej.

- Współczynnik eliptyczności, wyrażony jako stosunek dużej średnicy do małej

$$W_{spElip} = \frac{D}{d} \quad (6.2)$$

określony oddzielnie dla całej komórki oraz jądra.

- Współczynnik kolistości definiowany w postaci

$$W_{spKol} = \frac{4\pi P}{O^2} \quad (6.3)$$

gdzie P - pole powierzchni komórki, O - obwód rzeczywisty komórki, określony oddzielnie dla całej komórki, jądra oraz cytoplazmy.

- Współczynnik zwartości definiowany wzorem

$$WspZwar = \frac{O^2}{P} \quad (6.4)$$

określony oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.

- Współczynnik pofałdowania definiowany wzorem

$$WspPofald = \frac{Ow}{O} \quad (6.5)$$

gdzie Ow - obwód wypukły, O - obwód rzeczywisty,

określony oddzielnie dla komórki i jądra.

- Stosunek sumy jasności pikseli barwy czerwonej do sumy jasności pikseli barwy zielonej określany oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.
- Stosunek sumy jasności pikseli barwy czerwonej do sumy jasności pikseli barwy niebieskiej określany oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.
- Stosunek sumy jasności pikseli barwy zielonej do sumy jasności pikseli barwy niebieskiej określany oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.
- Stosunek sumy jasności pikseli barwy czerwonej do sumy jasności pikseli wszystkich barw komórki.
- Stosunek sumy jasności pikseli barwy zielonej do sumy jasności pikseli wszystkich barw określany oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.
- Stosunek sumy jasności pikseli barwy niebieskiej do sumy jasności pikseli wszystkich barw określany oddzielnie dla komórki, jądra i cytoplazmy.

Ostatnie 6 cech współczynnikowych zalicza się do grupy tzw. cech kolorymetrycznych. W ten sposób wygenerowano w sumie 101 cech diagnostycznych, które mogą stanowić składowe wektora \mathbf{x} podanego na wejście klasyfikatora. Spośród nich 19 to cechy geometryczne, 14 - teksturalne, 40 - cechy wyznaczone na podstawie histogramu i 28 to cechy współczynnikowe. Jest oczywiste, że zbiór wygenerowanych cech jest nadmiarowy. Zawiera pewne cechy dublujące się, skorelowane ze sobą, niejednoznaczne względem klasy komórek. Tego typu cechy mogą być traktowane jako szum zakłócający proces rozpoznawania. Dlatego bardzo ważnym etapem jest ocena jakości cech i ich selekcja prowadząca do wyodrębnienia zbioru cech najważniejszych, gwarantujących najlepsze wyniki rozpoznania.

6.5 Selekcja cech diagnostycznych

Propozycja cech diagnostycznych, omówiona w punkcie poprzednim, powstała jako wynik dyskusji przeprowadzonych z ekspertami Instytutu Patomorfologii oraz wielu wstępnych eksperymentów numerycznych. Stanowią one maksymalny rozmiar wektora \mathbf{x} . Eliminacja pewnych cech prowadząca do redukcji liczby wejść klasyfikatora powinna wpłynąć znacząco na zmniejszenie błędu zarówno uczenia, jak i testowania. Stąd selekcja cech diagnostycznych stanowi ważny etap w budowie skutecznego systemu rozpoznawania komórek [18, 81].

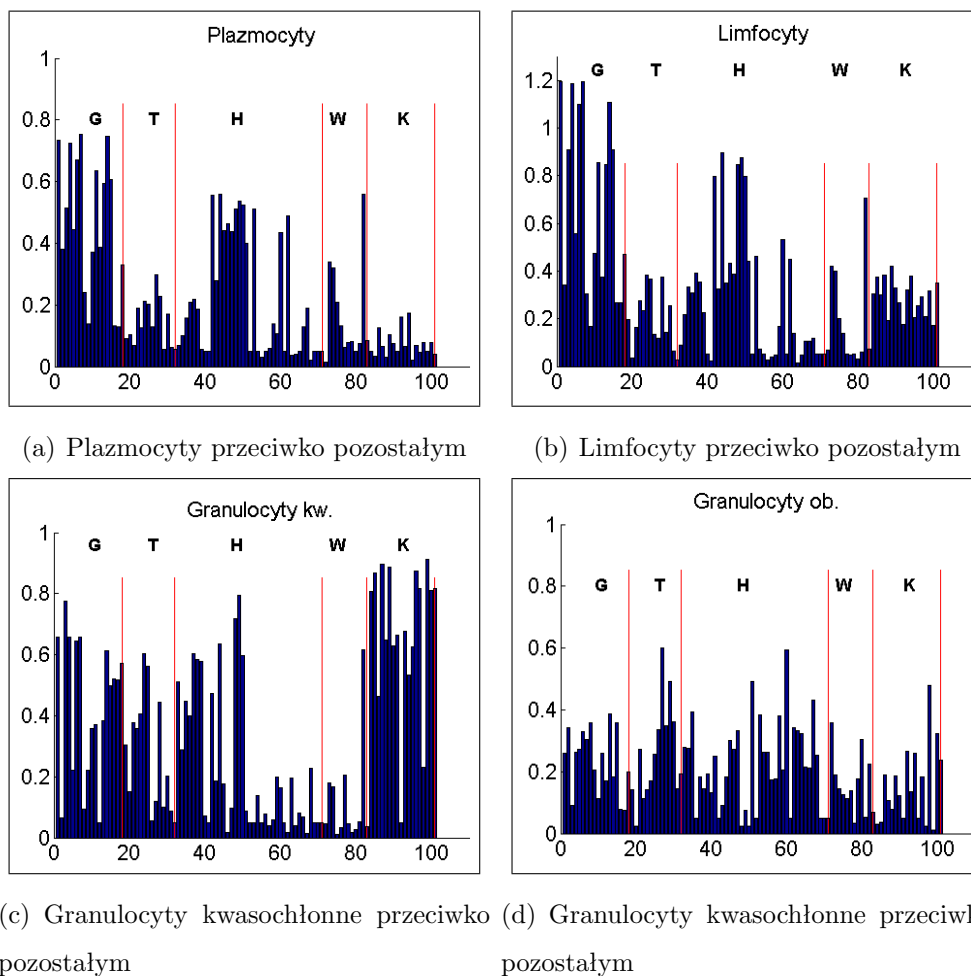
W pracy zastosowano metodę selekcji opartą na relacji między położeniami centrów i odchyleniem standardowym danych należących do poszczególnych klas [13]. Wartość diagnostyczną k -tej cechy w rozpoznaniu dwu klas: i -tej oraz j -tej określa wyrażenie

$$W_k(i, j) = \left| \frac{\mu_k(j) - \mu_k(i)}{\sigma_k(j) + \sigma_k(i)} \right| \quad (6.6)$$

gdzie $\mu_k(j), \mu_k(i)$ są wartościami średnimi k -tej cechy dla komórek należących do j -tej oraz i -tej klasy a $\sigma_k(j), \sigma_k(i)$ są odpowiednimi odchyleniami standardowymi.

Im większa jest wartość $W_k(i, j)$, tym cecha k lepiej różnicuje klasę i -tą oraz j -tą. Najlepsze cechy odpowiadają takim przypadkom, dla których odległości między centrami są duże, a odchylenia standardowe każdej klasy małe. Przykładowe wyniki rankingu cech przy klasyfikacji metodą „jedna klasa przeciw pozostałym” przedstawione są na rysunku 6.13. Oznaczenia na rysunku to odpowiednio: G - cechy geometryczne, T - cechy teksturalne, H - cechy wyliczone na podstawie histogramu, W - współczynniki, K - cechy kolorymetryczne - opisane w punkcie poświęconym cechom w postaci współczynników. Na rysunku 6.13 wyraźnie widać, że najlepiej różnicującymi cechami dla plazmocytoów i limfocytoów są w pierwszej kolejności cechy geometryczne, w drugiej cechy obliczone na podstawie histogramu. W przypadku granulocytoów kwasochłonnnych na miejscu pierwszym znajdują się cechy kolorymetryczne, co jest zrozumiałe, gdyż cytoplazma tych komórek jako jedyna posiada kolor czerwony.

Ranking pokazuje, które cechy najlepiej różnicują daną klasę komórek od pozostałych. Nie wskazuje jednak liczby cech najważniejszych, które powinny wejść w skład wektora \mathbf{x} . Dla rozwiązania tego problemu zastosowano w pracy metodę prób, przeprowadzając uczenie przy różnej liczbie najważniejszych cech. Liczba cech uwzględniających w uczeniu wynikała z przyjętego progu nakładanego na wartość wskaźnika $W_k(i, j)$. Dostępne dane



Rysunek 6.13 Ilustracja graficzna wyniku rankingu cech w systemie klasyfikacji jeden przeciw pozostałym

zostały podzielone na dane uczące i weryfikujące. Przeprowadzono szereg prób przy różnych wartościach progu. W tabeli 6.3 przedstawiono wyniki klasyfikacji komórek w formie średniego błędu względnego dla danych weryfikujących po zastosowaniu wszystkich cech ($W=0$) oraz dla progu W_0 , określonym dla każdej klasy oddzielnie.

Sieć SVM poddano uczeniu na zbiorze uczącym i testowaniu na zbiorze weryfikującym, który nie uczestniczy w uczeniu. Wyniki z tabeli pokazują błąd testowania przy zastosowaniu wszystkich cech (kolumna druga) oraz optymalnej liczbie cech odpowiadającej wyselekcjonowanym (w wyniku przeprowadzonych eksperymentów) wartościom progu W_0 (kolumna trzecia), odpowiednim dla każdego rodzaju sieci SVM.

Tylko w przypadku plazmocytołów maksymalny zbiór cech pozwalał uzyskać najmniejszą wartość błędu równą 6,25%, choć optymalnym progiem okazała się wartość $W_0 = 0, 1$,

Tabela 6.3 Błąd testowania poszczególnych klas przy użyciu wszystkich cech i cech wybranych dla określonej wartości progu W_0

Rodzaj klasyfikacji	Błąd klasyfikacji dla $W = 0$	Błąd klasyfikacji dla $W \geq W_0$
Limfocyty	3.70%	2.78% ($W_0 = 0.3$)
Plazmocyty	6.25%	6.25% ($W_0 = 0.1$)
Granulocyty kw.	4.14%	2.57% ($W_0 = 0.2$)
Granulocyty ob.	5.6%	4.81% ($W_0 = 0.2$)

Tabela 6.4 Skład optymalnych wektorów cech dla poszczególnych klasyfikatorów

Rodzaj klasyfikacji	Wartość W_0	wielkość wektora
Limfocyty	0.3	50
Plazmocyty	0.1	79
Granulocyty kw.	0.2	53
Granulocyty ob.	0.2	48

zapewniająca ten sam poziom błędu przy zredukowanej liczbie cech. W pozostałych przypadkach przyjęcie progu $W_0 > 0$ pozwalało na znaczną redukcję błędu. Zauważmy, że przyjęcie progu różnego od zera oznacza redukcję tych cech, których wartości diagnostyczne znalazły się poniżej przyjętego progu. W tabeli 6.4 przedstawiono liczebność optymalnego zbioru cech dla każdego z rodzajów sieci SVM, rozpoznających limfocyty, plazmocyty, granulocyty kwasochłonne i obojętnochłonne.

Rozdział 7

Analiza wyników działania systemu

System rozpoznający i klasyfikujący komórki, przedstawiony w poprzednim rozdziale, poddany został wielu testom statystycznym na wielu pacjentach, wyselekcjonowanych przez lekarzy - ekspertów. Preparaty do testowania pochodziły z archiwum Instytutu Patomorfologii i były tworzone na przestrzeni kilku lat przez różne osoby personelu. Z powodu używania barwników z różnych serii produkcyjnych oraz upływu czasu preparaty te znacznie różniły się pod względem barwienia, co ma znaczny wpływ na końcowy wynik klasyfikacji. Cyfrowe obrazy mikroskopowe preparatów zostały wykonane osobiście przez autora rozprawy. Sam proces wykonywania zdjęć był pracochłonny i zajął ponad 60 godzin. Skład preparatów został dobrany przez pracownika Instytutu w taki sposób, aby próbki reprezentowały zarówno poszczególne etapy stanu zapalnego, jak i różne jednostki chorobowe. Preparaty dobierane były pod kątem ich przydatności w badaniach naukowych nad chorobami, stąd można uznać, że dla końcowej oceny systemu klasyfikacyjnego są one w pełni reprezentatywne. Ogółem preparaty pobrane były od 200 pacjentów i zawierały różne jednostki chorobowe (wrzodziejące zapalenie jelita grubego - Colitis Ulcerosa, choroba Leśniowskiego-Crohna, zapalenia kolagenowe oraz nieswoiste postaci). Z każdego preparatu pochodzącego od jednego pacjenta uzyskano trzy zdjęcia - jedno o powiększeniu 100x i dwa o powiększeniu 600x. Zdjęcia o powiększeniu 600x były robione w dwóch różnych miejscach: na powierzchni i w głębi wycinka tkanki, tak aby badanie było bardziej reprezentatywne. Każda seria 3 zdjęć (a więc jeden pacjent) opisywana była w taki sposób, aby nazwa odzwierciedlała rodzaj zdjęcia. Na przykład P378-10x, P378-prof, P378-sup mają następujące znaczenie: P378 - numer pacjenta w archiwum, 10x oznacza powiększenie stukrotne (10x powiększenie obiektywu oraz 10x powiększenie okularu), *prof*

oznacza zdjęcie o powiększeniu całkowitym 600x i zrobione w głębi tkanki, natomiast *sup* oznacza zdjęcie o powiększeniu całkowitym również 600x i zrobione na powierzchni tkanki.

Na wypadkową dokładność działania opracowanego systemu składa się wiele elementów. Są to:

- dokładność wydzielenia komórek, mierzona stosunkiem liczby zidentyfikowanych prawidłowo komórek względem rzeczywistej ich liczby,
- dokładność rozpoznania wydzielonych komórek jako stosunek liczby prawidłowo rozpoznanych do całkowitej ich liczby,
- określenie całkowitej dokładności działania systemu, uwzględniającej oba wymienione wcześniej rodzaje błędów.

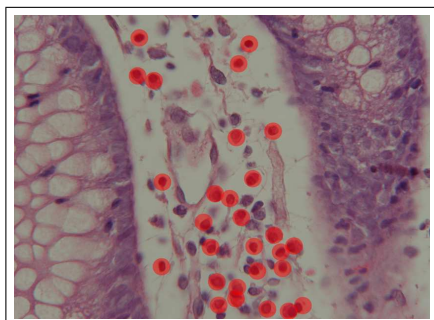
Obiektywne określenie jakości działania systemu wymaga przeprowadzenia szeregu badań statystycznych, porównywanych z wynikami ekspertów ludzkich. Badania te powinny być przeprowadzone dla preparatów reprezentujących różne stadia rozwoju choroby, ponieważ każde stadium reprezentuje inną skalę trudności. Dotyczy to w szczególności zadania ekstrakcji komórek z obrazu tkanki.

7.1 Ocena jakości działania systemu ekstrakcji komórek

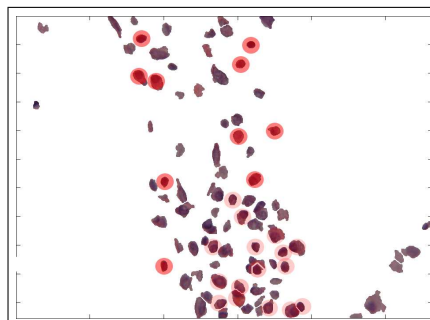
Ekstrakcja komórek z obrazu tkanki napotyka szereg trudności związanych z niedoskonałą jakością obrazu, występowaniem szeregu artefaktów, różnym stopniem zaawansowania stanu zapalnego jelita, różnorodnością barwienia komórek itp. Na rys. 7.1 pokazano wyniki działania algorytmu segmentacji. Kolorem czerwonym zaznaczono na obrazach wejściowych wskazane przez lekarza eksperta komórki występujące w obrazie, które powinny znaleźć się na obrazie wynikowym. Idealne działanie systemu ekstrakcji oznacza, że obraz wynikowy powinien zawierać wszystkie komórki obrazu oryginalnego. Jako miarę jakości procesu ekstrakcji przyjęto w rozprawie stosunek liczby dobrze wydzielonych komórek przez system do liczby wszystkich komórek na obrazie oryginalnym zaznaczonych przez eksperta

$$Q_{ekstr} = \frac{N_{syst}}{N_{exp}} \quad (7.1)$$

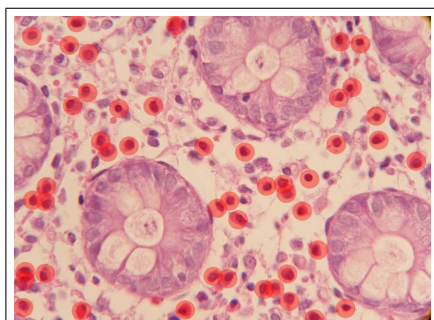
Należy podkreślić, że ocena ilościowa działania algorytmu segmentacji jest bardzo pra-



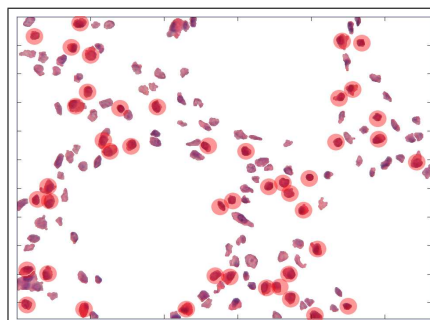
(a) Obraz tkanki jelita p312-prof



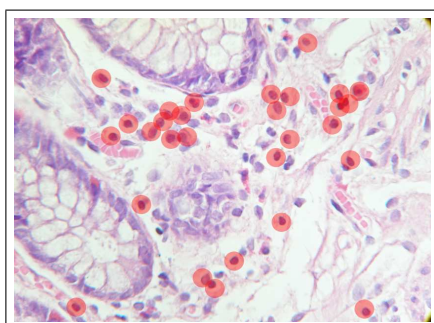
(b) Wydzielone komórki



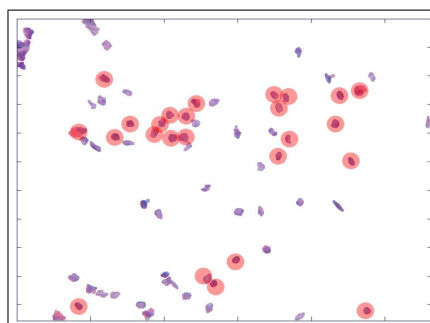
(c) Obraz tkanki jelita p159-prof-02



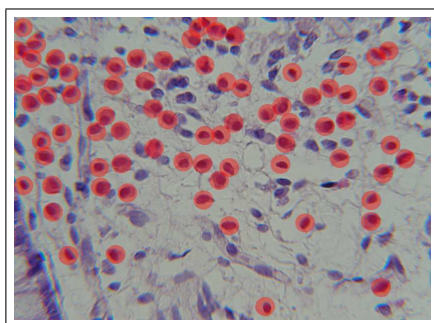
(d) Wydzielone komórki



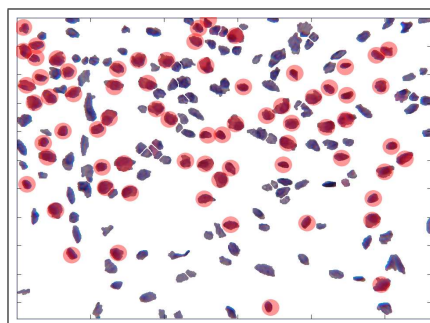
(e) Obraz tkanki jelita P694-prof



(f) Wydzielone komórki



(g) Obraz tkanki jelita p2902-sup



(h) Wydzielone komórki

Rysunek 7.1 Ilustracja graficzna wyników działania algorytmu segmentacji dla różnych wycinków tkanki jelita w powiększeniu 600x

cochlonna, gdyż wymaga porównania każdej komórki obrazu wyjściowego z odpowiednią komórką wysegmentowaną przez system. Nie wystarczy porównać liczby komórek w obu obrazach. Ważna jest dokładność wycięcia danej komórki z otaczającego ją tła. Wycięta komórka nie może być pozbawiona cytoplazmy, gdyż to prowadzi do pomyłek w dalszej klasyfikacji (np. plazmocyty po utracie części cytoplazmy stają się identyczne z limfocytami). Oceny, czy każda komórka została wycięta poprawnie, dokonał autor rozprawy według instrukcji udzielonych przez pracowników Instytutu.

W tabeli 7.1 przedstawiono zestawienie liczby komórek w obrazach wyjściowych według eksperta ludzkiego z liczbą komórek wydzielonych przez system. Pozwoliło to na określenie wskazania jakości Q_{ekstr} oraz błędu segmentacji dla przykładowych, losowo wybranych przez lekarza eksperta obrazów. Nietrudno zauważyć, że błąd segmentacji zawiera się między 4,25% a 16,6%. Zdaniem lekarzy specjalistów, uzyskane wyniki ekstrakcji komórek są całkowicie zadowalające, a różnice w liczbie komórek mieszczą się w akceptowanym zakresie tolerancji.

Tabela 7.1 Wyniki liczbowe automatycznego wydzielenia komórek występujących w obrazach z rys. 7.1

Nazwa	N_{eks}	N_{syst}	Q_{ekstr}
p312-prof	28	26	7,15%
p159-prof-02	47	45	4,25%
p694-prof	30	25	16,6 %
p2902-sup	75	70	6,66 %

7.2 Analiza wyników klasyfikacji komórek z bazy danych uczących

Po wydzieleniu poszczególnych komórek z obrazu tkanki i umieszczeniu ich w bazie danych następuje kolejny etap: rozpoznanie typu komórek i przypisanie ich do określonej klasy (jednej z czterech) lub wskazanie „komórki” jako artefaktu. W opracowanym systemie zadanie rozpoznania jest wykonywane przez zespół 5 klasyfikatorów:

- klasyfikator oparty na perceptronie wielowarstwowym,

- klasyfikator RBF,
- klasyfikator wykorzystujący metodę K najbliższych sąsiadów (KNN),
- klasyfikator Fishera,
- klasyfikator oparty na sieci SVM.

W badaniach wykorzystano stworzoną przez autora bazę danych przedstawioną w tabeli 6.1, zawierającą w sumie 1371 komórek. Dla uzyskania najbardziej obiektywnej miary jakości systemu klasyfikacyjnego zastosowano metodę krosvalidacji (ang. *cross-validation*). Polega ona na podzieleniu danych na n (w przybliżeniu równych) zbiorów i trenowaniu klasyfikatora na $n - 1$ zbiorach, pozostawiając jeden do testowania. Cały proces powtarza się, zamieniając zbiór testujący na jeden z uczących. Operacje wykonuje się n razy, aż wszystkie n zbiorów poddane zostaną testowaniu. Na końcu oblicza się średni błąd testowania ze wszystkich prób. W pracy przyjęto $n = 8$.

Badania przeprowadzono na zbiorze komórek o następujących liczebnościach: 511 limfocytów, 420 plazmocytów, 253 granulocytów kwasochłonnych i 187 granulocytów obojętnochłonnych. Zgodnie z omówioną wcześniej procedurą selekcji przeprowadzono wartościowanie wszystkich cech diagnostycznych dla najlepszego rozpoznania w systemie „jeden przeciw pozostałym”. Oznaczało to wygenerowanie osobnych zbiorów cech w czterech kategoriach odpowiadających za rozpoznanie każdej z czterech rodzin komórek, skonfrontowanej z trzema pozostałymi. W efekcie tak przeprowadzonej selekcji uzyskano zbiory cech optymalnych (przedstawione szczegółowo w w punkcie 6.6) użyte w eksperymentach. Szczegółowe wyniki rozpoznania w postaci zestawienia średnich błędów testowania uzyskanych w każdej z 8 prób dla wszystkich rodzajów klasyfikatorów przedstawiono w tabeli 7.2. Dwie ostatnie kolumny przedstawiają odpowiednio wartości średnie i odchylenie standardowe błędów dla każdego typu komórek i klasyfikatorów.

Zwraca uwagę fakt, że zespół klasyfikatorów pozwalał na uzyskanie najlepszych wyników rozpoznania dla każdej rodziny komórek. Redukcja błędów w stosunku do najlepszego klasyfikatora indywidualnego (SVM) zależy od typu komórek i waha się od 0,02% (granulocyty kwasochłonne) do 0,87% (limfocyty).

Dla lepszej przejrzystości wyników w tabeli 7.3 przedstawiono zestawienie błędów, posortowanych według wartości malejących (od największego do najmniejszego). Zestawienie dotyczy każdej rodziny komórek oddzielnie. Spośród klasyfikatorów indywidualnych

Tabela 7.2 Błąd klasyfikacji dla poszczególnych klasyfikatorów w poszczególnych próbach metody krosvalidacji

Klas.	Klasa	1	2	3	4	5	6	7	8	Śred.	Odch.
Fisher	Limf.	3.44%	4.84%	1.66%	6.35%	5.08%	3.17%	4.92 %	6.35%	4.47%	1.61 %
	Plazm.	3.45%	12.9%	11.67%	6.35%	6.78%	11.11%	6.56%	11.11 %	8.74%	3.37 %
	G.kw.	5.17%	1.61%	3.33%	3.17%	10.16%	6.34%	4.91%	1.58%	4.53%	2.83%
	G.ob.	8.62%	11.29%	5.0%	3.17%	5.08%	3.17%	4.91%	4.76%	5.75%	2.79%
KNN	Limf.	3.45%	6.45%	3.33%	7.94%	1.69%	4.76%	3.28%	6.35%	4.65%	2.09%
	Plazm.	8.62%	3.23%	6.67%	4.76%	6.78%	9.52%	8.19%	6.35%	6.76%	2.06%
	G.kw.	6.89%	1.61%	1.66%	4.76%	0%	3.17%	4.91%	3.17%	3.27%	2.20%
	G.ob.	3.44%	4.83%	8.33%	9.52%	3.39%	1.58%	6.55%	3.17%	5.10%	2.77%
MLP	Limf.	3.44%	9.67%	8.73%	9.52%	1.69%	3.17%	3.27%	8.73%	6.02%	3.40%
	Plazm.	5.17%	8.12%	6.66%	7.93%	7.42%	8.28%	9.83%	9.39%	7.85%	1.48%
	G.kw.	5.17%	1.61%	5.0%	9.52%	3.38%	6.34%	3.27%	4.76%	4.88%	2.36%
	G.ob.	3.44%	9.67%	6.66%	3.17%	5.08%	3.17%	8.19%	7.93%	5.91%	2.55%
RBF	Limf.	3.44%	4.83%	1.66%	7.93%	1.69%	4.76%	3.27%	6.35%	4.24%	2.18%
	Plazm.	8.62%	3.22%	3.33%	4.76%	6.77%	3.17%	8.19%	6.34%	5.55%	2.24%
	G.kw.	6.89%	1.61%	1.66%	4.76%	0%	3.17%	4.91%	3.17%	3.27%	2.2%
	G.ob.	1.72%	4.83%	8.33%	3.17%	3.38%	1.58%	6.55%	3.17%	4.09%	2.35%
SVM	Limf.	1.72%	8.06%	3.33%	7.93%	0%	3.17%	1.64%	3.17%	3.63%	2.91%
	Plazm.	3.44%	6.45%	3.33%	4.76%	5.08%	3.17%	6.55%	7.93%	5.08%	1.75%
	G.kw.	3.44%	1.61%	0%	4.76%	3.38%	3.17%	3.27%	3.17%	2.85%	1.43%
	G.ob.	3.44%	8.06%	6.66%	4.76%	3.38%	0%	3.28%	0%	3.70%	2.84%
Zespół	Limf.	1.72%	6.66%	3.33%	4.76%	0%	2.84%	1.64%	3.17%	3.01%	2.04%
	Plazm.	3.17%	6.45%	3.17%	3.23%	4.83%	3.17%	6.55%	5.91%	4.56%	1.55%
	G.kw.	3.17%	1.61%	0%	4.76%	3.38%	3.17%	3.27%	3.17%	2.81%	1.41%
	G.ob.	3.44%	6.55%	6.66%	4.76%	3.38%	1.72%	1.58%	0%	3.51%	2.39%

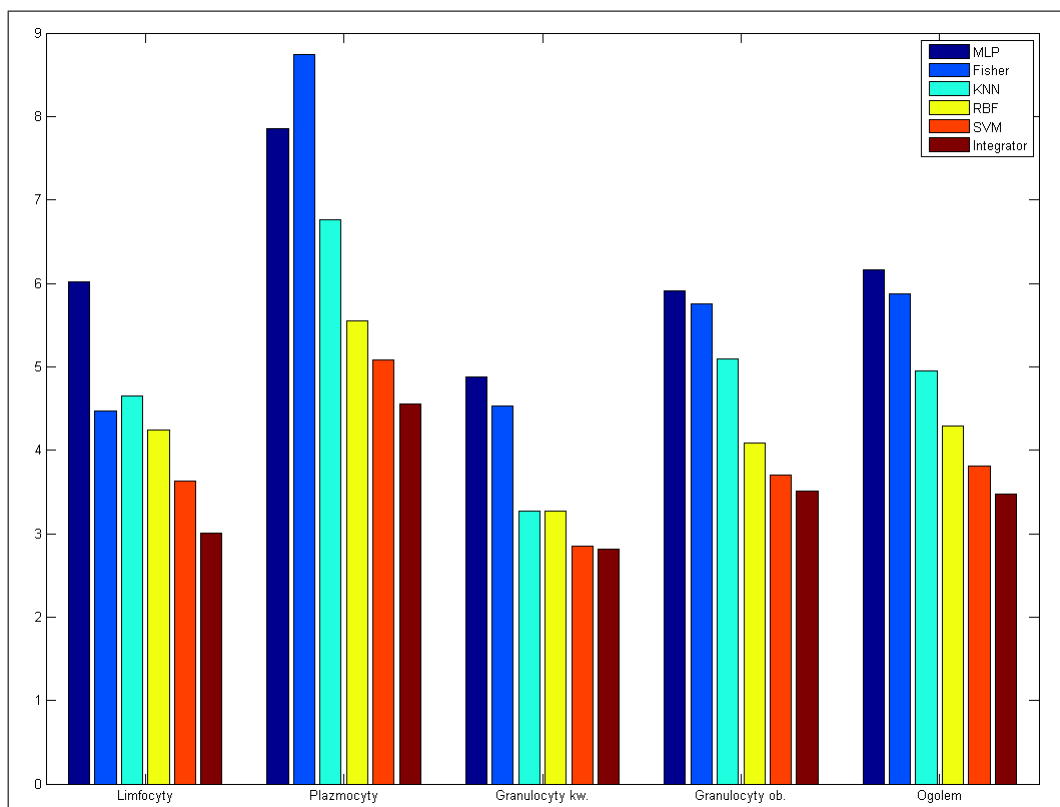
najlepsze wyniki uzyskano dla sieci SVM, która zdecydowanie górowała nad następnym rozwiązaniem RBF. Jedynie zespół klasyfikatorów był w stanie zdystansować sieć SVM, prowadząc każdorazowo do poprawy wyników. Na rys. 7.2 przedstawiono graficzne zestawienie błędów średnich rozpoznania poszczególnych klas komórek, uzyskane przy różnych rozwiązaniach klasyfikatorów. Następną próbą dotyczyła wyeliminowania najslabszego klasyfikatora (MLP) z zespołu i przeprowadzenia integracji w zespole 4 klasyfikatorów zamiast dotychczasowych pięciu. W wyniku przeprowadzonych prób stwierdzono pogorszenie wyników w stosunku do pełnego zespołu, stąd w dalszych próbach eksperymentalnych stosowano zespół 5 klasyfikatorów.

7.3 Wyniki działania systemu automatycznego na reprezentatywnych obrazach tkanek jelita

Po przeprowadzeniu badania krosvalidacyjnego systemu rozpoznania komórek z wykorzystaniem przygotowanej specjalnie bazy danych (1371 komórek) zastosowano proces uczenia systemu na pełnej bazie danych i przystąpiono do jego testowania na obrazach tkanek pacjentów wyselekcjonowanych przez lekarzy. Celem tego badania była ocena całego sys-

Tabela 7.3 Porównanie błędów poszczególnych klasyfikatorów dla poszczególnych klas

Klasyfikator	Klasa	Błąd
MLP	Limf.	6.02%
KNN	Limf.	4.65%
Fisher	Limf.	4.47%
RBF	Limf.	4.24%
SVM	Limf.	3.63%
Zespół	Limf	3.01%
Fisher	Plazm.	8.74 %
MLP	Plazm.	7.85%
KNN	Plazm.	6.76%
RBF	Plazm.	5.55 %
SVM	Plazm.	5.08 %
Zespół	Plazm	4.56%
MLP	G.kw.	4.88%
Fisher	G.kw.	4.53%
KNN	G.kw.	3.27%
RBF	G.kw.	3.27%
SVM	G.kw.	2.85%
Zespół	G.kw.	2.81%
MLP	G.ob.	5.91%
Fisher	G.ob.	5.75%
KNN	G.ob.	5.10%
RBF	G.ob.	4.09%
SVM	G.ob.	3.70%
Zespół	G.ob.	3.51%



Rysunek 7.2 Porównanie błędów testowania poszczególnych klasyfikatorów

temu automatycznego z uwzględnieniem błędów ekstrakcji komórek oraz ich rozpoznanie. Zauważmy, że w tym przypadku należy liczyć się z wystąpieniem klasy piątej (obiekty wyselekcjonowane błędnie jako komórki, a będące w rzeczywistości artefaktami, przeciętymi fragmentami komórek itp.) Badanie tego typu odpowiada warunkom szpitalnym i pozwala na ocenę jakości zbudowanego systemu i możliwości jego ewentualnego zastosowania w warunkach szpitalnych.

W tym etapie badania wzięto pod uwagę różne stadia rozwoju stanu zapalnego jelita, porównując wyniki działania systemu z wynikami ekspertów. Dla obiektywizacji oceny posłużono się niezależną oceną zdjęć dokonaną przez trzech ekspertów będących lekarzami patomorfologami pracującymi w Instytucie Patomorfologii WIM. W badaniach porównawczych, przy obliczaniu błędu ekspertów, za wskazania poprawne uznawano tylko te, w których oceny ekspertów były identyczne dla komórki. Jeżeli wskazania różniły się, traktowano je jako rozpoznanie błędne. Takie podejście zastosowano do 6 starannie dobranych pacjentów, z których dwóch reprezentowało stan lekki zapalenia, dwóch stan średni i dwóch - stan ciężki (mocno zaawansowany).

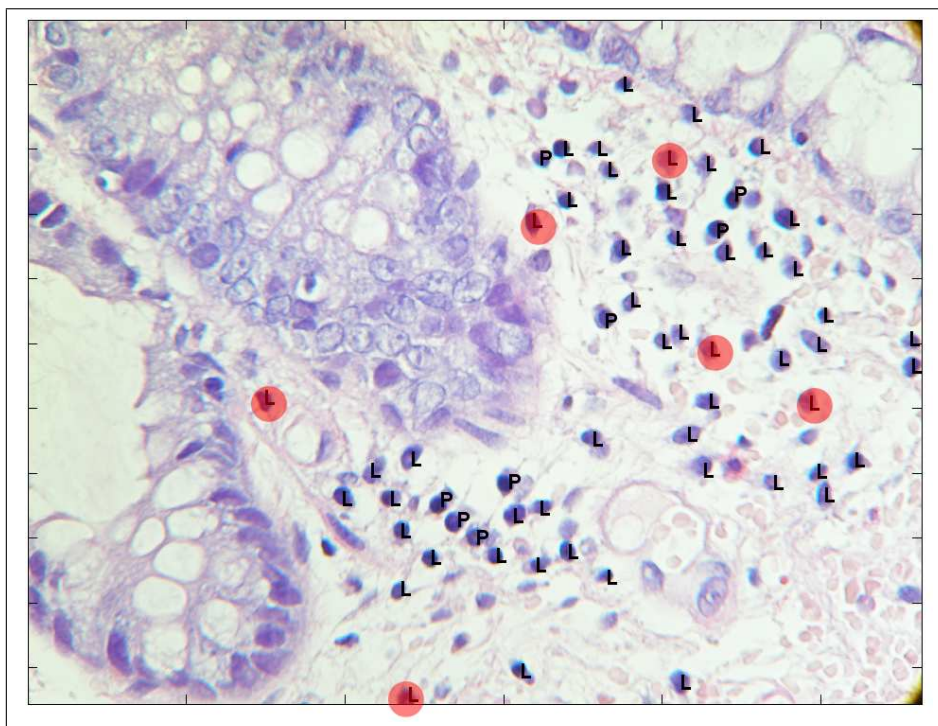
Średni błąd względny określenia liczby komórek reprezentujących wszystkie rodziny w obrazie jest określony wzorem

$$e = \frac{\Delta L + \Delta P + \Delta Gk + \Delta Go}{N} \quad (7.2)$$

gdzie ΔL , ΔP , ΔGk , ΔGo oznaczają różnice wskazań systemu i ekspertów dla poszczególnych klas komórek, N - sumę wszystkich komórek wskazanych przez ekspertów.

7.3.1 Pacjent nr 1

Dla pierwszego zdjęcia o małym nasileniu stanu zapalnego wynik działania systemu ilustruje rysunek 7.3. Litery P, L zaznaczone na obrazie oznaczają typ komórki (L - limfocyt, P - plazmocyty). Wynik w postaci zliczonych komórek zapisywany jest również do pliku



Rysunek 7.3 Wynik działania systemu z zaznaczonymi na czerwono wskazaniem błędnymi dla obrazu p7674-sup

Excela, wspólnego dla wszystkich przebadanych zdjęć.

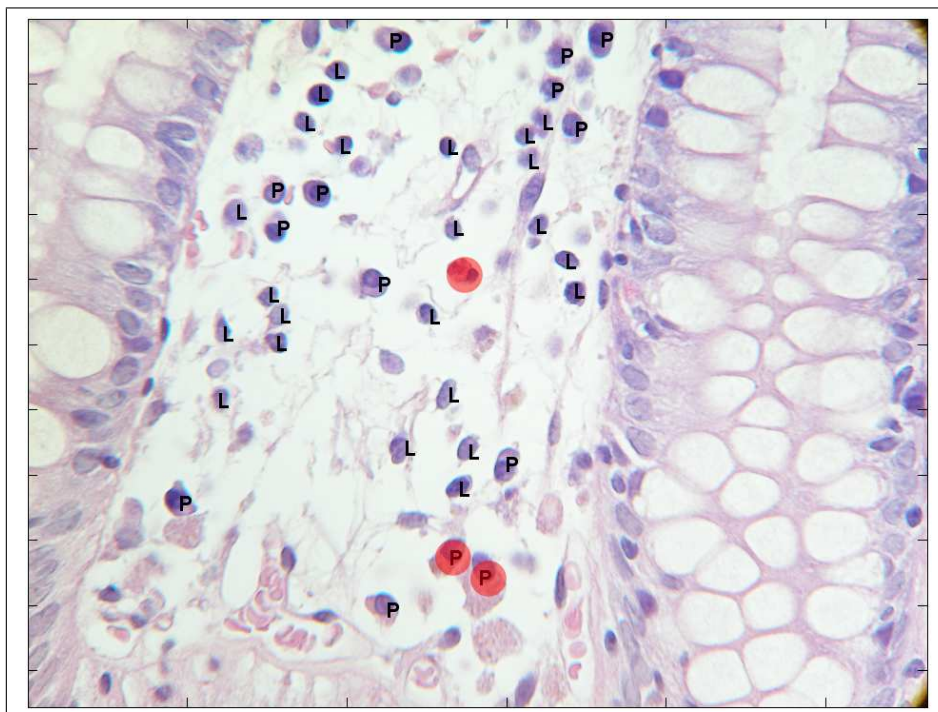
Na rysunku 7.3 widać (zaznaczono to czerwonym kolorem), że ekspert wskazał 6 błędnych wyników systemu automatycznego. Są to komórki rozpoznane jako limfocyty, choć, zdaniem ekspertów, trzy z nich nie reprezentują żadnego typu komórek (artefakty), a trzy pozostałe eksperci zaklasyfikowali jako plazmocyty.

Tabela 7.4 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 1

Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	52	8	0	0	60
Eksperci	46	11	0	0	57

W tabeli 7.4 zestawiono liczby odpowiednich klas komórek określone przez system oraz ekspertów. Ponieważ liczba komórek w obrazie jest, zdaniem ekspertów, równa 57, więc przy 9 błędnych wskazaniach błąd względny wyniku jest równy 15,78%. Przyjmując wyżej opisane kryteria określenia błędu ekspertów ludzkich, stwierdzono 3 pomyłki eksperckie przy opisywaniu zdjęcia. Przy 57 komórkach (3 z obiektów zaklasyfikowanych przez system jako komórki w ocenie ekspertów nie były komórkami) błąd popełniony przez ekspertów równy jest 5.2%.

7.3.2 Pacjent nr 2



Rysunek 7.4 Wynik działania systemu z zaznaczeniem wskazań błędnych (kolor czerwony) dla obrazu p9138-sup

U pacjenta nr 2 (oznaczenie w archiwum P9138) podobnie jak u pierwszego stwierdzono lekki stan zapalny. Eksperci przy opisywaniu tego zdjęcia popełnili jedną pomyłkę, co w rezultacie odpowiada błędowi względnemu 2.7%. Stwierdzono w sumie obecność 36 komórek. Wyniki rozpoznania komórek uzyskane przez system automatyczny przedstawia rysunek 7.4. Zestawienie ilościowe rozpoznanych komórek wykonane przez system automatyczny i wskazania eksperta przedstawione są w tabeli 7.5.

Tabela 7.5 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 2

Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	23	14	0	0	37
Eksperci	23	12	1	0	35

Przyjmując liczbę błędnych rozpoznań przez system za 3, przy liczebności wszystkich komórek na obrazie równej 36, otrzymuje się względny błąd klasyfikacji popełniony przez system automatyczny równy 8.3%.

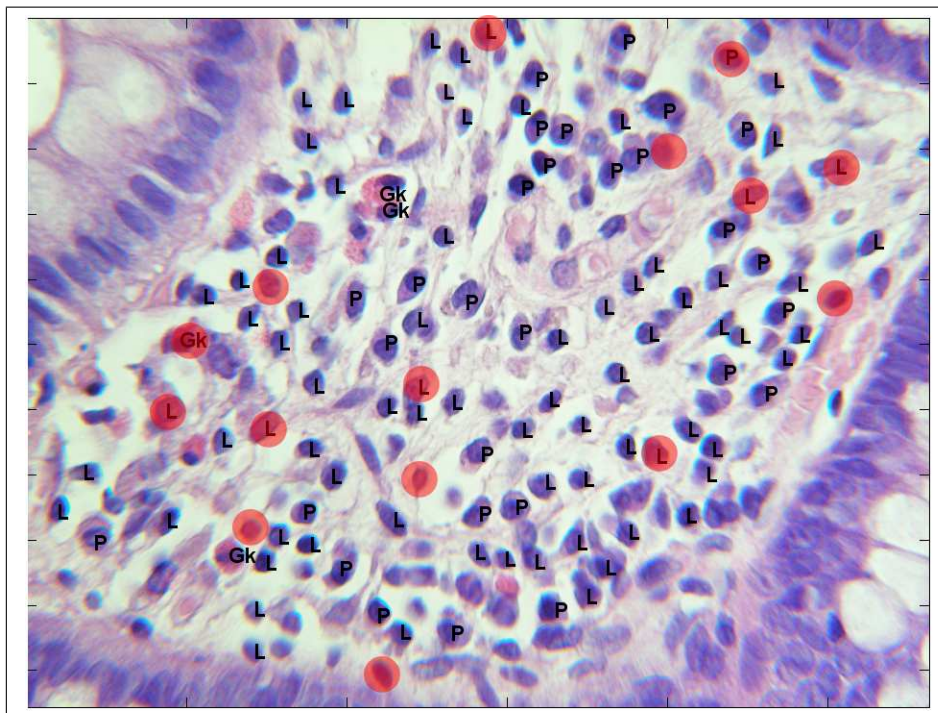
7.3.3 Pacjent nr 3

Pacjent nr 3 (oznaczenie w archiwum P11837) charakteryzował się średnio nasilonym stanem zapalnym. System automatyczny dokonał rozpoznania, którego wyniki w postaci graficznej przedstawione są na rysunku 7.5. Można zauważyć 15 wskazań błędnych systemu (w stosunku do wyników ekspertów). W tabeli 7.6 zestawiono wyniki rozpoznania komórek wygenerowane przez system automatyczny i rezultaty pracy 3 ekspertów. Traktując wyniki ekspertów jako bazę referencyjną, można błąd względny systemu oszacować jako 7.9%.

Tabela 7.6 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 3

Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	75	30	4	0	109
Ekspert	68	30	3	0	101

Dla tego samego obrazu różnica wskazań ekspertów w stosunku do bazy referencyjnej



Rysunek 7.5 Wynik działania systemu z zaznaczonymi wskazaniami błędnymi dla obrazu p11837-sup

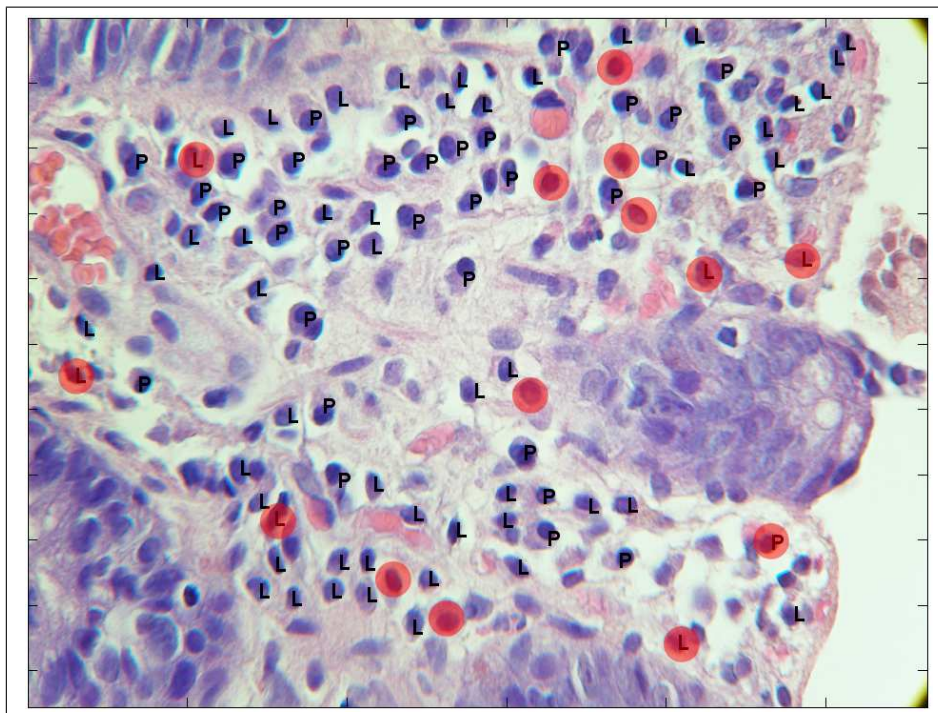
odpowiadały błędowi względnemu równemu 4,95%. Należy tu zaznaczyć, że błąd procentowy obliczony został na podstawie różnic liczebności finalnej komórek wskazanych w tabeli 7.6.

7.3.4 Pacjent nr 4

Obraz wycinka tkanki pacjenta nr 4 (oznaczenie w archiwum P10332) jest obrazem odpowiadającym średniemu nasileniu stanu zapalnego. System automatyczny, testowany na tym przykładzie, dokonał rozpoznania komórek w obrazie, generując wyniki przedstawione na rys. 7.6. W tabeli 7.7 zestawiono liczby poszczególnych rodzajów komórek podane przez badany system oraz ekspertów. Widać 15 wskazań błędnych. Porównanie wskazań systemu ze wskazaniami ekspertów zestawiono w tabeli 7.7

Suma różnic wskazań jest równa 13 (8 dla limfocytów i 5 dla plazmacytów). Przy 76 komórkach różnica wskazań odpowiada 17.1% błędowi względnemu w stosunku do bazy referencyjnej (wskazań trzech ekspertów). Błąd względny ekspertów wyniósł 4,4%.

Nietrudno zauważyć, że błąd wskazania systemu rośnie wraz z nasileniem stanu zapal-



Rysunek 7.6 Wynik działania systemu z zaznaczonymi wskazaniem błędnymi dla obrazu pP10332-prof

Tabela 7.7 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 4

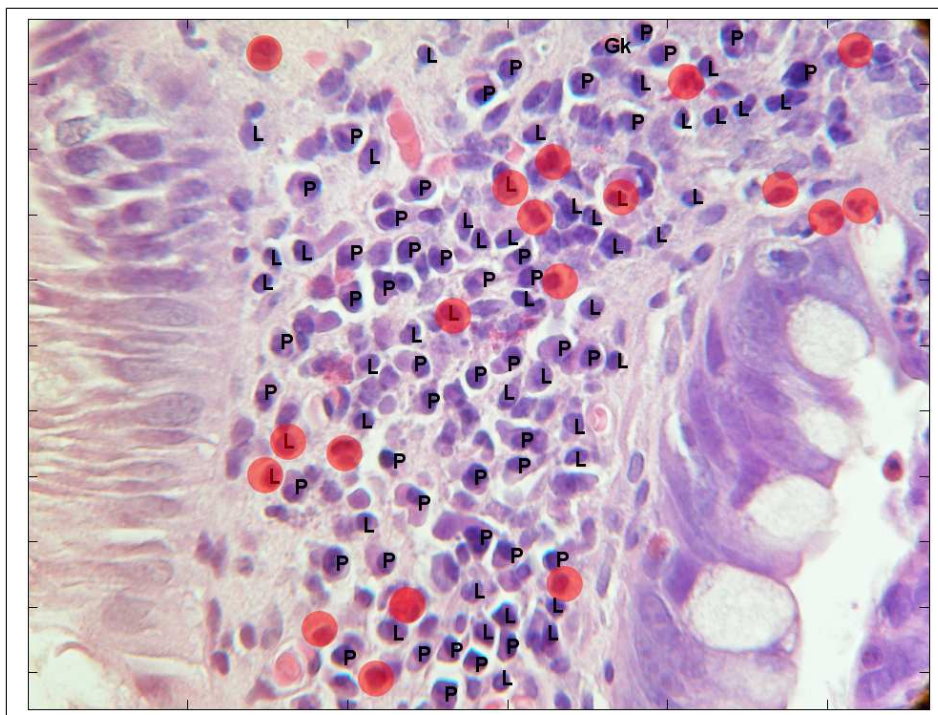
Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	54	35	0	0	89
Ekspert	46	30	0	0	76

nego i jednoczesnym wzrostem liczby komórek podlegających zliczaniu. Ma na to wpływ fakt, że im większa liczba komórek, tym występują one bliżej siebie, utrudniając proces separacji. Problem ten (aczkolwiek również trudny) jest możliwy do rozwiązania przy manualnej ingerencji człowieka w proces segmentacji.

7.3.5 Pacjent nr 5

Obraz wycinka tkanki pacjenta 5 (oznaczenie archiwalne P3900) jest obrazem wskazującym na duże nasilenie stanu zapalnego. Obraz jest skrajnym przypadkiem zdjęcia możliwego jeszcze do automatycznej analizy. Granice między komórkami zlewają się tak bardzo, że manualne odróżnienie wielu z nich może odbywać się jedynie przez eksperta na za-

sadzie intuicji. Poza tym widoczna jest ogromna liczba artefaktów w tle, a także słaba



Rysunek 7.7 Wynik działania systemu z zaznaczonymi wskazaniami błędnymi dla obrazu p3900-sup

rozdzielność cytoplazmy komórek od tła.

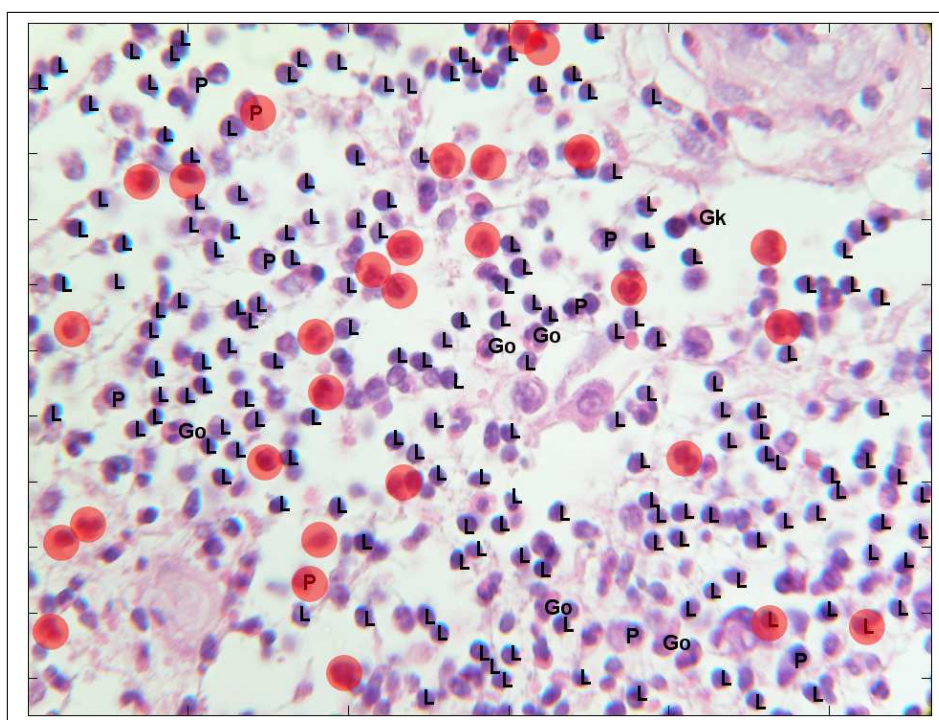
Tabela 7.8 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 5

Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	44	55	1	0	100
Ekspert	55	57	0	2	114

Dla tego typu obrazów możliwe jest jeszcze w miarę dokładne oszacowanie liczby komórek. Rys. 7.7 przedstawia wynik rozpoznania komórek na obrazie z naniesionymi przez program oznaczeniami poszczególnych rodzajów komórek. Wyniki liczbowe dotyczące poszczególnych typów komórek przedstawiono w tabeli 7.8. Różnica wyników systemu i wskazań ekspertów jest równa 16, co odpowiada błędowi względnemu równemu 13,1%. Błąd popełniony przez ekspertów wyniósł 7%.

7.3.6 Pacjent nr 6

Obraz wycinka tkanki pacjenta nr 6 (oznaczenie archiwalne P609) jest obrazem wykazującym duże nasilenie stanu zapalnego. Na rys. 7.8 przedstawiono obraz tego wycinka z naniesionymi oznaczeniami poszczególnych komórek, wykonanymi przez opracowany system. Liczba wszystkich komórek wynikająca z oceny trzech ekspertów jest równa 208. Różnica liczbowa między tą wartością a wynikiem systemu wynosi 32, co odpowiada błędowi względnemu 21,15%. Błąd popełniony przez ekspertów wyniósł 10,1%. W ta-



Rysunek 7.8 Wynik działania systemu z zaznaczonymi wskazaniami błędnymi dla obrazu p609-sup

beli 7.9 przedstawiono szczegółowe różnice między wynikami systemu automatycznego i ekspertów. Wyraźnie widoczna jest duża różnica między liczbą rozpoznanych przez system granulocytów obojętnochłonnych a oceną ekspertów. Jest to spowodowane kilkoma czynnikami. Granulocyty obojętnochłonne słabo się wybarwiają w procesie tworzenia preparatu, przez co często na obrazie widoczne jest jedynie samo jądro. Jądro przypomina kształtem trzy położone blisko siebie limfocyty i z nimi następuje najczęściej pomyłka systemu automatycznego. Drugi powód to zniekształcenie granulocytów obojętnochłonnych podczas operacji cięcia preparatu. Należy przy tym podkreślić, że wykrycie obecności

Tabela 7.9 Porównanie wskazań systemu i eksperta dla pacjenta nr 6

Wskazanie	Limfocyty	Plazmocyty	Granulocyty kw.	Granulocyty ob.	Suma
System	155	9	1	17	182
Ekspert	170	7	0	31	208

granulocytów obojętnochłonnych jest oznaką zaawansowanego stanu zapalnego. Ich liczebność (aczkolwiek ważna) odgrywa w diagnostyce rolę drugorzędną. Znacznie lepsza jest sytuacja braku wykrycia niż błędne wykrycie nieistniejącego granulocytu tego typu.

7.4 Wyniki analizy statystycznej preparatów

Dla lepszej oceny działania systemu automatycznego przeprowadzono dalsze badania statystyczne, wykorzystujące preparaty szpitalne, oceniane tym razem przez jednego eksperta. Obrazy poddane analizie zostały specjalnie dobrane przez lekarza w taki sposób, aby każdy rodzaj stanu zapalnego (lekki, średni i zaawansowany) był jednakowo reprezentowany w badaniach. W sumie poddano analizie po 9 obrazów z każdej grupy, co dało łącznie 27 obrazów utworzonych z preparatów pochodzących od 27 pacjentów.

7.4.1 Obrazy odpowiadające lekkiemu nasileniu stanu zapalnego

Obrazy odpowiadające lekkiemu nasileniu stanu zapalnego zawierają stosunkowo mało artefaktów, tło dobrze odznacza się od cytoplazmy komórek, a cewy gruczołowe nie są w fazie rozpadu.

Tabela 7.10 Wyniki klasyfikacji systemu dla lekkich stanów zapalnych

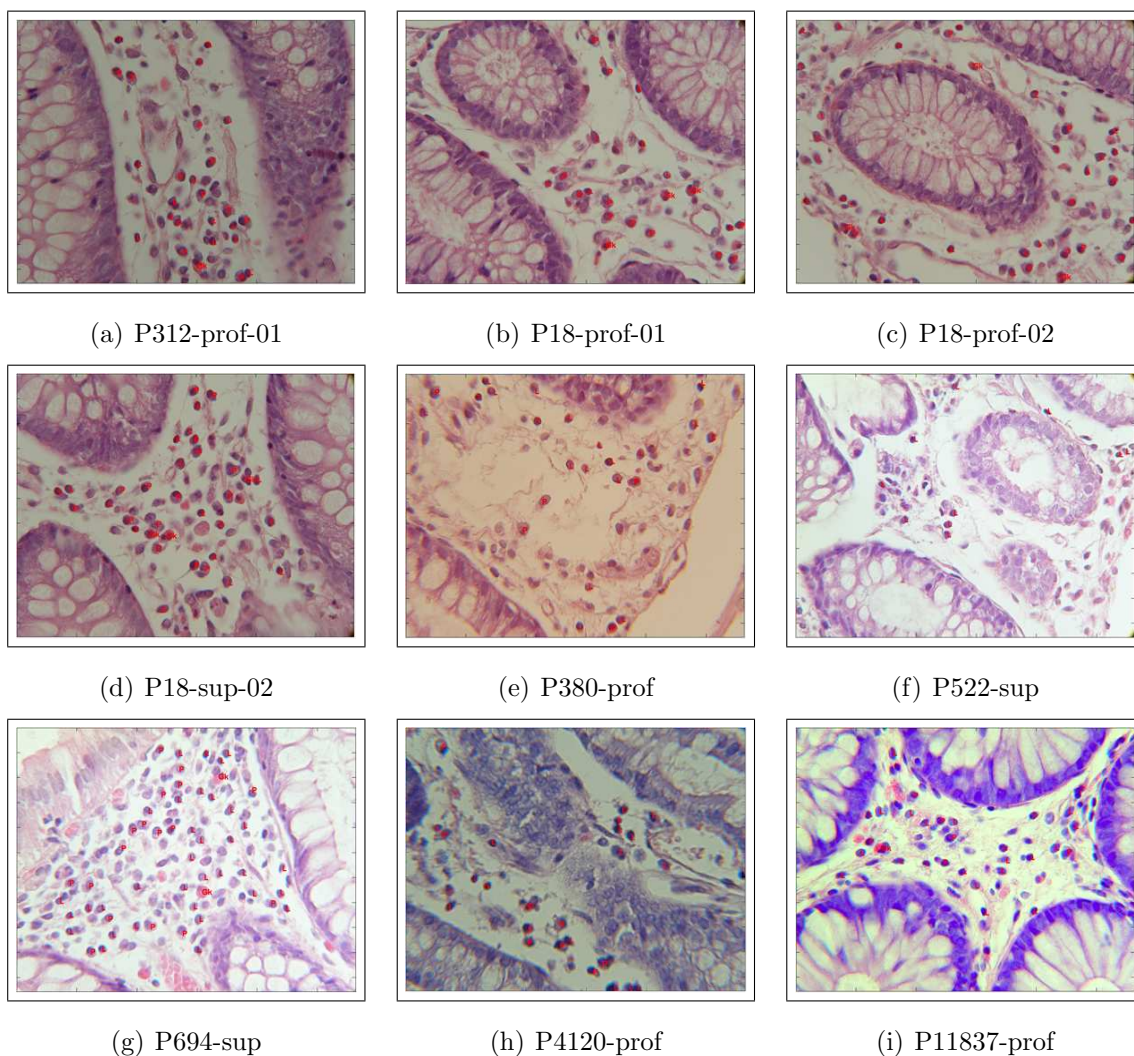
Wskazanie	Nazwa	Limf.	Plazm.	Gran. kw.	Gran. ob.	Błąd syst.
System	P312-prof-01	14	11	1	0	7,14%
Ekspert	P312-prof-01	15	12	1	0	-
System	P18-prof-01	7	11	3	0	9,52%
Ekspert	P18-prof-01	8	11	2	0	-
System	P18-prof-02	22	9	3	0	11,53%
Ekspert	P18-prof-02	20	9	2	0	

System	P18-sup-02	15	16	3	0	16,13%
Ekspert	P18-sup-02	16	12	3	0	
System	P380-prof	18	5	0	0	11,54%
Ekspert	P380-prof	21	5	0	0	
System	P522-sup	10	0	0	0	20%
Ekspert	P522-sup	9	1	0	0	
System	P694-sup	34	17	2	0	10,17%
Ekspert	P694-sup	37	20	2	0	
System	P4120-prof	16	9	0	0	19%
Ekspert	P4120-prof	14	7	0	0	
System	P11837-prof	22	6	1	0	15,38%
Ekspert	P11837-prof	20	5	1	0	
Błąd średni	-	-	-	-	-	13,38%
Std	-	-	-	-	-	4,19%

Liczba komórek jest mała, dzięki czemu stykanie się komórek ze sobą jest rzadkie. Wszystko to powoduje, że rozpoznanie i klasyfikacja komórek w tego rodzaju stanach obarczone są stosunkowo małym błędem.

Na rys. 7.9 przedstawiono obrazy tkanek przy lekkim nasileniu choroby, poddane analizie przez system automatyczny. Rozpoznane przez system komórki zostały opisane skrótami literowymi, identycznymi z opisanymi we wcześniejszej części pracy. W tabeli 7.10 przedstawiono szczegółowe wyniki rozpoznania poszczególnych typów komórek, dokonane go zarówno przez system, jak i eksperta ludzkiego. Na tej podstawie w ostatniej kolumnie tabeli określono średni błąd względny rozpoznania jako różnicę między wynikami systemu automatycznego i eksperta, odniesioną do wyników eksperta.

Średni błąd rozpoznania dla 9 preparatów wyniósł 13,38%, przy odchyleniu standardowym równym 4,19%. Jest to wynik całkowicie satysfakcjonujący dla praktyki szpitalnej, gdzie toleruje się nawet 20% różnice wyników różnych ekspertów.

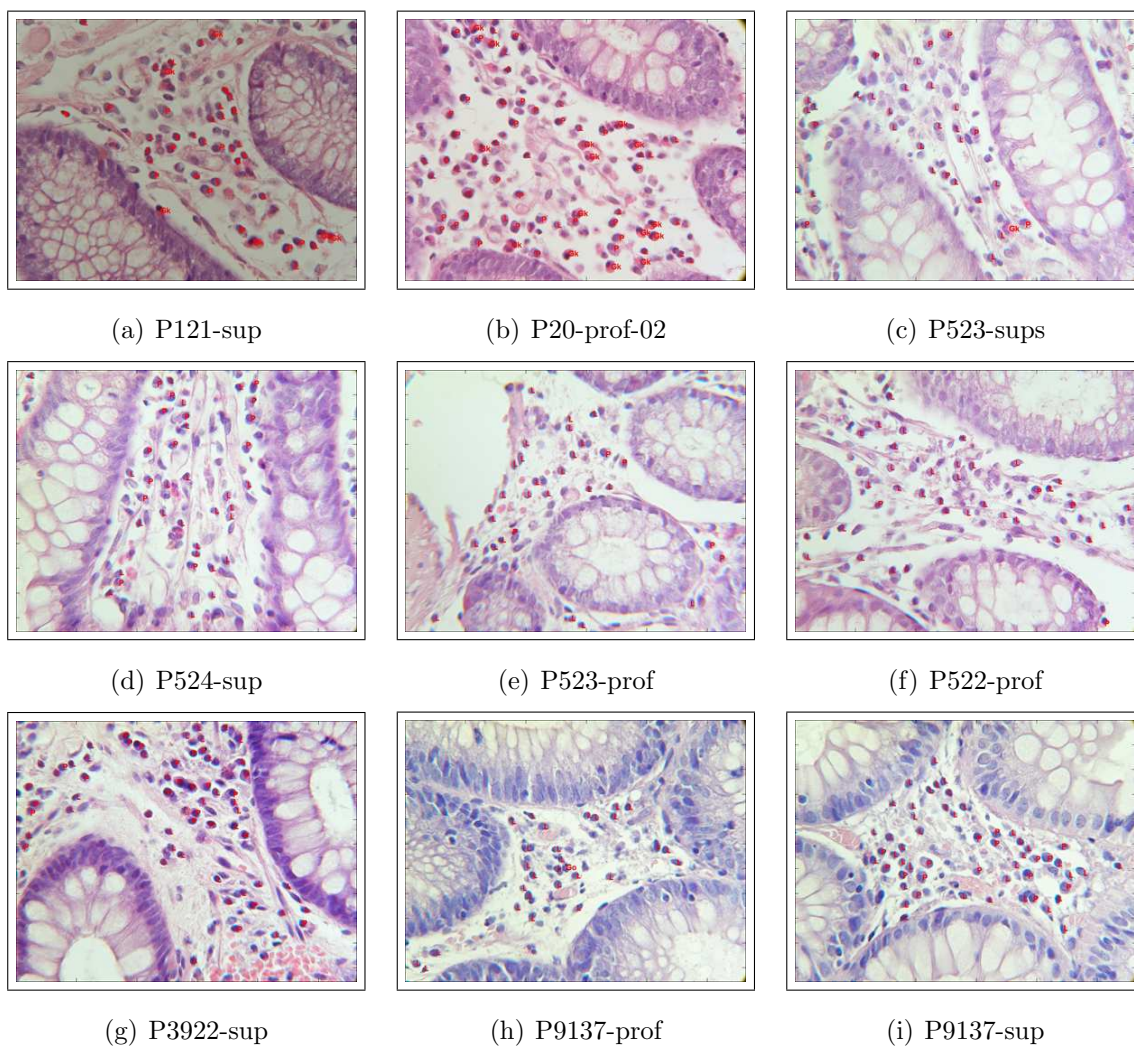


Rysunek 7.9 Obrazy tkanek jelita przy lekkim stanie zapalnym, poddane analizie

7.4.2 Obrazy odpowiadające średniemu nasileniu stanu zapalnego

Obrazy o średnim nasileniu stanu zapalnego cechuje występowanie znacznie większej liczby komórek w podścielisku tkanki w porównaniu z obrazami o nasileniu lekkim.

Rys. 7.10 przedstawia 9 obrazów tkanek poddanych analizie w tym eksperymencie. Wyniki identyfikacji i rozpoznania wszystkich typów komórek dla rozpatrywanych pacjentów przedstawiono w tabeli 7.11. Zwraca uwagę pełna zgodność z wynikiem eksperta dla granulocytów obojętnochłonnych - kluczowy czynnik przy ocenie stopnia zaawansowania zapalenia.



Rysunek 7.10 Sklasyfikowane przez system obiekty na obrazach o średnim nasileniu stanu zapalnego

Tabela 7.11 Wyniki klasyfikacji systemu dla średnich stanów zapalnych

Wskazanie	Nazwa	Limf.	Plazm.	Gran. kw.	Gran. ob.	Błąd syst.
System	P121-sup	27	9	6	0	23,52%
Ekspert	P121-sup	23	6	5	0	-
System	P20-prof-02	21	30	15	0	18,75%
Ekspert	P20-prof-02	16	35	13	0	-
System	P522-prof	33	4	0	0	21,8%
Ekspert	P522-prof	27	5	0	0	
System	P10332-prof	54	35	0	0	2,19%
Ekspert	P10332-prof	56	35	0	0	
System	P523-sup	22	8	1	0	15,62%

Ekspert	P523-sup	20	11	1	0	
System	P524-sup	24	14	0	0	25%
Ekspert	P524-sup	21	10	1	0	
System	P3922-sup	36	25	0	0	12,5%
Ekspert	P3922-sup	30	26	0	0	
System	P9137-prof	28	0	0	1	16%
Ekspert	P9137-prof	24	0	0	1	
System	P9137-sup	39	16	0	0	17%
Ekspert	P9137-sup	33	14	0	0	
Błąd średni	-	-	-	-	-	16,93%
Std	-	-	-	-	-	6,85%

Średni błąd rozpoznania wszystkich komórek (w stosunku do wyników eksperta ludzkiego) wyniósł 16,93% przy odchyleniu standardowym równym 6,85%. Wzrost błędu spowodowany jest zwiększeniem skali trudności, wynikającym z większej liczby komórek i ich gęstości upakowania w podścielisku (gorszy wynik segmentacji), zwiększoną liczbą artefaktów i tłem trudno rozróżnialnym od cytoplazmy.

7.4.3 Obrazy odpowiadające ciężkiemu nasileniu stanu zapalnego

W obrazach odpowiadających ciężkiemu nasileniu stanu zapalnego znajduje się największa ilość komórek i artefaktów i są one najtrudniej rozróżnialne od tła obrazu. W obrazach tego rodzaju pojawiają się zwykle również granulocyty obojętnochłonne, które są komórkami najtrudniej wybarwialnymi, a co za tym idzie, najtrudniejszymi również do rozpoznania. Często w tego typu stanach naciek zapalny jest tak gęsty, że trudno jest rozróżnić pojedyncze komórki. Wszystko to powoduje, że średni błąd rozpoznania jest zdecydowanie najwyższy.

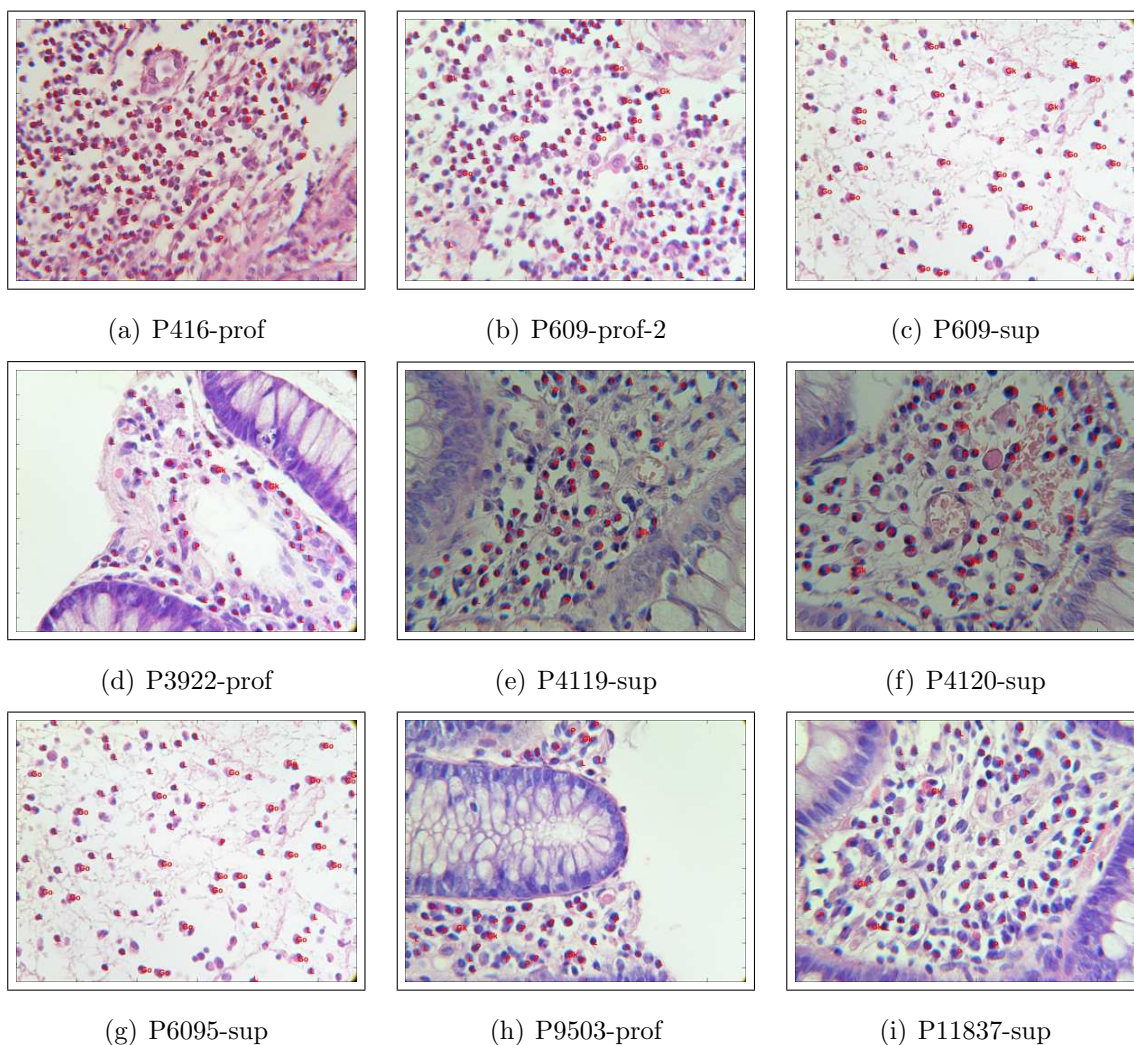
Tabela 7.12 Wyniki klasyfikacji systemu dla ciężkich stanów zapalnych

Wskazanie	Nazwa	Limf.	Plazm.	Gran. kw.	Gran. ob.	Błąd syst.
System	P609-prof-2	145	0	2	8	23,33%
Ekspert	P609-prof-2	125	9	2	14	-

System	P609-sup	47	1	4	18	21,34%
Ekspert	P609-sup	53	8	4	24	-
System	P3922-prof	55	5	2	0	19,48%
Ekspert	P3922-prof	64	9	3	1	
System	P6095-sup	42	2	0	25	26,5%
Ekspert	P6095-sup	38	10	2	33	
System	P9503-prof	22	19	4	0	26,66%
Ekspert	P9503-prof	16	24	5	0	
System	P11837-prof	51	24	3	0	16,12%
Ekspert	P11837-prof	58	31	4	0	
System	P416-prof	158	6	0	0	20,77%
Ekspert	P416-prof	183	23	1	0	
System	P4119-sup	30	33	1	0	17,94%
Ekspert	P4119-sup	38	37	3	0	
System	P4120-sup	22	52	4	0	24%
Ekspert	P4120-sup	31	63	6	0	
Błąd średni	-	-	-	-	-	21,8%
Std	-	-	-	-	-	3,65%

Na rysunku 7.11 przedstawiono obrazy badanych tkanek z zaznaczeniem poszczególnych komórek (wynik graficzny systemu automatycznego). Tabela 7.12 przedstawia szczegółowe wyniki liczbowe rozpoznania poszczególnych typów komórek. W ostatniej kolumnie uwypuklono średnie błędy rozpoznania komórek dla poszczególnych pacjentów, odniesione do liczby komórek wskazanych przez eksperta. W zależności od stopnia nasilenia stanu zapalnego, błędy te wahają się od 16,12% do 26,66%, przy średniej dla wszystkich pacjentów równej 21,8%. Dla tego stopnia zaawansowania stanu zapalnego wynik średni 21,8% jest, zdaniem ekspertów, również do zaakceptowania. Zaskakująca jest mała wartość odchylenia standardowego (3,65%), świadcząca o stabilnym działaniu systemu.

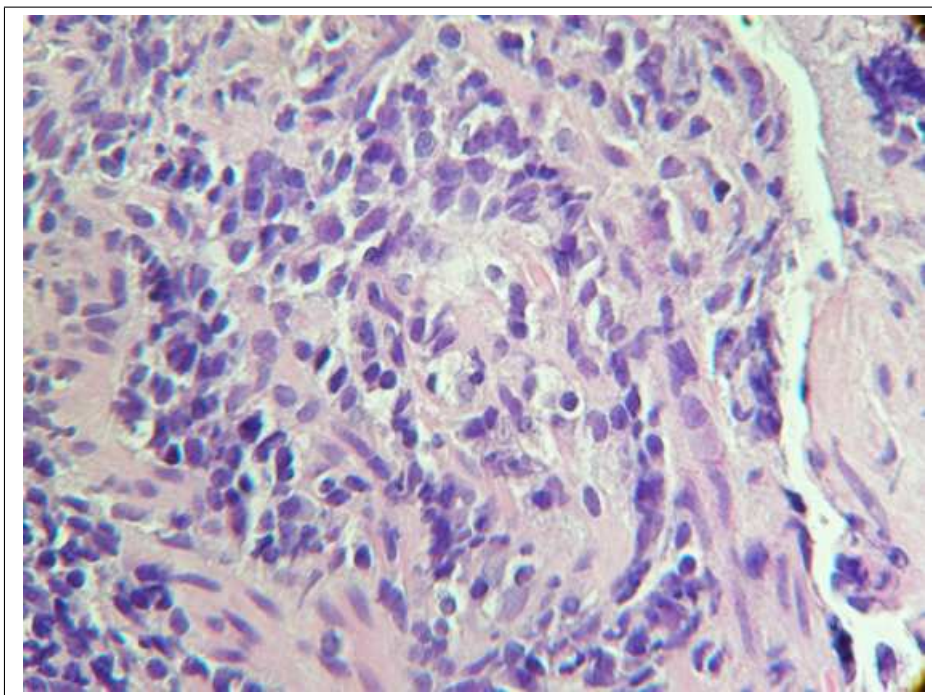
W opinii lekarzy z Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie uzyskana dokładność wyników identyfikacji i rozpoznania komórek, nawet najbardziej zaawansowanego stanu zapalnego, jest akceptowalna dla celów badań medycznych nad rozpoznaniem mechanizmu powstawania i stopnia zaawansowania chorób idiopatycznych jelita.



Rysunek 7.11 Sklasyfikowane przez system obiekty na obrazach o dużym nasileniu stanu zapalnego

7.5 Podsumowanie analizy działania systemu

Za pomocą systemu przeanalizowano w sumie 400 zdjęć (o powiększeniu 600x) pochodzących od 200 pacjentów. Spośród tej liczby 374 udało się poprawnie (z akceptowalnym błędem) przeanalizować i opisać. Pozostałych 26 zdjęć system nie potrafił zanalizować z powodu czy to zbyt dużego zagęszczenia komórek, dużych różnic w wybarwieniu, czy błędów powstałych w procesie cięcia i utrwalania preparatu. Przykładowy obraz, który oparł się klasyfikacji automatycznej, przedstawia rysunek 7.12. Widoczne są na nim (na przykład w prawym górnym rogu) źle przecięte komórki w procesie tworzenia preparatu. Na pozostałym obszarze komórki tworzą bezkształtną masę, niepoddającą się sklasyfikowaniu



Rysunek 7.12 Przykład obrazu, który nie daje się w poprawny sposób opisać przez system przy użyciu zbudowanego systemu automatycznego.

Analiza ilościowa błędów popełnianych przez system przetwarzania automatycznego obrazu, poprowadzona w tym rozdziale, pokazała, że może on (po dogłębnych i wyczerpujących testach) znaleźć zastosowanie w badaniach nad stanami zapalnymi jelit. Wartości średnie błędów identyfikacji i rozpoznania komórek są w dużej mierze uzależnione od stopnia zaawansowania stanu zapalnego jelita i, zdaniem lekarzy z WIM, akceptowalne.

Należy przy tym stwierdzić, że przywiązywanie zbyt dużej wagi do analizy szczegółowej błędów nie ma większego uzasadnienia medycznego. W analizie składu komórkowego nie jest najważniejsze dokładne określenie liczby komórek w poszczególnych klasach, lecz w przypadku limfocytów i plazmacytów stwierdzenie, które z tych komórek przeważają, a w przypadku granulocytów (zwłaszcza obojętnochłonnych) czy komórki te w ogóle występują w badanym preparacie.

Rozdział 8

Wnioski końcowe i podsumowanie

Rozprawa dotyczy problemów związanych z budową systemu komputerowego wspomagającego lekarza w ocenie stopnia stanu zapalnego w chorobach idiopatycznych jelit. W zadaniu tym kluczowe są 2 kierunki badań. Należą do nich: parametryzacja cew gruczołowych oraz identyfikacja i rozpoznanie komórek obronnych w podścielisku tkanki. Oba zadania wymagały w pierwszej kolejności ekstrakcji odpowiednich elementów obrazu: w pierwszym przypadku cew, a w drugim pojedynczych komórek. Zadanie to zostało rozwiązane przy zastosowaniu operacji morfologicznych na obrazach wycinka jelita przy 2 różnych powiększeniach: 100x (cewy gruczołowe) i 600x (komórki). W przypadku cew gruczołowych opracowano oryginalny algorytm pozwalający mierzyć odstęp między najbliższymi cewami oraz parametry geometryczne poszczególnych cew. Wielkości te, generowane jako zmienne wyjściowe opracowanego systemu, pozwalają lekarzowi na prowadzenie badań nad związkiem tych parametrów z etapem rozwoju stanu zapalnego jelita. Jest to ważna zaleta opracowanej metody, pozwalająca przełamać dotychczasową barierę związaną z brakiem odpowiednich narzędzi.

Przy automatycznej segmentacji cew gruczołowych dużym utrudnieniem była występująca w niektórych obrazach gruba warstwa błony śluzowej, łącząca ze sobą poszczególne cewy, której budowa i wygląd były identyczne z cewami. Zdecydowano się w pracy, aby na tego typu obrazach wprowadzić ingerencję człowieka, którego zadaniem byłoby jedynie rozcięcie przylegających do błony cew. Opracowano odpowiednie narzędzie pozwalające w prosty sposób wspomóc system. Takie rozwiązanie pozwoliło na dokładniejszą segmentację kosztem pełnego automatyzmu. Dla wysegmentowanych cew opracowano algorytm pomiaru odległości między nimi, a także dokonano pomiaru parametrów geometrycznych

opisujących cewy. W sumie poddano analizie 201 obrazów o powiększeniu 100x, w wyniku czego wyodrębniono i numerycznie opisano 2944 cewy. Wszystkie wyniki analizy cew zostały zapisane do pliku i posłużą dalszej pracy naukowej lekarzy nad stanami zapalnymi jelit.

Druga część zadania dotyczyła identyfikacji i rozpoznania typu komórek obronnych organizmu znajdujących się w podścielisku: plazmocytów, limfocytów oraz granulocytów kwasochłonnych i obojętnochłonnych. Proces segmentacji i rozpoznania komórek w obrazach mikroskopowych jelit jest problemem złożonym. Składa się nań wiele etapów, z których każdy ma znaczny wpływ na jakość końcowego wyniku. Ważne jest, aby każdy etap wprowadzał jak najmniejszy błąd cząstkowy. Przy budowie systemu w pełni automatycznego należało liczyć się z tym, że będzie on bardzo czuły na nieuniknione zmiany w obrazach wejściowych związane z barwieniem, naświetleniem, powiększeniem itp. Należy liczyć się również z naturalnym zróżnicowaniem obrazów tkanek. Nie istnieją dwie dokładnie takie same komórki lub dwie takie same cewy. Można jedynie mówić o większym lub mniejszym podobieństwie. W pracy zastosowano kompromis między dokładnością klasyfikacji a automatyzacją procesu. Przy ustawionych na stałe parametrach procesu niektóre obrazy daleko odbiegające wyglądem od typowych będą przez system odrzucone. Dzięki temu uniknie się ręcznego (wątpliwego) sterowania parametrami wewnętrznymi opracowanego systemu.

Pierwszym etapem postępowania w zadaniu rozpoznania komórek jest wybranie odpowiedniego fragmentu preparatu i przetworzenie go na obraz cyfrowy, który będzie poddany dalszemu przetworzeniu. Następnym krokiem jest przeprowadzenie segmentacji obrazu pozwalającej na ekstrakcję poszczególnych komórek obronnych i zapisanie ich obrazów do pliku. Najtrudniejszym zadaniem było stworzenie skutecznego algorytmu segmentującego komórki na obrazach tkanek o powiększeniu 600x. Obrazy te z reguły zawierają mnóstwo artefaktów, które należy rozpoznać i usunąć lub przynajmniej zminimalizować ich liczbę. Ponadto niektóre obrazy posiadają bardzo gęsty naciek zapalny uniemożliwiający oddzielenie od siebie pojedynczych komórek, a co za tym idzie właściwą segmentację obrazu. Ważnym elementem tego procesu było przeprowadzenie segmentacji komórek z możliwie największą ilością cytoplazmy, której obecność poprawia rozpoznawalność poszczególnych typów komórek. Najlepsze wyniki osiągnięto, stosując w segmentacji metodę działów wodnych.

Na podstawie wydzielonych z obrazu komórek stworzono ich bazę zawierającą ponad 1300 komórek należących do czterech klas - limfocytów, plazmocytów, granulocytów kwasochłonnych i obojętnochłonnych. Selekcja i zapisywanie komórek do bazy uczącej odbywała się przy ścisłej współpracy z lekarzem patomorfologiem w celu uniknięcia pomyłek przy określaniu przynależności komórki do odpowiedniej klasy.

Kolejnym etapem było przypisanie każdej komórce zbioru cech numerycznych najlepiej różnicujących poszczególne klasy. W pracy opracowano algorytm generacji cech, uwzględniając geometrię i teksturę komórek, jak również cechy statystyczne rozkładu kolorów RGB w obrazie komórek. Następnym etapem jest selekcja najbardziej znaczących cech, które najlepiej różnicują poszczególne klasy. Zastosowano analizę położenia centrów poszczególnych grup komórek, która w połączeniu z odchyleniem standardowym cech w obrębie danej grupy pozwoliła stworzyć skuteczny algorytm selekcji.

Kolejnym krokiem jest rozpoznanie typu komórek przy zastosowaniu klasyfikatorów. Zastosowano pięć różnych klasyfikatorów, z których trzy stanowią sieci neuronowe (MLP, SVM, RBF), jeden klasyfikator KNN oraz klasyfikator liniowy Fishera. Każde z tych rozwiązań ma swoją specyfikę działania, a ich wskazania można uznać za w dużej mierze niezależne. To pozwoliło zbudować system zintegrowany, biorący pod uwagę wskazania każdego klasyfikatora dla poprawy końcowego wyniku klasyfikacji. Omówione wcześniej etapy tworzą jeden system rozpoznania, działający automatycznie. Zadaniem operatora jest tylko wybór pliku zawierającego analizowany obraz tkanki i odbiór wyniku w postaci pliku z wynikami liczbowymi oraz obrazu tkanki z naniesionymi oznaczeniami poszczególnych komórek. Unikatową właściwością systemu jest możliwość łatwego nanoszenia poprawek lekarskich na obraz.

W pracy, dzięki systemowi, zanalizowano w sumie około 600 zdjęć, uzyskując błąd średni, który w ocenie lekarzy ekspertów uznany został za zadowalający i umożliwiający skuteczną analizę i diagnostykę obrazu. Uzyskane wyniki posłużą do badań prowadzonych nad stanami zapalnymi jelit. Opracowany system komputerowy może być wykorzystany bezpośrednio w WIM lub stanowić podstawę do dalszych modyfikacji dostosowujących go do zastosowań w innych rodzajach obrazów, np. w analizie wycinków jelit po przeszczepach.

Za najważniejsze osiągnięcia oryginalne rozprawy autor uważa

1. Opracowanie i implementację algorytmów przetwarzania wstępnego obrazów wy-

cinków jelit o powiększeniu 100x prowadzących do ekstrakcji poszczególnych cew gruczołowych.

2. Opracowanie i implementację algorytmów prowadzących do parametryzacji cew gruczołowych, w tym określenie średnich odległości między najbliższymi cewami oraz parametrów geometrycznych poszczególnych cew. W pracy dokonano pomiarów prawie 3000 cew gruczołowych.
3. Opracowanie i implementację algorytmów segmentujących komórki obronne na obrazach jelit o powiększeniu 600x. Algorytmy te wykorzystywały znane metody przetwarzania obrazu dla stworzenia bazy danych około 1300 komórek dla ich dalszego rozpoznania.
4. Opracowanie metodyki generacji cech numerycznych przypisanych każdej komórce oraz metody selekcji cech najważniejszych w procesie rozpoznawania typu komórki.
5. Opracowanie zespołu klasyfikatorów, pozwalającego przeprowadzić proces rozpoznania komórek z największą dokładnością.
6. Stworzenie zintegrowanego systemu komputerowego, przeprowadzającego samodzielnie poszczególne etapy rozpoznania komórek i generującego wyniki zarówno liczbowe, jak i w postaci obrazu z naniesionymi nazwami poszczególnych komórek.
7. Poddanie systemu dogłębnej weryfikacji na zbiorze 600 obrazów pochodzących od 200 pacjentów z różnym poziomem rozwoju stanu zapalnego.

Bibliografia

- [1] *Matlab user manual - Image processing toolbox*. MathWorks, 1999.
- [2] ANDREWS, G. E., ASKEY, R., and ROY, R., „Hermite polynomials”, *Cambridge University Press*, pp. 278–282, 1999.
- [3] ARORA, S., ACHARYA, J., VERMA, A., PRASANTA, K., and PANIGRAHI, K., „Multilevel thresholding for image segmentation through a fast statistical recursive algorithm”, <http://arxiv.org/abs/cs.CV/0602044>.
- [4] BEKSAC, M., BEKSAC, S., TIPPI, V., DURU, H. A., KARAKAS, M. U., and NURCAKAR, A., „An artificial inteligent diagnostic system on differential recognition of hematopietic cells from microscopic images”, *Cytometry*, vol. 30, 1997.
- [5] BELICZYŃSKI, B., *Przyrostowa aproksymacja funkcji za pomocą sieci neuronowych*. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2000.
- [6] BEUCHER, S., „The watershed transformation applied to image segmentation”, *Ecole des Mines de Paris*, 2000.
- [7] BEUCHER, S., „Watersheds and waterfalls”, *Cours Ecole d’Eté de Morphologie Mathématique*, September 2000.
- [8] BILESCHI, S. and WOLF, L., „A unified system for object detection, texture recognition, and context analysis based on the standard model feature set”, *The Center for Biological and Computational Learning, Massachusetts Institute of Technology*, 2005.
- [9] BISHOP, C., *Neural networks and machine learning*. Springer, 1998.

- [10] BSG, „Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease”, *British Society of Gastroenterology*, July 1997.
- [11] CARPENTER, H. and TALLEY, N., „The importance of clinicopathological correlation in the diagnosis of inflammatory conditions of the colon: Histological patterns with clinical implications”, *The American Journal of Gastroenterology*, vol. 95, no. 4, 2000.
- [12] CARTER, M., LOBO, A., and TRAVIS, S., „Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults”, *British Society of Gastroenterology*, September 2004.
- [13] DUDA, R., HART, P., and STORK, P., *Pattern classification and scene analysis*. New York: Wiley, 2003.
- [14] EDELMAN, S., INTRATOR, N., and POGGIO, T., „Complex cells and object recognition”, *NIPS*, 1997.
- [15] GEBOES, K. and VILLANACCI, V., „Terminology for the diagnosis of colitis”, *Journal of Clinical Pathology*, pp. 1133–1134, August 2007.
- [16] GHAHRAMANI, Z. and KIM, H., „Bayesian classifier combination”, *Gatsby Computational Neuroscience Unit, University College London*, September 2003.
- [17] GONZALEZ, R. and WOODS, R., *Digital Image Processing*. Reading, Massachusetts: Addison-Wesley, 1992.
- [18] GUYON, I. and ELISSEEFF, A., „An introduction to variable and feature selection”, *Journal of Machine Learning*, pp. 1158 – 1182, 2003.
- [19] HARALICK, R. and SHAPIRO, L., „Image segmentation techniques”, *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, pp. 100–132, 1985.
- [20] HAYKIN, S., *Neural networks, comprehensive foundation*. New Jersey: Prentice Hall, 1999.
- [21] HENGEN, H., SPOOR, S., and PANDIT, M., „Analysis of blood and bone marrow smears”, *SPIE Med. Imag.*, 2002.

- [22] IWANOWSKI, M., „Morfologia matematyczna i interpolacja obrazu”, <http://www.isep.pw.edu.pl/iwanowsm/morphint/im01pl.htm>.
- [23] J. GRABSKA-CHRZĄSTOWSKA, W. LIBUSZOWSKI, W. T., „Porównanie metody knn i techniki sieci neuronowych w klasyfikacji badań spirometrycznych”, *Bioalgorithms and medsystems*, vol. 1, no. 1/2, pp. 9–12, 2005.
- [24] JAIN, A., *Fundamentals of Digital Image Processing*. New York: Prentice-Hall, 1989.
- [25] JENKINS, D., GOODALL, A., DREW, K., and SCOTT, B., „What is colitis? statistical approach to distinguishing clinically important inflammatory change in rectal biopsy specimens”, *Journal of Clinical Pathology*, no. 4, pp. 72–79, 1988.
- [26] JENKINS, D., GOODALL, A., and SCOTT, B., „Ulcerative colitis: one disease or two? (quantitative histological differences between distal and extensive disease)”, *Gut*, no. 31, pp. 426–430, 1990.
- [27] JEZIOR, . and LUDWICZUK, R., *Algorytm Otsu i jego modyfikacje w segmentacji obrazów metodą wieloprogowania*. Lublin: Polskie Towarzystwo Informatyczne, 2006.
- [28] KACHOUIE, N., LEE, L., and FIEGUTH, P., „A probabilistic living cell segmentation model”, *Image Processing, 2005. ICIP 2005. IEEE International Conference*, vol. 1, pp. 1137–40, 2005.
- [29] KAYSER, K., RADZISZOWSKI, D., BZDY, P., SŁODKOWSKA, J., KERN, I., SANDECK, H., SOMMER, R., SCHRADER, T., VOLLMER, E., and KAYSER, G., „E-health and tissue-based diagnosis: the implementation of virtual pathology institutions”, <http://www.cs.agh.edu.pl/people/radzisz/papers/eHealthw/>.
- [30] KRUK, M., OSOWSKI, S., and KOKTYSZ, R., „Processing of microscope colon images for supporting the medical diagnostics”, *7th International Workshop Computational Problems of Electrical Engineering, CPEE'06*, 2006.
- [31] KRUK, M., OSOWSKI, S., and KOKTYSZ, R., „Algorithms applied to segmentation and computation grandular ducts in microscope colon image”, *Przegląd Elektrotechniczny*, no. 2, 2007.

- [32] KRUK, M., OSOWSKI, S., and KOKTYSZ, R., „Recognition of colon cells using ensemble of classifiers”, *International Joint Conference on Neural Network, IJCNN'07*, August 2007.
- [33] KRZYCH, L., „Interpretacja wyników analizy statystycznej danych”, *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*, no. 4, p. 315–321, 2007.
- [34] KULPA, Z., *Area and perimeter measurement of blobs in discrete binary pictures*. Computer Vision, 1977.
- [35] KUNCHEVA, L., *Combining pattern classifiers: methods and algorithms*. New York: Wiley, 2004.
- [36] KVARNSTROM, M., „Yeast cell recognition using a dynamic programming algorithm for convex contour extraction”, *Centre for Biophysical Imaging Department of Applied Physics, Goteborg University*, August 2006.
- [37] LUC, V. and SOILLE, P., „Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations”, *IEEE Transactions of Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 13, pp. 583–598, 1991.
- [38] MALINA, W. and SMIATACZ, M., *Metody cyfrowego przetwarzania obrazów*. Warszawa: Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, 2005.
- [39] MARKIEWICZ, T., „Sieci neuronowe svm w zastosowaniu do klasyfikacji obrazów komórek szpiku kostnego”, *rozp. dokt., Politechnika Warszawska*, 2005.
- [40] MARKIEWICZ, T. and OSOWSKI, S., „Data mining techniques for feature selection in blood cell recognition.”, *ESANN'2006*, pp. 407–412, 2006.
- [41] MASOOD, K. and RAJPOOT, N., „Classification of colon biopsy samples by spatial analysis of a single spectral band from its hyperspectral cube”, *Proceedings Medical Image Understanding and Analysis (MIUA'2007)*, July 2007.
- [42] MASOOD, K. and RAJPOOT, N., „Hyperspectral texture analysis for colon tissue biopsy classification”, *Proceedings International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT'2007)*, May 2007.

- [43] MASOOD, K., RAJPOOT, N., QURESHI, H., and RAJPOOT, K., „Co-occurrence and morphological analysis for colon tissue biopsy classification”, *Proceedings 4th International Workshop on Frontiers of Information Technology (FIT'2006)*, 2006.
- [44] MATERKA, A. and STRZELECKI, M., „Texture analysis methods – a review”, *COST B11 report*, vol. 11, p. 873–887, 1998.
- [45] MEYER, F. and BEUCHER, S., „Morphological segmentation”, *Journal of Visual Communication and Image Representation*, vol. 1, no. 1, pp. 21–46, 1990.
- [46] MEYER, F. and MARAGOS, P., „Multiscale morphological segmentations based on watershed, flooding and eikonal”, *PDE*, no. 28, pp. 351–362, 1999.
- [47] MORARIU, D., VINTAN, L. N., and TRESP, V., „Evaluating some feature selection methods for an improved svm classifier”, *International Journal of Intelligent Technology*, vol. 1, no. 1, 2006.
- [48] OSOWSKI, S., *Sieci neuronowe do przetwarzania informacji*. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2006.
- [49] OTSU, N., „A threshold selection method from gray-level histograms”, *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, vol. 9, no. 1, pp. 62–66, 1979.
- [50] ÖZDEN, M. and POLAT, E., „Image segmentation using color and texture features”, *EUSIPCO*, 2005.
- [51] RAFAI, H., LI, L., TEAGUE, T., and NAUKAM, R., „Automatic count of hepatocytes in microscopic images”, *Image Processing, 2003. ICIP 2003. Proceedings. 2003 International Conference*, vol. 2, pp. 1101–4, 2003.
- [52] RAJPOOT, K. and RAJPOOT, N., „Wavelet based segmentation of hyperspectral colon tissue imagery”, *Proceedings 7th IEEE International Multi Topic Conference (INMIC'2003)*, December 2003.
- [53] RAJPOOT, K. and RAJPOOT, N., „Hyperspectral colon tissue cell classification”, *SPIE Medical Imaging (MI'2004)*, 2004.

- [54] RAJPOOT, K. and RAJPOOT, N., „Svm optimization for hyperspectral colon tissue cell classification”, *Proceedings 7th International Conference on Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention (MICCAI'2004)*, September 2004.
- [55] RANZATO, M., TAYLOR, C., FLAGAN, J. H. R., and PERONA, P., „Automatic recognition of biological particles in microscopic images”, *Pattern Recognition Letters*, vol. 28, pp. 31–39, 2007.
- [56] SANEI, S. and LEE, T., „Cell recognition based on pca and bayesian classification”, *ICA2003*, April 2003.
- [57] SCHÖLKOPF, B. and SMOLA, A., *Learning with Kernels*. Cambridge: MIT Press, 2002.
- [58] SCOTT, B., STEPHENSON, A. G. P., and JENKINS, D., „Rectal mucosal plasma cells in inflammatory bowel disease”, *Gut*, no. 24, pp. 519–524, 1983.
- [59] SERRA, J., „Morphological operators for the segmentation of colour images”, *Space, Structure, and Randomness : Contributions in Honor of Georges Matheron in the Field of Geostatistics, Random Sets, and Mathematical Morphology*, vol. 183, pp. 223–255, 2005.
- [60] SERRA, J., „Morphological segmentations of colour images”, *Mathematical Morphology: 40 Years on : Proc. 7th ISMM*, pp. 151–176, 2005.
- [61] SHAH, S., „Image classification based on textural features using artificial neural network”, *IE(I) Journal-ET*, vol. 84, pp. 72–77, 2004.
- [62] SOILE, P., *Morphological image analysis, principles and applications*. Berlin: Springer, 2003.
- [63] TADEUSIEWICZ, R. and KOROHODA, P., *Komputerowa analiza i przetwarzanie obrazów*. Kraków: Wydawnictwo Fundacji Postępu Telekomunikacji, 1997.
- [64] THEERA-UMPON, N. and GADER, P., „System-level training of neural networks for counting white blood cells”, *IEEE Trans. SMS-C*, vol. 32, 2002.

- [65] THOMPSON, E., PRICE, A., ALTMAN, D., SOWTER, J., and SLAVIN, G., „Quantitation in inflammatory bowel disease using computerised interactive image analysis”, *Journal of Clinical Pathology*, no. 38, pp. 631–638, 1985.
- [66] VAPNIK, V., *Statistical Learning Theory*. New York: Wiley, 1998.
- [67] W ŁODZI, U. M., „Przegląd metod patomorfologicznych stosowanych w diagnostyce klinicznej”, <http://www.umed.lodz.pl/dydaktyka/patomorfologia>, 2006.
- [68] WAGNER, T., *Texture analysis*. Boston: Academic Press, 1999.
- [69] WAN-RONG, S., BIAN-ZHANG, Y., XIAO-JING, Z., and ZHENG-HUI, Z., „Feature extraction of marrow cell images”, *Engineering in Medicine and Biology 27th Annual Conference*, September 2005.
- [70] WEIBEL, E. R., *Morphometry of the Human Lung*. Berlin: Springer, 1963.
- [71] WELLING, M., „Fisher linear discriminant analysis”, *Department of Computer Science University of Toronto*, <http://www.ics.uci.edu/welling>.
- [72] WRÓBEL, Z. and KOPROWSKI, R., *Praktyka przetwarzania obrazów w programie Matlab*. Warszawa: Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, 2004.
- [73] YANG, H., TAYLOR, K., and ROTTER, J., „Inflammatory bowel disease”, *Molecular Genetics and Metabolism*, no. 74, pp. 1–21, 2001.
- [74] YANG, H. and XU, J., *Classification Algorithms Based on Fisher Discriminant and Perceptron Neural Network*. Berlin: Springer, 2005.
- [75] YAO, J., „Feature selection for fluorescence image classification”, <http://robots.stanford.edu/lab/proposals2/>.
- [76] YOUNG, I., „Quantitative microscopy”, *IEEE Engineering in Medicine and Biology*, 1996.
- [77] ZAITOUN, A., COBDEN, I., MARDINI, H., and RECORD, C., „Morphometric studies in rectal biopsy specimens from patients with ulcerative colitis: effect of oral 5 amino salicylic acid and rectal prednisolone treatment”, *Gut*, no. 32, pp. 183–187, 1991.

- [78] ZALEWSKA, A., STRZELECKI, M., JANOWSKI, P., and BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK, E., „Computer analysis of normal and basal cell carcinoma mast cells”, *Medical Science Monitor*, vol. 7, no. 2, pp. 260–265, 2001.
- [79] ZALEWSKA, A., STRZELECKI, M., and SYGUT, J., „Implementation of an image analysis system for morphological characteristics of urticaria pigmentosa skin mast cells”, *Medical Science Monitor*, vol. 3, no. 2, pp. 260–265, 1997.
- [80] ZHENG, Q., MILTHORPE, B., and JONES, A., „Direct neural network application for automated cell recognition”, *Cytometry*, no. 57A, pp. 1–9, 2004.
- [81] ZIELIŃSKI, K. W. and STRZELECKI, M., *Komputerowa analiza obrazu biomedycznego. Wstęp do morfometrii i patologii ilościowej*. Warszawa-Łódź: Wydawnictwa Naukowe PWN, 2002.
- [82] ŻURAWSKI, J., WOŹNIAK, A., SALWA-ŻURAWSKA, W., KACZMAREK, E., and MAJEWSKI, P., „Vascular changes in ulcerative colitis and leśniowski-crohn’s disease”, *Polish Journal of Pathology*, vol. 58, pp. 13–21, 2007.