



Κατάτμηση Ιατρικών εικόνων μικροσκοπίου

ΠΜΣ Εφαρμοσμένης Πληροφορικής
-ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ-

Βόλκας Παντελής

1/3/2012

Επιβλέπων:

Καθηγητής Αθανάσιος Μανιτσάρης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της διπλωματικής εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός εργαλείου που θα επιτρέπει την κατάτμηση εικόνων με τη βοήθεια διαφορετικών τεχνικών κατάτμησης. Το στάδιο της κατάτμησης είναι κρίσιμης σημασίας για την επεξεργασία εικόνας και τις εφαρμογές μηχανικής όρασης. Εφαρμογές της χρησιμεύουν στην αναγνώριση και παρακολούθηση αντικειμένων, ανάγνωση προτύπων κ.λ.π. Βασικός στόχος όλων των τεχνικών κατάτμησης είναι ο διαχωρισμός της εικόνας σε ομοιόμορφες περιοχές που αναπαριστούν συνήθως κάποιο αντικείμενο. Το αποτέλεσμα της κατάτμησης χρησιμεύει ως ενδιάμεσο βήμα για την περαιτέρω επεξεργασία της εικόνας ανάλογα με την εφαρμογή. Ιδιαίτερη έμφαση θα δοθεί στη χρήση τεχνικών γράφων για την τμηματοποίηση εικόνας. Μία εικόνα μπορεί να αναπαρασταθεί με την βοήθεια ενός γράφου με βάρη, στον οποίο κάθε κόμβος αντιστοιχεί σε ένα εικονοστοιχείο της εικόνας, και οι ακμές του γράφου ορίζονται μεταξύ γειτονικών εικονοστοιχείων. Τα βάρη σε κάθε ακμή επιλέγονται με τέτοιο τρόπο ώστε μία ελάχιστη τομή στο γράφο να δίνει το ελάχιστο της συνάρτησης ενέργειας και συνεπώς τη βέλτιστη τομή του γράφου. Κατ' αυτόν τον τρόπο, το πρόβλημα της κατάτμησης εικόνας μπορεί να αντιμετωπιστεί ως πρόβλημα τομής γράφου. Παράλληλα θα επιχειρηθεί συγκριτική μελέτη με άλλες γνωστές τεχνικές, όπως απόλυτου κατωφλίου, μέθοδος Otsu, μέθοδος εντροπίας Karur κλπ. Οι τεχνικές που θα αναπτυχθούν θα εφαρμοστούν στην τμηματοποίηση εικόνων υψηλής ανάλυσης από ηλεκτρονικά μικροσκόπια με σκοπό την ανίχνευση του οζώδους λευκώματος. Συγκεκριμένα, το οζώδες λέμφωμα είναι ομάδα από κακοήθειες των λεμφοκυττάρων που προκύπτουν συνήθως στους λεμφαδένες, την σπλήνα και τον νωτιαίο μυελό στο λεμφικό σύστημα και αποτελούν το δεύτερο πιο συχνό μη Hodgkin λέμφωμα. Η νεοπλασματική αυτή υπερπλασία των Β λεμφοκυττάρων του βλαστικού κέντρου χαρακτηρίζεται από οζώδη αρχιτεκτονική και κυτταρολογική ετερογένεια, με το νεοπλασματικό κυτταρικό πληθυσμό να αποτελείται από ένα μίγμα μικρών (κεντροκύτταρα) και μεγάλων κυττάρων (κεντροβλάστες).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
2. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΑ	7
2.1. Το λεμφικό σύστημα.....	7
2.2. Τι είναι το λέμφωμα.....	7
2.3. Διαφορά μεταξύ Hodgkin και μη-Hodgkin	8
2.4. Βαθμονόμηση Οζώδους Λεμφώματος.....	9
2.5. Ιατρική απεικόνιση.....	11
2.6. Σχετική έρευνα.....	13
3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΩΝ.....	15
3.1. Οπτικό Μικροσκόπιο.....	15
3.1.1. Μέρη μικροσκοπίου	15
3.2. Electron Μικροσκόπια	17
4. ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΚΟΝΑΣ.....	21
4.1. Τα είδη των ψηφιακών εικόνων	21
4.1.1. Δυαδικές (binary) εικόνες	22
4.1.2. Εικόνες διαβαθμίσεων του Γκρι (Grayscale).....	22
4.1.3. Έγχρωμες εικόνες (RGB)	23
4.2. Ιστόγραμμα ψηφιακής εικόνας.....	24
4.3. Εξισορρόπηση Ιστογράμματος	26
4.4. Μαθηματική Μορφολογία εικόνας.....	27
4.4.1. Διαστολή (Dilation).....	28
4.4.2. Διάβρωση (Erosion)	28
4.4.3. Άνοιγμα (Opening)	29
4.4.4. Κλείσιμο (Closing).....	29
4.5. Χωρικά Φίλτρα	30
4.5.1. Φίλτρο Μέσης Τιμής (Average Filter)	30
4.5.2. Φίλτρο Ενδιάμεσης Τιμής (Median Filter)	31
4.5.3. Φίλτρα παραγωγίσισης-όξυνσης (Sharpening).....	32
4.5.4. Φίλτρο Κανονικής Κατανομής (Gauss filter).....	33
4.6. Τεχνικές επεξεργασίας ψηφιακών εικόνων	36
4.7. Ανάλυση κυρίων συνιστωσών	38
4.7.1. Η Θεωρία της PCA.....	38
4.7.2. Η χρήση της PCA για συμπίεση εικόνας.....	39

4.8.	Watershed αλγόριθμος	41
4.9.	Μετασχηματισμός απόστασης	43
5.	ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΑΣ.....	44
5.1.	Μέθοδος απόλυτης κατωφλίωσης (Otsu).....	46
5.2.	Μέθοδος με κριτήριο την εντροπία.....	47
5.3.	Μέθοδος ομαδοποίησης δεδομένων	49
5.4.	Μέθοδος ISODATA	51
5.4.1.	DIPimage	51
5.4.2.	DIPimagelib	52
5.5.	Μέθοδος επανάληψης	52
5.6.	Gaussian Mixture Model	53
5.6.1.	Expectation Maximization αλγόριθμος.....	53
6.	ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΓΡΑΦΩΝ	55
6.1.	Μη κατευθυνόμενος γράφος.....	56
6.2.	Κατευθυνόμενος γράφος	56
6.3.	Πίνακας Γειννίασης	57
6.4.	Graph Cuts τμηματοποίηση	57
6.5.	Θεώρημα της μέγιστης-ροής ελάχιστης-τομής	58
6.6.	Βήματα αλγορίθμου τμηματοποίηση	59
7.	Υλοποίηση προγράμματος.....	60
7.1.	Λειτουργία Προγράμματος.....	64
7.2.	Προ-επεξεργασία εικόνας	65
7.3.	Τμηματοποίηση	67
7.4.	Επεξεργασία εικόνας.....	72
7.5.	Μετρικές εκτίμησης απόδοσης.....	76
7.6.	Αρμονικός Μέσος Όρος	78
7.7.	Πειραματικά αποτελέσματα αλγορίθμων κατάτμησης.....	78
7.8.	Αποκόλληση κυττάρων και ανίχνευση με βάση το μέγεθος.....	80
7.9.	Ανάπτυξη Γραφικής Διεπιφάνειας Χρήστη (GUI)	83
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	90
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	91
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	93

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανάπτυξη που υπάρχει στις μέρες μας στην ψηφιακή ανάλυση και επεξεργασία ιατρικών εικόνων είναι μεγάλη. Ο Ηλεκτρονικός Υπολογιστής με την βοήθεια κατάλληλων αλγορίθμων επιτυγχάνει και επιταχύνει την διαδικασία ανάλυσης των εικόνων και σε πολύ μικρό χρόνο η επιστημονική κοινότητα είναι σε θέση να γνωρίζει άμεσα τα αποτελέσματα των αναλύσεων.

Σε αυτή την Διπλωματική εργασία μελετήθηκαν, τροποποιήθηκαν και συγκρίθηκαν αλγόριθμοι με σκοπό την κατάτμηση Ιατρικών εικόνων από μικροσκόπιο υψηλής ανάλυσης. Δοκιμάστηκαν αλγόριθμοι απλής κατωφλίωσης όπως είναι η Μέθοδος Otsu, Μέθοδος Isodata, ο αλγόριθμος με κριτήριο την εντροπία του Karur κ.α. . Ακόμη μελετήθηκε η μέθοδος ομαδοποίησης Fuzzy C-Clusterings και άλλοι δύο πιο περίπλοκοι αλγόριθμοι πολυκατωφλίωσης, ο ένας βασίζεται στη Θεωρία των Γράφων και ο δεύτερος στην Gaussian Mixture Model.

Όλοι οι αλγόριθμοι εκτελέστηκαν με το πρόγραμμα MatLab το οποίο είναι ένα πανίσχυρο πρόγραμμα στην ανάπτυξη κώδικα για την ανάλυση και επεξεργασία εικόνας. Παράλληλα αναπτύχθηκε σε GUI περιβάλλον μία πλατφόρμα στην οποία ο χρήστης μπορεί να δοκιμάζει τους αλγορίθμους , να τροποποιεί με διάφορα ψηφιακά φίλτρα και να λαμβάνει τα αποτελέσματα .

Πριν την παρουσίαση της εργασίας θεωρώ απαραίτητο να ευχαριστήσω όλους όσους βοήθησαν στην υλοποίησή της. Ευχαριστώ τον επιβλέπων Καθηγητή κ. Μανιτσάρη Αθανάσιο ο οποίος με ενεθάρρυνε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα. Δε θα μπορούσα να ξεχάσω τους δύο ερευνητές του Ινστιτούτου Πληροφορικής και Τηλεματικής του ΕΚΕΤΑ Θεσσαλονίκης Δρ. Νικόλαος Γραμμαλίδης Ερευνητής Γ' και Δρ. Κοσμάς Δημητρόπουλος Μεταδιδακτορικός ερευνητής του Ι.Π.ΤΗΛ .Οι χρήσιμες υποδείξεις τους και η αμέριστη συμπαράσταση στην εξέλιξη της εργασίας ήταν καθοριστικές για την περάτωση της. Επιπρόσθετα, θεωρώ υποχρέωσή μου να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη ΔΕΠ Καθηγητή κ.Κωστόπουλο και Καθηγήτρια κ.Κολέτσα της Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για την παραχώρηση των ιατρικών εικόνων μικροσκοπίου και για τον χρόνο που αφιέρωσαν για τον έλεγχο των αποτελεσμάτων.

2. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΑ

2.1. Το λεμφικό σύστημα

Το λεμφικό σύστημα είναι ένα δίκτυο οργάνων (μυελός των οστών, σπλήνας, θύμος αδένας, λεμφαδένες, αμυγδαλές, σκωληκοειδής απόφυση), ιστών και πόρων και έχει δύο ρόλους:

1. Παροχέτευση υγρών από τα κύτταρα και τους ιστούς προς την κυκλοφορία του αίματος.
2. Καταπολέμηση των λοιμώξεων και του καρκίνου, μέσω της κατανομής λεμφοκυττάρων (λευκών αιμοσφαιρίων) σε όλο το σώμα.

Το λεμφικό υγρό, το οποίο περιλαμβάνει πρωτεΐνες, λίπη και λεμφοκύτταρα, κυκλοφορεί γύρω από το λεμφικό σύστημα μέσω ενός πολύπλοκου δικτύου λεπτών σωλήνων που ονομάζονται λεμφικά αγγεία. Στην προστασία του σώματος κατά των βακτηρίων και των ιών εμπλέκονται δύο κύριοι τύποι λεμφοκυττάρων: τα Β-κύτταρα και τα Τ-κύτταρα. Τα Β-κύτταρα ωριμάζουν σε πλασμοκύτταρα, τα οποία παράγουν αντισώματα, απαραίτητα για την καταπολέμηση των λοιμώξεων. Τα Τ-κύτταρα εμπλέκονται κυρίως στον έλεγχο των ανοσοκυτταρικών αντιδράσεων και στην ενεργοποίηση των Β-κυττάρων, μέσω της παραγωγής ισχυρών χημικών ουσιών που ονομάζονται λεμφοκίνες.[25]

2.2. Τι είναι το λέμφωμα

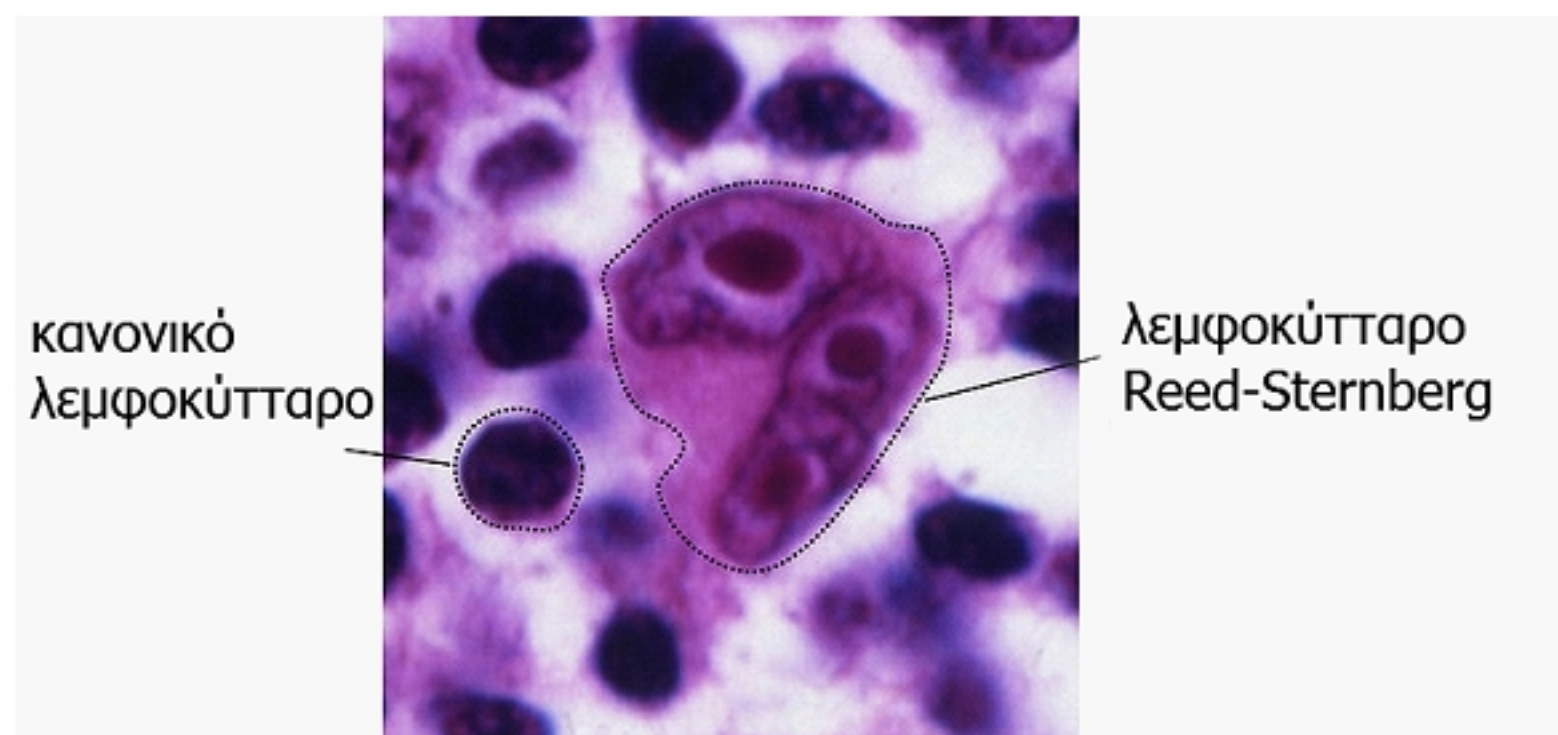
Το λέμφωμα είναι ένας τύπος καρκίνου που μπορεί να αναπτυχθεί όταν προκύψει σφάλμα στον τρόπο παραγωγής ενός λεμφοκυττάρου. Αυτό οδηγεί σε ένα μη φυσιολογικό κύτταρο που λόγω του ανεξέλεγκτου, μη φυσιολογικού πολλαπλασιασμού του με μεγάλη ταχύτητα καθίσταται καρκινικό. Όπως τα φυσιολογικά λεμφοκύτταρα, έτσι και τα καρκινικά λεμφοκύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν σε πολλά μέρη του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των λεμφαδένων, του σπλήνα, του μυελού των οστών, του αίματος ή άλλων οργάνων.

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι καρκίνου στο λεμφικό σύστημα:[25,26]

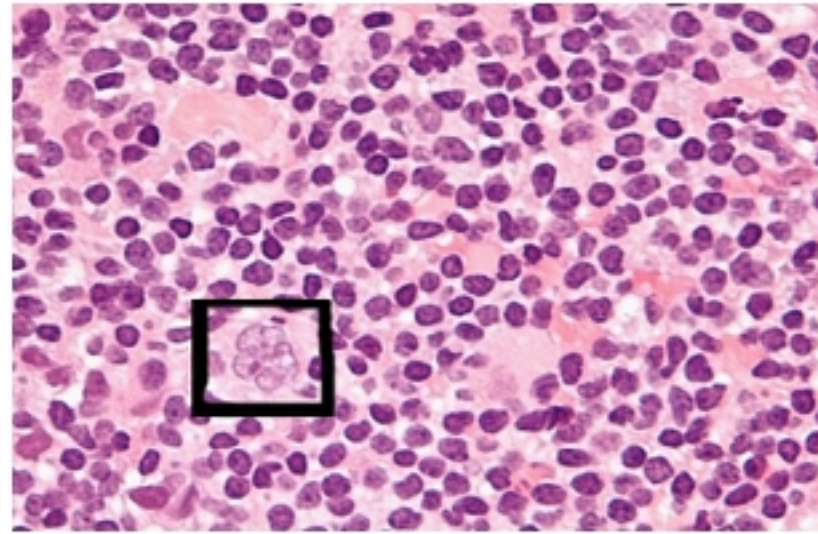
1. Νόσος Hodgkin
2. Μη-Hodgkin λέμφωμα

2.3. Διαφορά μεταξύ Hodgkin και μη-Hodgkin

Και οι δύο τύποι λεμφώματος Hodgkin είναι μια μορφή καρκίνου που ξεκινά σε ένα υποσύνολο των λευκών αιμοσφαιρίων που ονομάζονται λεμφοκύτταρα. Η κύρια διαφορά μεταξύ του Hodgkin και μη-Hodgkin λεμφώματος είναι ότι έχουν εμφανή διαφορετική εικόνα. Ένας γιατρός μπορεί να επισημάνει τη διαφορά μεταξύ των δύο τύπων καρκινικών κυττάρων με ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Εάν κατά την εξέταση των κυττάρων, ο γιατρός ανιχνεύσει την παρουσία ενός συγκεκριμένου τύπου ανώμαλου κύτταρου που ονομάζεται Reed-Sternberg κύτταρο, το λέμφωμα ταξινομείται ως Hodgkin. Αν ο Reed-Sternberg κυττάρων δεν ανιχνευθεί, τότε το λέμφωμα έχει ταξινομηθεί ως μη-Hodgkin. Η διάκριση αυτή είναι σημαντική διότι η θεραπεία και τα αποτελέσματα για κάθε είδος μπορεί να είναι πολύ διαφορετική. Χαρακτηριστικά των κλασικών κυττάρων Reed-Sternberg είναι το μεγάλο μέγεθος (20-50 μικρόμετρα), άφθονο και ομοιογενές κυτταρόπλασμα. Επίσης σχηματίζονται πυρήνες οι οποίοι περιβάλλονται από παχύ στρώμα κυτταρικής μεμβράνης.[26]



Εικόνα 1: Hodgkin Λέμφωμα



Εικόνα 2: μη-Hodkin Λέμφωμα ανάμεσα σε Hodkin κύτταρα

2.4. Βαθμονόμηση Οζώδους Λεμφώματος

Η βαθμονόμηση είναι σημαντική γιατί ανάλογα με το βαθμό καθορίζει την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων. Το οζώδες Λέμφωμα χαρακτηρίζεται από 3 κατηγορίες και αυτό εξαρτάται σε ένα βαθμό στον αριθμό των κεντροβλαστών στις νεοπλασίες του οζώδους λεμφώματος. [27]

➤ **Κατηγορία 1**

- σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται μικρά λεμφοκύτταρα μερικά από τα οποία είναι:



μικρό και κυκλικό
λεμφοκύτταρο

Εικόνα 3: Λεμφοκύτταρο



μικρό και σκίσιμο
(B-κύτταρο)

Εικόνα 4: B-κύτταρο



Κυτοκίνη (T-κύτταρο)

Εικόνα 5: T-κύτταρο



Μονοκύτταρο

Εικόνα 6: Μονοκύτταρο

➤ Κατηγορία 2

- Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται και μικρά λεμφοκύτταρα αλλά και μεγαλύτερα όπως είναι:



μικρός λεμφοβλαστός

Εικόνα 7: Λεμφοβλαστός (α)



λεμφοβλαστός

Εικόνα 8: Λεμφοβλαστός(β)

Οι πρώτες 2 κατηγορίες λαμβάνονται υπόψη ως την ίδια διάγνωση - παρακολουθούνται και αντιμετωπίζονται το ίδιο όπως χαμηλής κατηγορίας λέμφωμα.

➤ Κατηγορία 3

- Σε αυτή τη κατηγορία περιλαμβάνονται μεγάλα κύτταρα όπως για παράδειγμα:



κεντροβλαστός

Εικόνα 9: Κεντροβλαστός



ανοσοβλαστός

Εικόνα 10: Ανοσοβλαστός

Στην επιστημονική κοινότητα θεωρούνται επιθετικά κύτταρα. Αυτή η κατηγορία διαιρείται σε άλλες 3 υπό-κατηγορίες που είναι ανάλογες με τον αριθμό των κεντροβλαστών που υπάρχουν κατά οπτικό πεδίο.

- Κατηγορία 1 (<5 κεντροβλάστες/κοπ)
- Κατηγορία 2 (5-10 κεντροβλάστες/κοπ)
- Κατηγορία 3 (>15 κεντροβλάστες/κοπ)

Το μη-Hodgkin λέμφωμα ταξινομείται γενικά σε δύο ομάδες (επιθετικό και βραδείας εξέλιξης) που έχουν σημαντικά διαφορετική πρόγνωση. Ως αποτέλεσμα οι στρατηγικές θεραπείας για τις δύο ομάδες όγκων διαφέρουν:

- **Τα επιθετικά** (κατηγορία 3) λεμφώματα διαιρούνται και πολλαπλασιάζονται γρήγορα στο σώμα και, αν δεν αντιμετωπιστούν, μπορούν να αποβούν μοιραία μέσα σε έξι μήνες. Οι ασθενείς που λαμβάνουν διάγνωση και θεραπεία στα πρώιμα στάδια της επιθετικής νόσου έχουν περισσότερες πιθανότητες να επιτύχουν ίαση και λιγότερες πιθανότητες να εμφανίσουν όψιμη υποτροπή.
- **Τα βραδείας εξέλιξης** (κατηγορία 1 και 2) λεμφώματα διαιρούνται και πολλαπλασιάζονται αργά στο σώμα, καθιστώντας πιο δύσκολη την αρχική διάγνωση. Το **οζώδες (θυλακοειδές) λέμφωμα** είναι η πιο συνηθισμένη μορφή βραδείας εξέλιξης μη Hodgkin λέμφωμα.

Οι ασθενείς μπορεί να ζήσουν πολλά χρόνια με τη νόσο, αλλά, αντίθετα με το επιθετικό μη Hodgkin λέμφωμα, οι κλασικές θεραπείες δεν μπορούν να επιτύχουν ίαση της νόσου. Γενικά, οι ασθενείς έχουν υψηλά ποσοστά ανταπόκρισης στον πρώτο κύκλο θεραπείας, αλλά αναμένεται να εμφανίσουν επαναλαμβανόμενες υποτροπές του καρκίνου. Κατά κανόνα, ένας ασθενής με βραδείας εξέλιξης μη Hodgkin λέμφωμα αναμένεται να λάβει θεραπεία πέντε έως έξι φορές στη διάρκεια της ζωής του. [27]

2.5. Ιατρική απεικόνιση

Ιατρική Απεικόνιση ονομάζεται η in vivo (εν ζωή) αναπαραγωγή της εικόνας δομών του σώματος με σκοπό τη διάγνωση, το σχεδιασμό, την παρακολούθηση των θεραπευτικών αγωγών και τη συμβολή σε πειραματικές μελέτες. Κάθε είδος ιατρικής απεικόνισης πρέπει να χαρακτηρίζεται από εγκυρότητα, να επιβαρύνει όσο το δυνατόν λιγότερο τον οργανισμό και να διεξάγεται σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Η Ιατρική απεικόνιση αναφέρεται στις τεχνικές και τις διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για να δημιουργήσουν εικόνες από το ανθρώπινο σώμα ή τα μέρη

επ' αυτού, για κλινικούς λόγους, -μία ανάλογη εργασία (όχι για κλινικούς λόγους) αναφέρεται σε ανίχνευση γεωμετρικών μορφών πάνω στο ανθρώπινο σώμα αλλά για αναγνώριση μουσικών κινήσεων [40]- .Μία Σαν πειθαρχία και υπό την ευρύτερη έννοιά του, είναι μέρος της βιολογικής απεικόνισης και χρησιμοποιείται στην ακτινολογία (υπό την ευρύτερη έννοια), σε ραδιολογικές επιστήμες, στην ενδοσκόπηση, στην ιατρική φωτογραφία και μικροσκόπηση (π.χ. για τις ανθρώπινες παθολογικές έρευνες). Μέτρηση και καταγραφή των τεχνικών που δεν έχουν σχεδιαστεί κυρίως για την παραγωγή εικόνων, όπως ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (EEG) και μαγνητοεγκεφαλογραφία (MEG), αλλά που παράγουν τα δεδομένα και μπορούν να θεωρηθούν ως μορφές ιατρικής απεικόνισης.

Σε γενικές γραμμές, η ιατρική απεικόνιση αναφέρεται στη διαδικασία που περιλαμβάνει ειδικευμένα όργανα και τεχνικές για να δημιουργήσει εικόνες ή σχετικές πληροφορίες σχετικά με την εσωτερική βιολογική δομή και λειτουργία του σώματος. Η ιατρική απεικόνιση έχει μερικές φορές χαρακτηριστεί, σε ευρύτερη έννοια, ως μέρος των ραδιολογικών επιστημών. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, λόγω των κοινών εφαρμογών της στη διαγνωστική ακτινολογία.[2]

Η ακριβής και έγκαιρη διάγνωση, η εκτίμηση της πορείας μιας νόσου, αλλά και ο σχεδιασμός θεραπευτικών παρεμβάσεων βασίζονται σήμερα σε σημαντικό βαθμό στην ιατρική απεικόνιση και εξαρτώνται τόσο από τη συλλογή των απεικονιστικών δεδομένων όσο και από την ερμηνεία-διαχείριση των λαμβανόμενων εικόνων. Τα τελευταία χρόνια, ο ρόλος και η συμβολή της ιατρικής απεικόνισης στη διαγνωστική και θεραπευτική διαδικασία έχει ενισχυθεί θεαματικά εξαιτίας όχι μόνο των εξελίξεων στα ανιχνευτικά συστήματα αλλά και στην τεχνολογία των υπολογιστών. Για παράδειγμα, μια από τις σημαντικότερες εξελίξεις στην ιατρική απεικόνιση σχετίζεται με την τομογραφική απεικόνιση του ανθρώπινου σώματος, η οποία εξαρτάται ουσιαστικά από τις διαθέσιμες δυνατότητες υπολογιστικής ισχύος και αποθήκευσης δεδομένων και παράγει τρισδιάστατες (3D) αναπαραστάσεις υψηλής ποιότητας στην οθόνη του υπολογιστή. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την Ιατρική απεικόνιση, αναφορικά οι σημαντικότερες είναι.

- Απεικόνιση Μαγνητικού Συντονισμού
- Υπολογιστική Τομογραφία
- Απεικόνιση με υπερήχους
- Ακτινογραφία
- Ακτινοσκόπηση
- Απεικόνιση Πυρηνικής Ιατρικής
- Μικροσκόπιο

Στη συγκεκριμένη εργασία θα μας απασχολήσουν ιατρικές εικόνες από Οπτικό Μικροσκόπιο με φωτογραφική κάμερα υψηλής ανάλυσης.

2.6. Σχετική έρευνα

Υπάρχουν κάποιες ενδιαφέρουσες σχετικές δημοσιεύσεις σχετικά με την τμηματοποίηση των ιατρικών εικόνων .

Μία ενδιαφέρουσα έρευνα που έγινε πριν αρκετά χρόνια ,ήταν αυτή των Kenong Wu, David Gauthier και Martin D. Levine του Πανεπιστημίου McGill στο Μόντρεαλ του Καναδά[14]. Αναπτύσσουν και αυτοί ένα παρόμοιο αυτοματοποιημένο σύστημα επεξεργασίας ιατρικής εικόνας και το πρόβλημα τους είναι το ίδιο με τα παραπάνω δηλαδή, η τμηματοποίηση ιατρικής εικόνας. Η μέθοδος τους έχει 2 στάδια .Το πρώτο είναι να εξάγουν το κύτταρο με κάποιο τμήμα του φόντου και στο δεύτερο στάδιο να γίνει η κάθαρση του φόντου από το κύτταρο. Η μέθοδος τμηματοποίησης που χρησιμοποιούν είναι η τμηματοποίηση με βάση την περιοχή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος είναι αποδοτική και το κυριότερο ότι είναι και γρήγορη.

Ο Dwi Anoraganingrum του Πανεπιστημίου της Βρέμης της Γερμανίας ανέπτυξε ένα αυτοματοποιημένο σύστημα ξεχωρισμού των κυττάρων το οποίο ήταν μέρος του ερευνητικού έργου [13]. Η κύρια απαίτηση ήταν η τμηματοποίηση των κυττάρων η οποία επιτεύχθηκε με το φίλτρο ενδιάμεσης τιμής και με την χρήση Μαθηματικής Μορφολογίας δηλαδή με Συστολή και Διαστολή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέθοδος που προτείνει είναι συγκρίσιμη με τις γνωστές μεθόδους τμηματοποιήσεων και εύρεσης ακμών αντικείμενων.

Μία παρόμοια εργασία με την παραπάνω αναπτύχθηκε από τους Xiaowei Chen, Xiaobo Zhou και Stephen T.C. Wong του Κέντρου Bioinformatics της Ιατρικής Σχολής Harvard[15]. Το πρόβλημα τους είναι η τμηματοποίηση και κατηγοριοποίηση καρκινικών κυττάρων. Η μεθοδολογία τους ξεκινάει με μία αρχική τμηματοποίηση Otsu και στη συνέχεια εφαρμόζουν τον αλγόριθμο Watershed για να ξεχωρίσουν τους πυρήνες. Στη συνέχεια μετρώντας το εμβαδό μπόρεσαν και κατηγοριοποίησαν τα κύτταρα.

Ο Eric Battenberg και η Ilka Bischofs-Pfeifer από το Εθνικό Εργαστήριο του Berkeley της Αμερικής ανέπτυξαν ένα σύστημα τμηματοποίησης κυττάρων και βακτηρίων από εικόνες μικροσκοπίου για να καλύψουν τις ανάγκες του Εργαστηρίου[12]. Η υλοποίηση έγινε με την βοήθεια του Matlab και το εργαλείο επεξεργασίας εικόνας DIPImage. Η προσέγγισή τους συνδυάζει πολλές από τις υπάρχουσες τεχνικές που είναι κατάλληλες για την συγκεκριμένη εφαρμογή τους. Το κύριο χαρακτηριστικό είναι να ξεχωρίσουν το κάθε κύτταρο από την εξεταζόμενη

περιοχή. Έπειτα ,δώσανε ιδιαίτερη έμφαση στο ποσοστό σφάλματος και στην ταχύτητα που εκτελείται το πρόγραμμα. Η προσέγγιση τους χρησιμοποιεί 3 στάδια .Αρχικά τα ομαδοποιημένα κύτταρα τμηματοποιούνται από το φόντο .Αυτό επιτυγχάνεται με τον αλγόριθμο τμηματοποίησης Otsu. Στη συνέχεια το κάθε κύτταρο που έχει τμηματοποιηθεί κατηγοριοποιείται. Τέλος, τα σημεία που περιέχουν πολλά ενωμένα κύτταρα μαζί διασπώνται με βάση το σχήμα τους. Πριν από τις ενέργειες κατάτμησης, χρησιμοποιείται μια ρουτίνα προεπεξεργασίας για την αφαίρεση του θορύβου και την διόρθωση της αντίθεσης.

3. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΩΝ

Οι δύο πιο γνωστές κατηγορίες μικροσκοπίων είναι :

- Τα οπτικά μικροσκόπια
- Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια

3.1. Οπτικό Μικροσκόπιο

Το μικροσκόπιο είναι ένα εργαλείο που βοηθά να δούμε μικρά αντικείμενα, που με γυμνό μάτι είναι αόρατα, είναι δηλαδή μικρότερα του 0,1mm. Με το οπτικό μικροσκόπιο μπορούμε να δούμε μικρά αντικείμενα μεγέθους μέχρι 0,1μικρά=0,0001mm. Η καλή μικροσκόπηση εξαρτάται από τρία πράγματα:

- Διακριτική ικανότητα
- Μεγέθυνση
- Την αντίθεση ανάμεσα στα μέρη του αντικειμένου

Η διακριτική ικανότητα d είναι η "ικανότητα" του μικροσκοπίου να δείχνει δύο πολύ κοντινά σημεία ως δύο καθαρά ξεχωριστά σημεία. Η διακριτική ικανότητα του ανθρώπινου ματιού είναι 0,2 mm ,του οπτικού μικροσκοπίου είναι 0,2 μm και του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου 0,2 nm .Ορίζεται από τον τύπο:

$$d = 0,61 \frac{A}{\lambda}$$

d =διακριτική ικανότητα

0.61 = μία σταθερά

λ =το μήκος κύματος της ακτινοβολίας

A = το αριθμητικό άνοιγμα του φακού και εξαρτάται από την ποιότητα κατασκευής του φακού.

Η μεγέθυνση δείχνει πόσες φορές μπορεί το μικροσκόπιο να μεγεθύνει το είδωλο του αντικείμενου.

Τα μέρη του αντικειμένου γίνονται διακριτά (και επομένως ορατά), όταν υπάρχει επαρκής αντίθεση μεταξύ τους. Σε περίπτωση που οι βιολογικές δομές είναι πολύ διαφανείς, η αντίθεση ενισχύεται με την χρήση χρωστικών.[30]

3.1.1. Μέρη μικροσκοπίου

Το μηχανικό σύστημα του μικροσκοπίου συγκροτείται από:

- α) Τη βάση στήριξης του οργάνου
- β) Τον λαμπτήρα με τον οποίο φωτίζεται το παρασκεύασμα

- γ) Την τράπεζα, όπου τοποθετείται το αντικείμενο μικροσκοπησης,
- δ) Το βραχίονα με τους κοχλίες μετακίνησης της τράπεζας
- ε) Τους αντικειμενικούς φακούς και ο μηχανισμός περιστροφής ,το περίστρεπτο
- στ) Τον οπτικό σωλήνα
- ζ) Τον προσοφθάλμιο φακό



Εικόνα 11: μέρη μικροσκοπίου

Στον οπτικό σωλήνα προσαρμόζεται το σύστημα των φακών, οι προσοφθάλμιοι και οι αντικειμενικοί. Η εναλλαγή των προσοφθάλμιων φακών εξασφαλίζεται με τη μετακίνηση του περίστρεπτου. Η μεγέθυνση που επιτυγχάνουν οι φακοί κυμαίνεται μεταξύ 6x και 25x για τους προσοφθάλμιους και 2,5x έως 100x για τους αντικειμενικούς. Η συνολική μεγέθυνση που εξασφαλίζει το μικροσκόπιο ισούται εμπειρικά με το γινόμενο των δυνατοτήτων μεγέθυνσης των δύο φακών.[28]

Το αντικείμενο της μικροσκοπικής παρατήρησης, παρασκευάσμα, τοποθετείται σε μια μικρή γυάλινη πλάκα. Η παρατήρηση των μικροσκοπικών παρασκευασμάτων γίνεται είτε άμεσα (παρατήρηση ζωντανού οργανισμού ή δομών του στη φυσική τους κατάσταση) είτε μετά από στερέωση (νέκρωση) ή και χρώση του υλικού. Στην πρώτη περίπτωση τα παρασκευάσματα χαρακτηρίζονται ως προσωρινά ενώ στη δεύτερη ως μόνιμα. Μικροσκοπικά παρασκευάσματα που προέρχονται από ζωντανούς οργανισμούς (μικροσκοπικοί πολυκύτταροι οργανισμοί, μονοκύτταροι οργανισμοί, κύτταρα οργανισμών) περιέχουν νερό σε μεγάλο ποσοστό με αποτέλεσμα να είναι σχεδόν αόρατα αν παρατηρηθούν στο μικροσκόπιο χωρίς καμιά ιδιαίτερη επεξεργασία. Για να γίνουν τα παραπάνω παρασκευάσματα ορατά στο οπτικό

μικροσκόπιο εφαρμόζονται κατάλληλες τεχνικές χρώσεις. Μια μεγάλη ποικιλία χρωστικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη χρώση προσωρινών ή μόνιμων παρασκευασμάτων ενώ ταυτόχρονα υπάρχουν δυνατότητες για επιλεκτική χρώση συγκεκριμένων τμημάτων του παρασκευάσματος. Ο φωτισμός του αντικειμένου εξασφαλίζεται από ένα λαμπτήρα ενσωματωμένο στη βάση του μικροσκοπίου. Κάτω από το κυκλικό άνοιγμα της τράπεζας, μέσω του οποίου το φως φτάνει στο παρασκεύασμα.[29]

3.2. Electron Μικροσκόπια

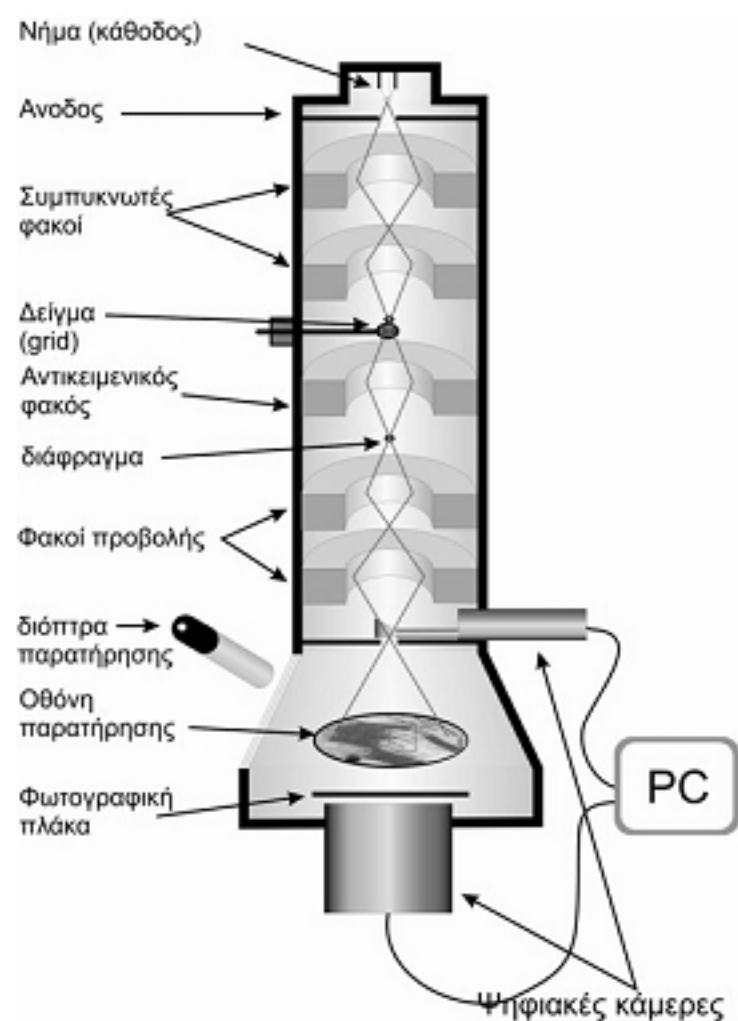
Τα μικροσκόπια βασίζονται σε μία από δύο διαφορετικές βασικές τεχνικές Μετάδοσης (Transmission) και σάρωσης (scanning). Στην τεχνική μετάδοσης η ενέργεια που περνάει μέσα από το δείγμα διαθλάται και απορροφάται (ο δείκτης διάθλασης έχει πραγματικό και φανταστικό μέρος) διαφορετικά ανάλογα με τα συστατικά του δείγματος, π.χ. αν θέλαμε να δούμε ένα κουνούπι λόγω διαφορετικής σύστασης και πάχους θα είχαμε διαφορά στις ακτίνες που περνάνε από το κεφάλι και τα πόδια του. Στην τεχνική σάρωσης δημιουργούμε την εικόνα της επιφάνειας σημείο-σημείο σαρώνοντας πάνω από την επιφάνεια (οι λεπτομέρειες διαφέρουν ανάλογα με την συγκεκριμένη μέθοδο). Τα τελευταία 50 χρόνια είχαν αναπτυχθεί 2 είδη ηλεκτρονικών μικροσκοπίων: Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διάδοσης-*transmission electron microscope (TEM)* και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης -*scanning electron microscope (SEM)*. Τα δύο αυτά μικροσκόπια χρησιμοποιούν μαγνητικούς φακούς που εστιάζουν μια δέσμη ηλεκτρονίων στο δείγμα. Τα ηλεκτρόνια που χρησιμοποιούνται έτσι έχουν ένα μήκος κύματος (<0,1nm) μέχρι και 100,000 φορές μικρότερο από το ορατό φως (~560nm). Το αποτέλεσμα είναι ότι μπορούν να διακρίνουν αντικείμενα μέχρι 400-1000 φορές καλύτερα από τα απλά μικροσκόπια και 200000 φορές καλύτερα από το ανθρώπινο μάτι, με μεγεθύνσεις 1 εκατομμύριο φορές χωρίς απώλεια λεπτομέρειας. Το μόνο πρόβλημα είναι ότι το ανθρώπινο μάτι δεν μπορεί να δει αυτά τα μήκη κύματος, συνεπώς χρειάζεται μια οθόνη (π.χ. σαν τηλεόρασης ή ειδικό φωτογραφικό φιλμ) στο οποίο η πρόσκρουση των ηλεκτρονίων θα μετατρέπεται σε εκπομπή ορατής ακτινοβολίας. Η χρήση ηλεκτρονίων αντί π.χ. ακτίνων X επιβάλλεται γιατί όπως είδαμε στα στοιχεία οπτικής χρειάζεται να εστιάσουμε την ακτινοβολία και ενώ οι ακτίνες X αλληλεπιδρούν ασθενώς με την ύλη και δεν μπορούν να εστιαστούν, δέσμες ηλεκτρονίων μπορούν να εστιαστούν με τη βοήθεια μαγνητικών πεδίων. Οι δύο μέθοδοι μπορούν να

συνδυαστούν στην STEM(Scanning Transmission Electron Microscopy) που δουλεύει σαν το TEM, εκτός του ότι σκανάρει περιοχή-περιοχή το δείγμα.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διάδοσης, η πηγή ηλεκτρονίων αποτελείται ένα νήμα βολφραμίου που με την πυράκτωσή, όταν περάσει από αυτό ηλεκτρικό ρεύμα, εκπέμπει ηλεκτρόνια. Μεταξύ του νήματος, που αποτελεί την κάθοδο, και της ανόδου, εφαρμόζεται μια διαφορά δυναμικού (συνήθως της τάξης των 60-100 kV) η οποία επιταχύνει τα ηλεκτρόνια. Η πορεία των ηλεκτρονίων, ρυθμίζεται από τους ηλεκτρομαγνητικούς φακούς στους οποίους αλλάζοντας την ένταση του ρεύματος που τους διαπερνάει, μπορούμε να μεταβάλλουμε την ένταση του μαγνητικού πεδίου τους (δηλαδή την εστιακή τους απόσταση) και επομένως να εστιάσουμε τη δέσμη των ηλεκτρονίων πάνω στο παρασκεύασμα. Οι κύριες ρυθμίσεις σ' ένα ΗΜΔ επιτυγχάνονται με:

1. τον συγκεντρωτή φακό (condenser lens), εστίαση της δέσμης στο παρασκεύασμα.
2. τον αντικειμενικό φακό (objective lens), εστίαση της εικόνας στην οθόνη.
3. ενδιάμεσος ή και φακός προβολής (intermediate, projector lens) για τη ρύθμιση της μεγέθυνσης.

Η εικόνα σχηματίζεται πάνω σε μια οθόνη επικαλυμμένη με φωσφορίζουσα ουσία η οποία διεγείρεται από τα ηλεκτρόνια που πέφτουν επάνω της, αφού αυτά διαπεράσουν το παρασκεύασμα. Τα σημεία του παρασκευάσματος που δεν είναι διαπερατά από τα ηλεκτρόνια, μας δίνουν σκοτεινές περιοχές (ηλεκτρονιόφιλες, ηλεκτρονιακά πυκνές, electron dense) ενώ αντίθετα τα διαπερατά σημεία (ηλεκτρονιακά διαφανή, electron lucent) μας δίνουν φωτεινές περιοχές. Αυτή η διαφοροποίηση επιτυγχάνεται με την εκλεκτική «χρώση» του παρασκευάσματος

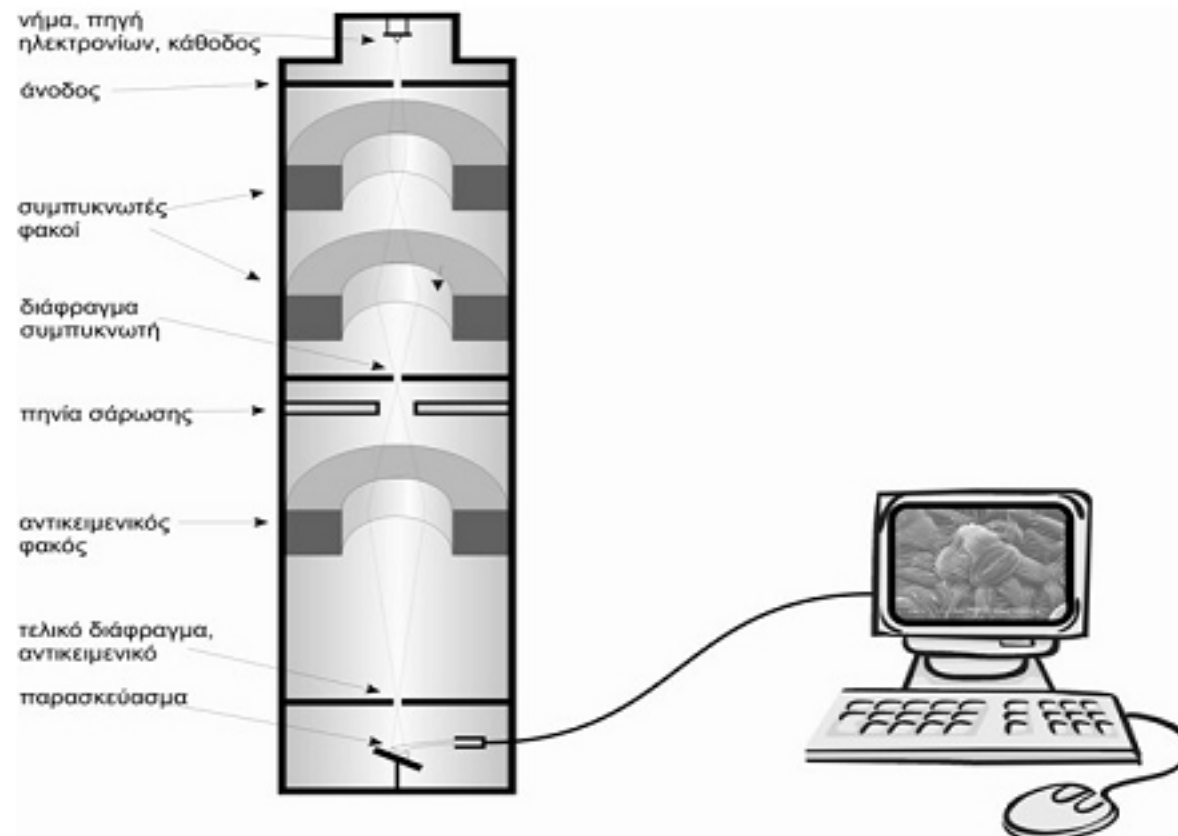


Εικόνα 12: Τυπικά μέρη μικροσκοπίου Electron(TEM)

Φυσικά αυτές τις εικόνες εκτός του ότι μπορούμε να τις παρατηρήσουμε απ' ευθείας στην οθόνη του μικροσκοπίου, μπορούμε και να τις απεικονίσουμε με τις ειδικές φωτογραφικές μηχανές που είναι πάντα ενσωματωμένες στα μικροσκόπια. Τα πιο σύγχρονα μικροσκόπια διαθέτουν ενσωματωμένη ψηφιακή κάμερα και μικροϋπολογιστή και έτσι μπορεί να γίνει απ' ευθείας ψηφιοποίηση και αποθήκευση της εικόνας. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης παράγει καλά εστιασμένες τρισδιάστατες εικόνες με μεγάλη λεπτομέρεια. Ένα σύγχρονο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης έχει διακριτική ικανότητα που φτάνει τα 3 nm.

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης χρησιμοποιεί, μια δέσμη ηλεκτρονίων που εδώ όμως αντί να διαπερνούν το παρασκεύασμα, σαρώνουν την επιφάνειά του (όπως σαρώνουν τα μάτια μας τη σελίδα ενός βιβλίου όταν διαβάζουμε) με πολύ μεγάλη ταχύτητα. Η δέσμη των ηλεκτρονίων παράγεται και εδώ από ένα νήμα, και ένα σύστημα ανόδου καθόδου όπου εφαρμόζεται υψηλή τάση, συνήθως της τάξης των 15-40 kV, για την επιτάχυνση των ηλεκτρονίων. Η δέσμη των ηλεκτρονίων αφού εστιαστεί από σύστημα συγκεντρωτών φακών βομβαρδίζει το παρασκεύασμα με αποτέλεσμα κάποια από τα ηλεκτρόνια να το διαπερνούν, κάποια να σκεδάζονται ή να άγονται ενώ συγχρόνως να προκαλείται η παραγωγή δευτερογενών ηλεκτρονίων, ακτινών X και ηλεκτρονίων Auger. Τα δευτερογενή ηλεκτρόνια, που προέρχονται από την επιφάνεια του παρασκευάσματος έχουν μικρή σχετικά ενέργεια που σχετίζεται με τη τοπογραφία του. Αυτά τα δευτερογενή ηλεκτρόνια συλλέγονται και στέλνονται σαν

ένα ηλεκτρονικό σήμα μέσω ενός ενισχυτή εικόνας σ' ένα καθοδικό σωλήνα (CRT) όπου γίνεται και η παρατήρηση ή και η φωτογράφιση του δείγματος. Τα υπόλοιπα ηλεκτρόνια ή ακτινοβολίες που παράγονται μπορούν να μας δώσουν άλλες πληροφορίες σχετικές με την υφή και σύσταση του παρασκευάσματος.[30]



Εικόνα 13:Τυπικά μέρη μικροσκοπίου Electron (SEM)

4. ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΚΟΝΑΣ

Ο τεράστιος όγκος των οπτικών πληροφοριών και η ανάγκη επεξεργασίας τους, οδήγησε τους επιστήμονες και τεχνικούς στην εξεύρεση μέσων ψηφιακής αποθήκευσης της εικόνας και επεξεργασίας της με ηλεκτρονικούς υπολογιστές. Η προσπάθεια αυτή οδήγησε σε ένα καινούριο κλάδο της πληροφορικής που ονομάζεται ψηφιακή επεξεργασία και ανάλυση εικόνων.

Η Ψηφιακή επεξεργασία εικόνας είναι η τεχνολογία της εφαρμογής ενός αριθμού υπολογιστικών αλγορίθμων για την επεξεργασία των ψηφιακών εικόνων. Τα αποτελέσματα αυτής της διαδικασίας μπορεί να είναι εικόνες ή ένα σύνολο χαρακτηριστικών των ιδιοτήτων των αρχικών εικόνων. Ο κύριος σκοπός της ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας είναι να επιτρέπει στους ανθρώπους να αποκτήσουν μια εικόνα υψηλής ποιότητας και να μπορούν να λαμβάνουν χαρακτηριστικά και ιδιότητες από τις εικόνες[18].

Η Ψηφιακή επεξεργασία εικόνας λειτουργεί άμεσα σε μια εικόνα, η οποία αποτελείται από πολλά pixels (σημεία). Κάθε pixel έχει ξεχωριστή διεύθυνση στο χώρο και χαρακτηρίζεται από την ένταση της φωτεινότητας. Ένα έγχρωμο pixel έχει περισσότερες διαστάσεις από ένα γκρι καθώς αποτελείται από τρία χρώματα κόκκινο, μπλε, πράσινο και συνήθως χρησιμοποιείται σε διαφορετικούς συνδυασμούς με σκοπό να αναπαραστήσει τα χρώματα του πραγματικού κόσμου.

Αναφορικά οι σπουδαιότεροι τομείς όπου χρησιμοποιείται κατά κόρον η Ψηφιακή Επεξεργασία Εικόνας είναι:

- Φωτογραφία
- Τηλεπισκόπηση (Remote sensing -τεχνολογία βασισμένη σε αισθητήρια όργανα για την μελέτη της συμπεριφορά της Γης)
- Ιατρική απεικόνιση, Ιατροδικαστική
- Διάστημα
- Μεταφορές
- Στρατός

4.1. Τα είδη των ψηφιακών εικόνων

Υπάρχουν 3 βασικοί τύποι εικόνων :

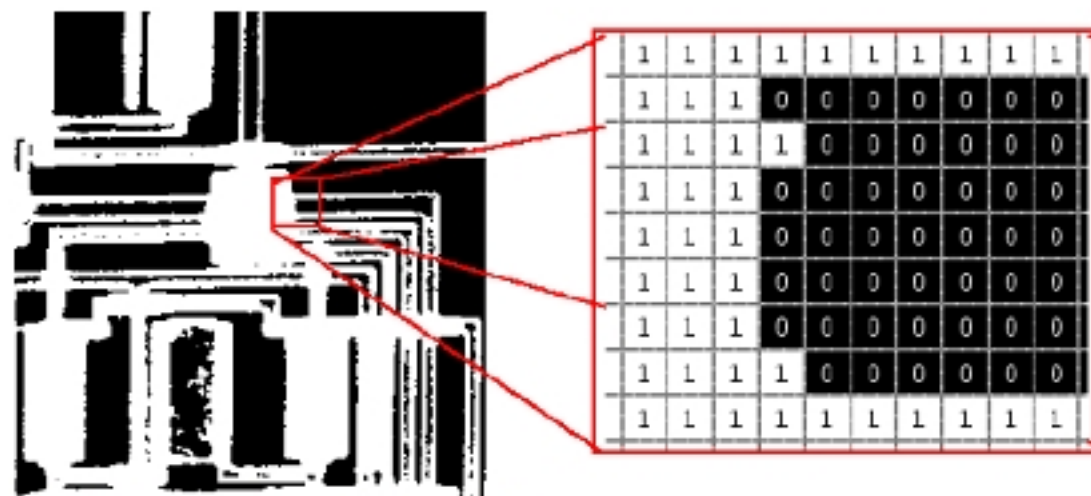
- Δυαδικές εικόνες
- Εικόνες διαβαθμίσεων του Γκρι

- Έγχρωμες εικόνες (RGB)

4.1.1. Δυαδικές (binary) εικόνες

Σε μια δυαδική εικόνα, κάθε pixel μπορεί να πάρει μια από τις δύο διακριτές τιμές (0 ή 1). Η τιμή 0 αντιστοιχεί στο μαύρο και η τιμή 1 στο λευκό. Μια δυαδική εικόνα αποθηκεύεται ως ένας δισδιάστατος πίνακας μηδενικών και μονάδων.

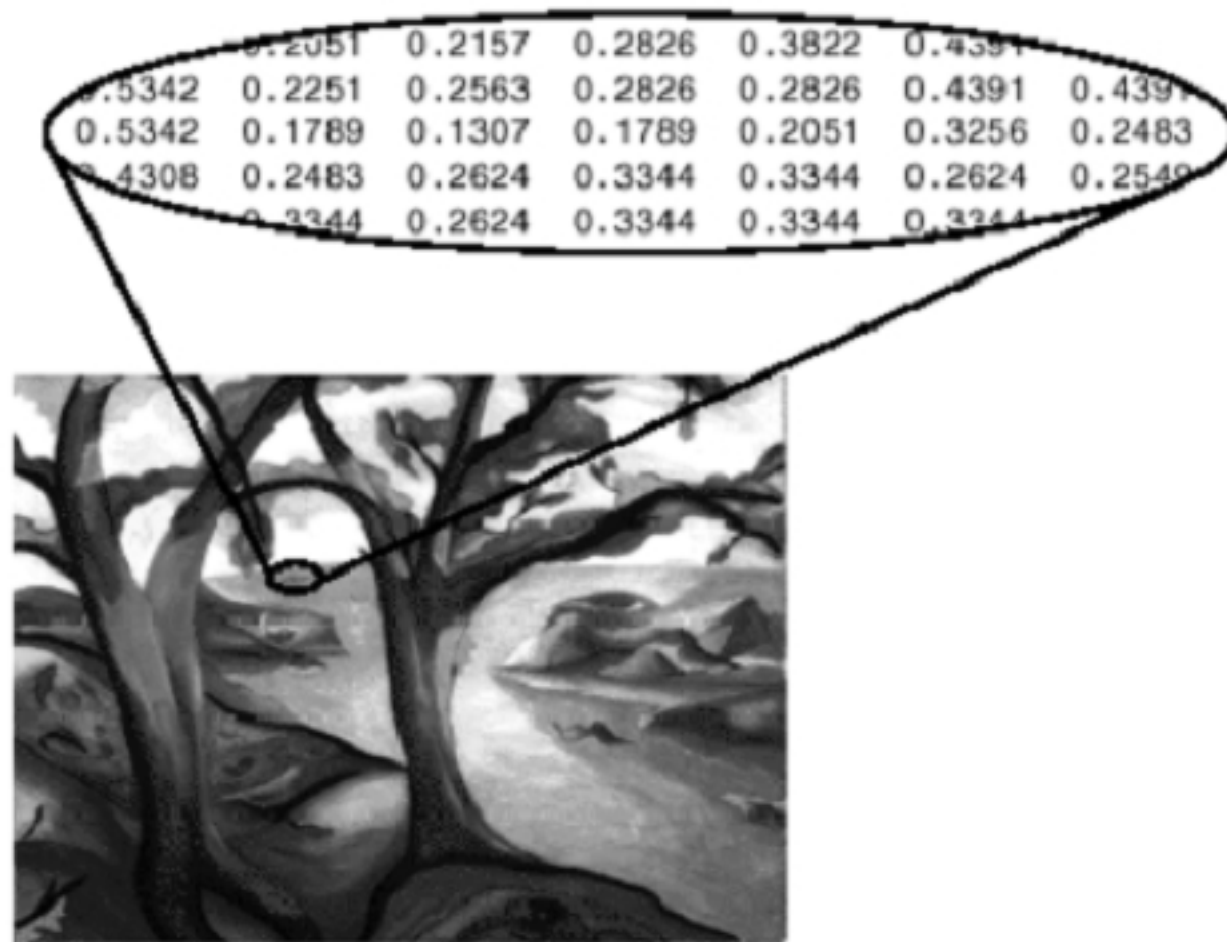
Μια δυαδική εικόνα μπορεί να θεωρηθεί ως ένας ειδικός τύπος ασπρόμαυρης εικόνας, η οποία όμως περιέχει μόνο μαύρο και άσπρο. Γενικά οι δυαδικές εικόνες χρησιμοποιούνται για δεικτοδότηση (indexing) περιοχών ενδιαφέροντος άλλων εικόνων (τα pixels με τιμή 1 υποδεικνύουν τα pixels μιας περιοχής ενδιαφέροντος). Για το λόγο αυτό, μια δυαδική εικόνα ονομάζεται επίσης και «μάσκα». Παρακάτω βλέπουμε ένα παράδειγμα δυαδικής εικόνας.[17]



Εικόνα 14: Μία Δυαδική εικόνα

4.1.2. Εικόνες διαβαθμίσεων του Γκρι (Grayscale)

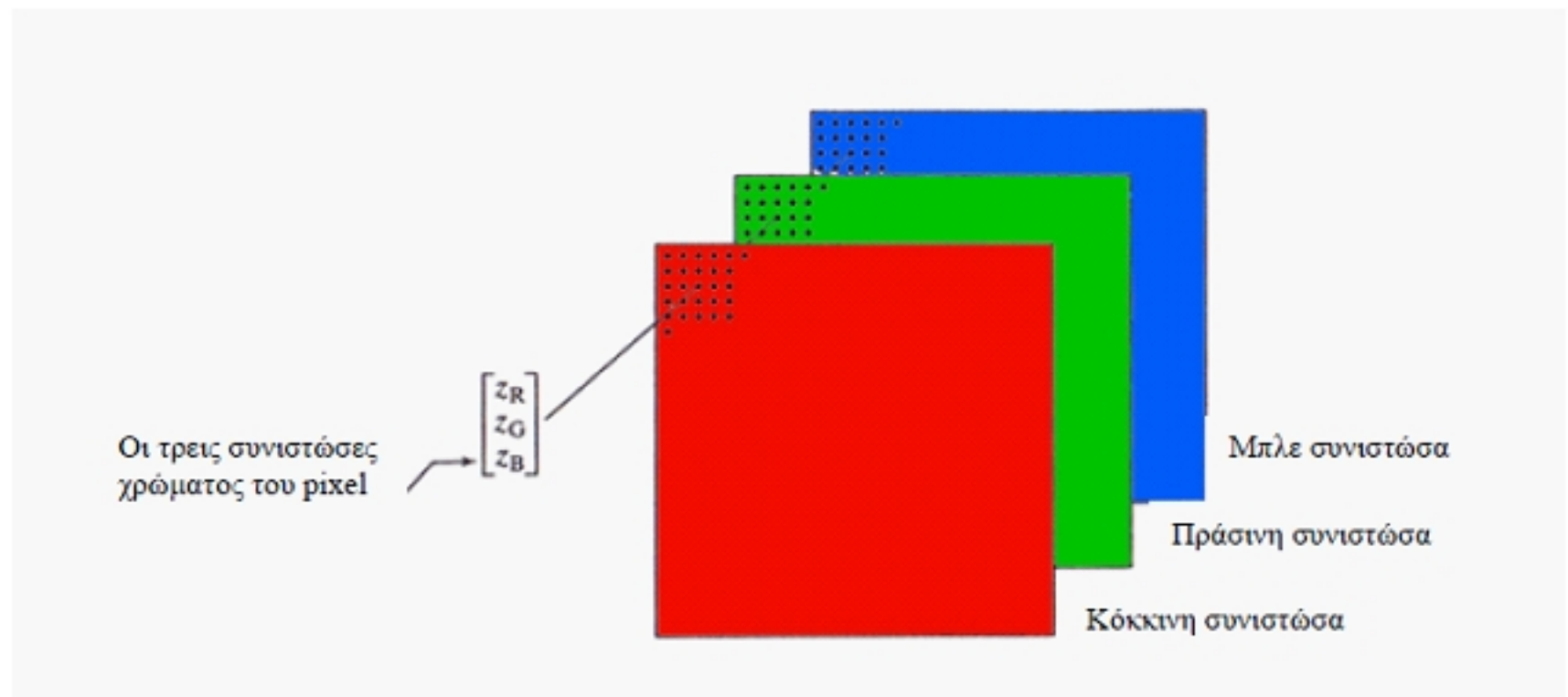
Μια γκρι εικόνα (εικόνα έντασης φωτεινότητας) είναι ένας πίνακας δεδομένων I του οποίου οι τιμές των στοιχείων αναπαριστούν την ένταση της φωτεινότητας κάθε pixel. Ο πίνακας αυτός είναι 2 διαστάσεων και το κάθε στοιχείο αναφέρεται σε ένα και μοναδικό pixel. Οι τιμές των pixels αναπαριστούν διάφορες εντάσεις φωτεινότητας (επίπεδα του γκρι), όπου η τιμή 0 αναπαριστά το μαύρο και η τιμή 255 αναπαριστά το λευκό. Το διάστημα [0, 255] μέσα στο οποίο μπορεί να πάρει τιμή φωτεινότητας ένα pixel, συνήθως κανονικοποιείται σε [0, 1], όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα.[17]



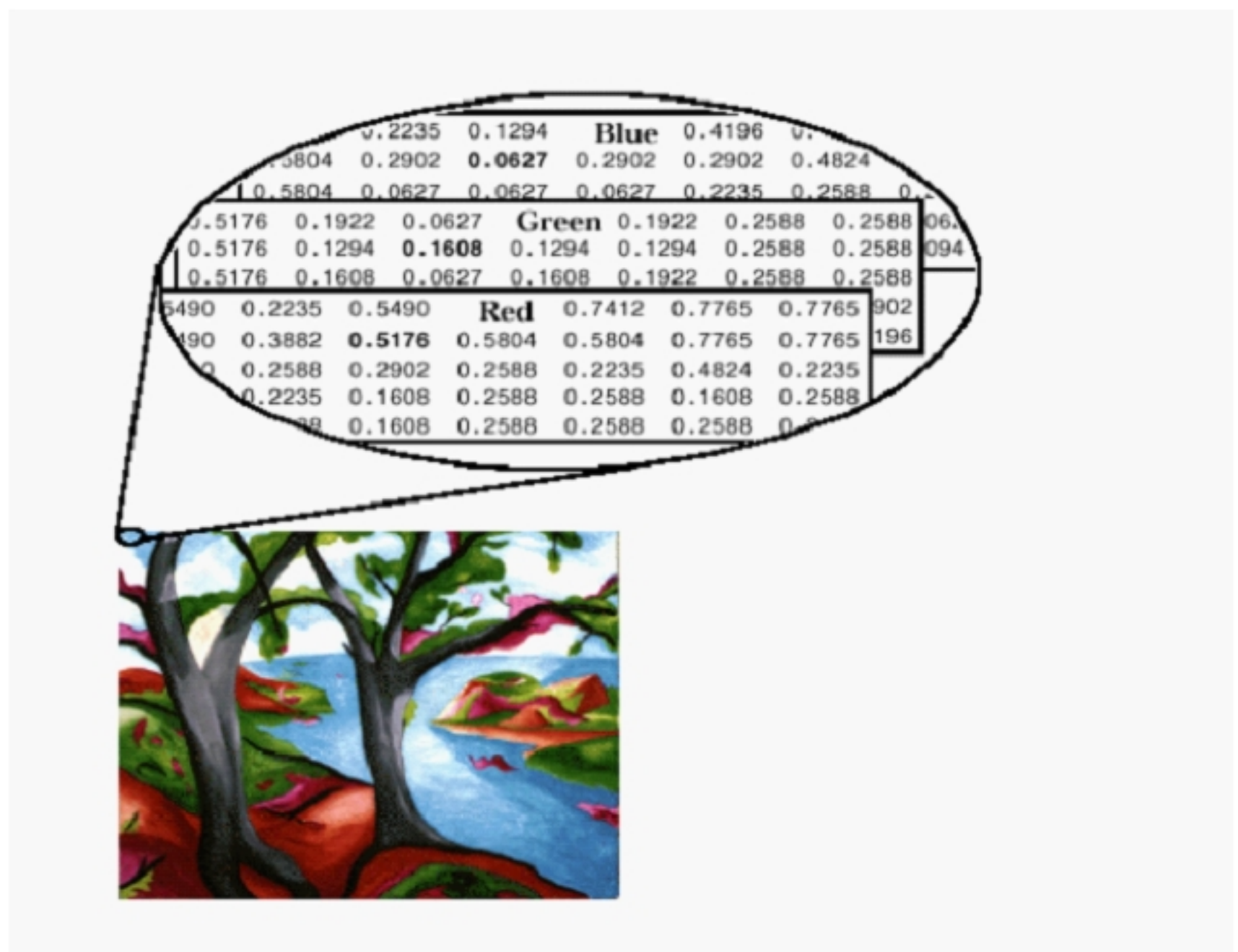
Εικόνα 2: Πίνακας δυο διαστάσεων διαβαθμίσεων Γκρι

4.1.3. Έγχρωμες εικόνες (RGB)

Μια RGB εικόνα αποθηκεύεται σαν ένας τρισδιάστατος πίνακας δεδομένων. Ο οποίος καθορίζει τα κόκκινα, πράσινα και μπλε χρωματικά στοιχεία κάθε ανεξάρτητου pixel. Κάθε pixel αποτελείται από 3 συνιστώσες (κόκκινη, πράσινη, μπλε), και η τιμή κάθε μιας από αυτές περιγράφει την «ποσότητα» (ένταση) του κόκκινου, πράσινου και μπλε αντίστοιχα που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του τελικού χρώματος. Πρακτικά, μια εικόνα RGB δημιουργείται από τη σύνθεση τριών grayscale εικόνων, κάθε μια από τις οποίες αναπαριστά την ένταση της φωτεινότητας των pixels για το κόκκινο (Red εικόνα), το πράσινο (Green εικόνα) και το μπλε (Blue εικόνα) χρώμα. Ένα pixel το οποίο έχει τις τιμές (0.0.0) παρουσιάζει το μαύρο, ένα pixel το οποίο έχει τιμές (1.1.1) παρουσιάζει το λευκό, ενώ το pixel με τιμές (1.0.0) παρουσιάζει το κόκκινο χρώμα. Στην παρακάτω παρουσιάζεται μια σχηματική επεξήγηση των συνιστωσών του pixel για μια RGB εικόνα, ενώ στην αμέσως επόμενη φαίνονται οι πίνακες Red, Green και Blue μιας αποθηκευμένης εικόνας στο Matlab (κανονικοποιημένες τιμές στο διάστημα [0, 1]).[18,37]



Εικόνα 3 : Σχηματική αναπαράσταση συνιστωσών RGB



Εικόνα 415: Οι 3 πίνακες που συνθέτουν μία έγχρωμη εικόνα

4.2. Ιστόγραμμα ψηφιακής εικόνας

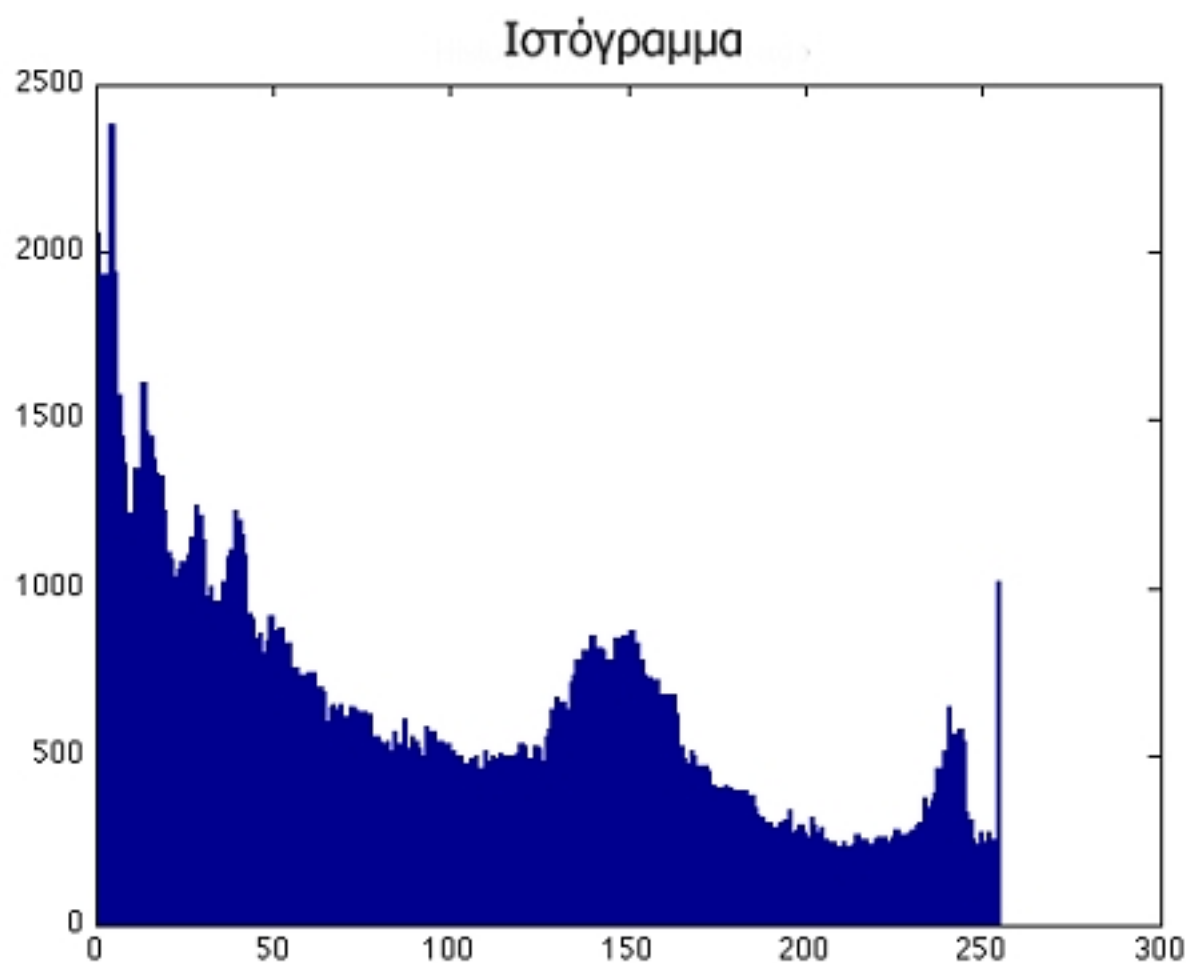
Το ιστόγραμμα μίας εικόνας αποχρώσεων του γκρι (grayscale) μας δείχνει τις μεταβολές της έντασης στην εικόνα και περιέχει σημαντικές πληροφορίες για την

εικόνα και για το λόγο αυτό είναι ένα από τα σημαντικότερα εργαλεία στην επεξεργασία ψηφιακών εικόνων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτιστοποίηση της εικόνας, την τμηματοποίηση της σε επιμέρους περιοχές την τροποποίηση της, την εξαγωγή χαρακτηριστικών κ.ά.

Το ιστόγραμμα μιας ψηφιακής εικόνας είναι ένα γράφημα στο οποίο ο οριζόντιος άξονας αναπαριστά τα επίπεδα φωτεινότητας από 0-255 και ο κατακόρυφος το πλήθος των pixels που έχουν κάθε επίπεδο φωτεινότητας. Είναι ένας τρόπος αναπαράστασης της κατανομής των διαφορετικών επιπέδων του γκρι μιας grayscale εικόνας. Το γράφημα αυτό παρέχει γενικές πληροφορίες για τη μορφή της εικόνας και το περιεχόμενό της, όπως το δυναμικό εύρος και την αντίθεση της εικόνας (σκοτεινή, φωτεινή, υψηλής ή χαμηλής αντίθεσης). Ωστόσο, το ιστόγραμμα δεν δίνει πληροφορίες για τη θέση των pixels μέσα στην εικόνα. Το ιστόγραμμα της εικόνας ορίζεται ως

για $i=0$ μέχρι $(M-1)$

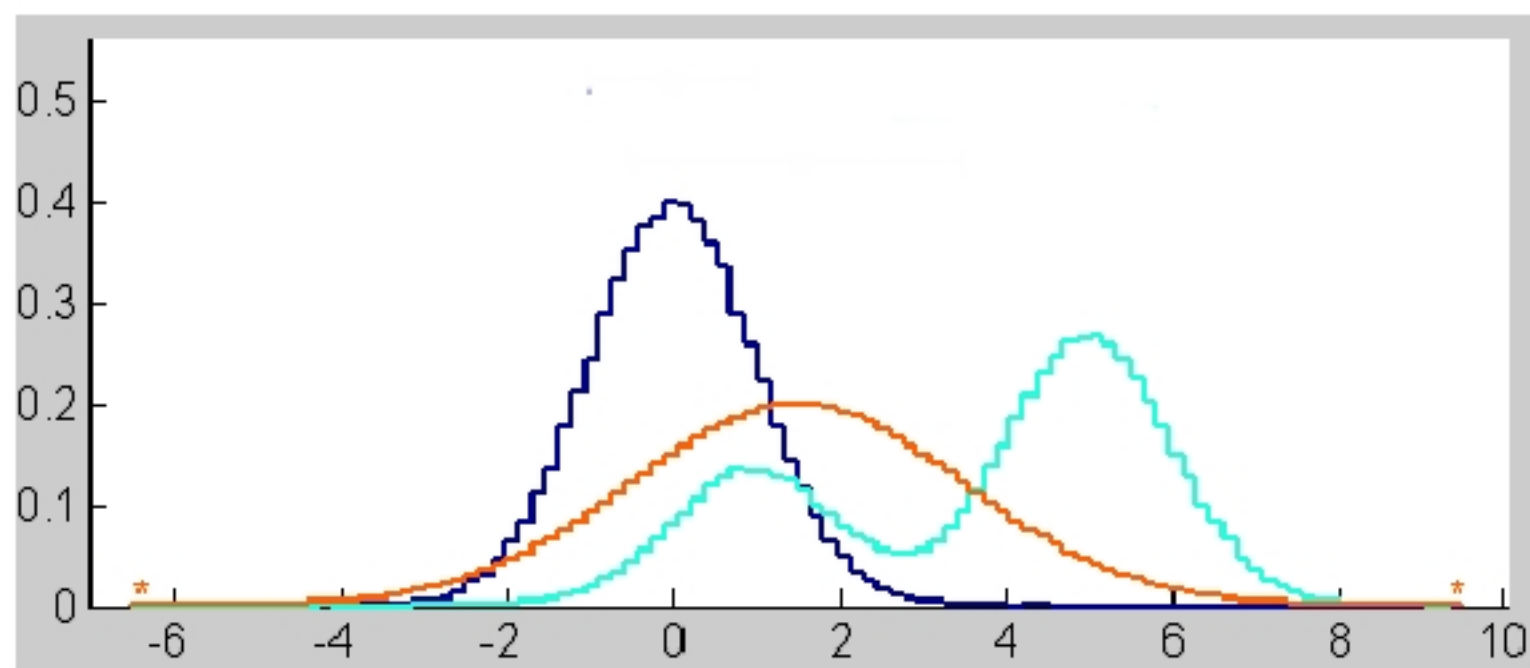
όπου n_i είναι ο αριθμός των εικονοστοιχείων μέσα στο εύρος της εικόνας στην i -στη γκρι-επίπεδου τιμή και n ο ολικός αριθμός των εικονοστοιχείων της εικόνας.



Εικόνα 5: Ιστόγραμμα ψηφιακής εικόνας

Ανάλογα με την εφαρμογή, ο κατακόρυφος άξονας μπορεί να κανονικοποιηθεί με βάση τη μέγιστη τιμή του ιστογράμματος. Στην περίπτωση που η μέγιστη τιμή του ιστογράμματος αντιστοιχηθεί στο 1, τότε το κανονικοποιημένο ιστόγραμμα που προκύπτει δίνει ουσιαστικά την κατανομή πυκνότητας πιθανότητας των επιπέδων του γκρι στην εικόνα.[19]

Για μια εικόνα RGB έχουμε 3 ιστογράμματα, ένα για κάθε χρωματική συνιστώσα. Έτσι, μια έγχρωμη εικόνα περιγράφεται από το ιστόγραμμα R, το ιστόγραμμα G, και το ιστόγραμμα B, κάθε ένα από τα οποία εκφράζει την κατανομή των επιπέδων φωτεινότητας του κόκκινου, του πράσινου και του μπλε χρώματος της εικόνας αντίστοιχα.



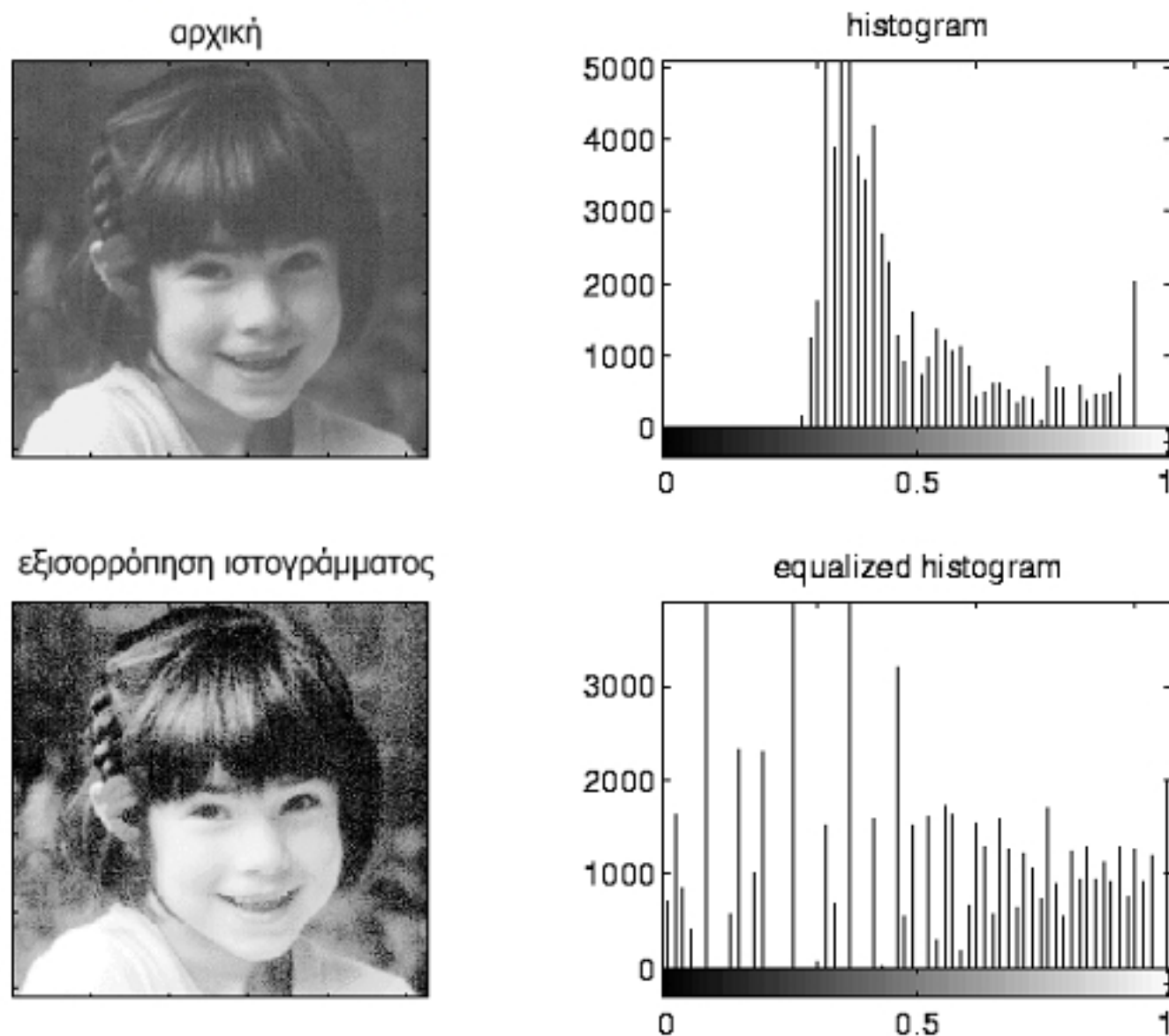
Εικόνα 6: RGB ιστόγραμμα

4.3. Εξισορρόπηση Ιστογράμματος

Η εξισορρόπηση των ιστογράμμων είναι μια μη γραμμική διαδικασία που στοχεύει στο να δώσει έμφαση στη φωτεινότητα της εικόνας με έναν τρόπο που ταιριάζει ιδιαίτερα στην ανθρώπινη οπτική ανάλυση. Η εξισορρόπηση ιστογράμμων στοχεύει να αλλάξει μια εικόνα με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να παραχθεί μια νέα εικόνα με πιο επίπεδο ιστόγραμμα όπου όλα τα επίπεδα να είναι ισοπίθανα. Προκειμένου να αναπτυχθεί ο αλγόριθμος που θα πετυχαίνει την εξισορρόπηση του ιστογράμματος, θα πρέπει πρώτα να εξετάσουμε το ιστόγραμμα. Ο μετασχηματισμός γκρι-επιπέδων για την εξισορρόπηση του ιστογράμματος μιας εικόνας είναι:

$$g_i = \frac{M-1}{n_i} \sum_{j=0}^i n_j$$

όπου n_t είναι ο συνολικός αριθμός των εικονοστοιχείων στην εικόνα, n_i είναι ο αριθμός των εικονοστοιχείων στο i -στο γκρι-επίπεδο, και M είναι ο συνολικός αριθμός των δυνατών γκρι-επιπέδων.[5]



Εικόνα 7: Παράδειγμα εξισορρόπησης Ιστογράμματος

4.4. Μαθηματική Μορφολογία εικόνας

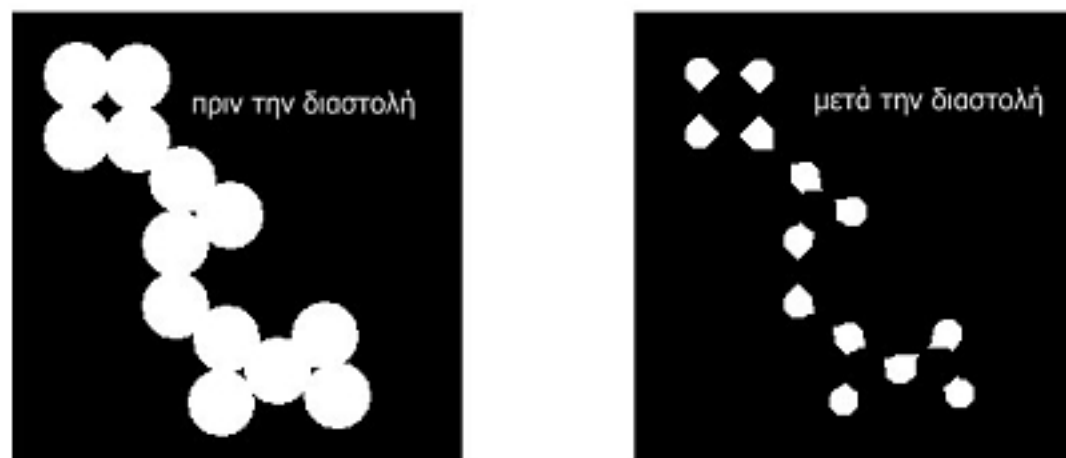
Η Μαθηματική Μορφολογία είναι μια θεωρία και τεχνική για την ανάλυση και επεξεργασία γεωμετρικών δομών, με βάση τις θεωρίες συνόλων, δικτύων, την τοπολογία και επιμέρους μαθηματικές διαδικασίες. Η κυρίως χρησιμοποιείται σε ψηφιακές εικόνες και κατ' επέκταση στην Τηλεπισκόπηση και στην Όραση Υπολογιστών.

Στη μορφολογία, η επεξεργασία της εικόνας βασίζεται σε σχήματα. Είσοδος είναι η εικόνα προς επεξεργασία και έξοδος, μία εικόνα ίδιου μεγέθους. Οι πιο βασικές λειτουργίες της μορφολογίας είναι η διαστολή, η συστολή, το κλείσιμο και το άνοιγμα. Μπορεί να εφαρμοστεί είτε σε δυαδικές εικόνες (binary images), είτε σε grayscale εικόνες. Η τιμή καθενός pixel στην έξοδο προκύπτει από την σύγκριση του αντίστοιχου pixel στην είσοδο με τους γείτονες του.[20]

4.4.1. Διαστολή (Dilation)

Η δυαδική διαστολή αυξάνει την γεωμετρική περιοχή ενός αντικειμένου, θέτοντας την τιμή των εικονοστοιχείων στο υπόβαθρο τα οποία είναι προσκείμενα με το περίγραμμά του, ίση με τη γκρι-επιπέδου τιμή του αντικειμένου. Η διαστολή ορίζεται ως η ένωση όλων των αθροισμάτων των ανυσμάτων από όλα τα εικονοστοιχεία **a** στο αντικείμενο **A** με όλα τα εικονοστοιχεία **b** στη δομική συνάρτηση **B**.

όπου το άνυσμα **t** είναι ένα στοιχείο του (δισδιάστατου ακεραίου) χώρου \mathbf{Z}^2 της εικόνας. [20]

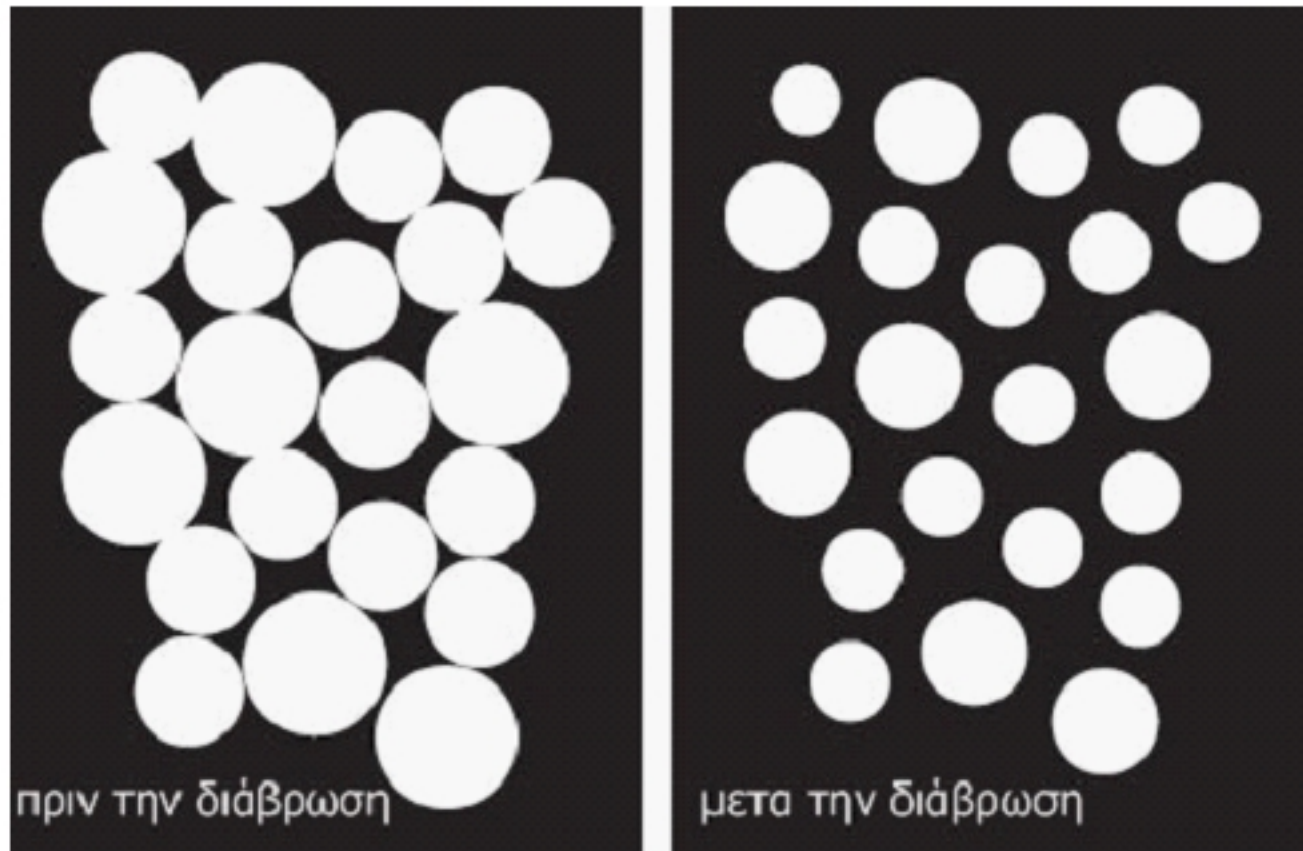


Εικόνα 8: Dilation πριν και μετά (πηγή www.mathworks.com)

4.4.2. Διάβρωση (Erosion)

Η δυαδική διάβρωση ενός αντικειμένου μειώνει τη γεωμετρική περιοχή του θέτοντας την τιμή των εικονοστοιχείων του περιγράμματος ενός αντικειμένου, ίση με την τιμή του υπόβαθρου. Η διάβρωση ορίζεται ως το δυαδικό συμπλήρωμα (complement) της διαστολής που προκύπτει από το δυαδικό συμπλήρωμα του αντικειμένου **A** με τη δομική συνάρτηση **B**.

Χαρακτηριστική περίπτωση διαβρωμένων εικόνων είναι οι παρακάτω εικόνες .

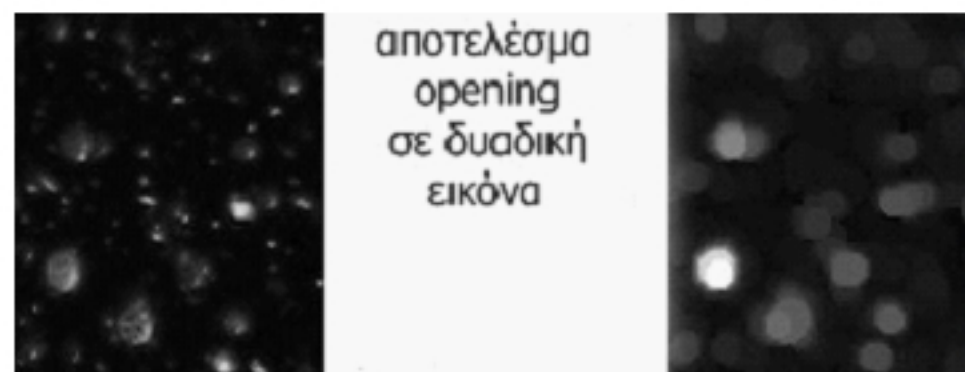


Εικόνα 9: Erosion πριν και μετά (πηγή www.mathworks.com)

4.4.3. Άνοιγμα (Opening)

Το μορφολογικό άνοιγμα μιας εικόνας με βάση ένα δομικό στοιχείο ορίζεται ως μια διαδοχική συστολή και στη συνέχεια μια διαστολή: [20]

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B.$$

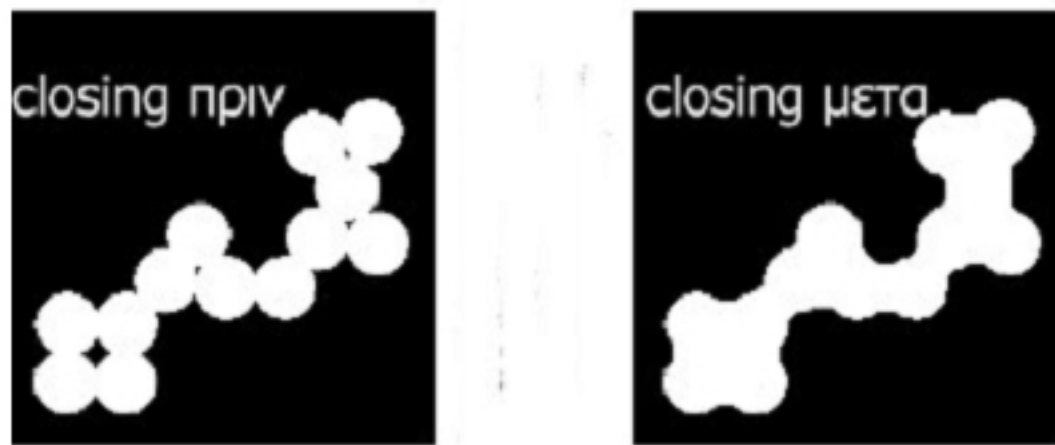


Εικόνα 10: Opening πριν και μετά (πηγή www.mathworks.com)

4.4.4. Κλείσιμο (Closing)

Αντίστοιχα το κλείσιμο εικόνας είναι μια συστολή που ακολουθείται από μια διαστολή: [20]

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B.$$



Εικόνα 11: Closing πριν και μετά (πηγή www.mathworks.com)

4.5. Χωρικά Φίλτρα

Για τη βελτίωση ιατρικών εικόνων χρησιμοποιούνται ευρύτατα τα λεγόμενα χωρικά (γραμμικά ή μη γραμμικά) φίλτρα (spatial filters). Τυπικό γραμμικό φίλτρο για την εξάλειψη προσθετικού θορύβου είναι το φίλτρο μέσης τιμής (ή μέσου όρου), ενώ ένα από τα πιο σημαντικά μη γραμμικά φίλτρα είναι το φίλτρο ενδιάμεσης τιμής. Επιπλέον στην κατηγορία των χωρικών φίλτρων περιλαμβάνονται και τα φίλτρα παραγωγισής (sharpening filters) που έχουν την ιδιότητα να προκαλούν όξυνση των λεπτομερειών της εικόνας.[19]

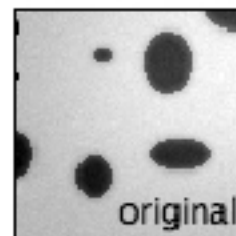
4.5.1. Φίλτρο Μέσης Τιμής (Average Filter)

Η εφαρμογή του φίλτρου μέσου όρου συχνά θολώνει τις ακμές. Συγκεκριμένα, αρχικά υπολογίζεται ο μέσος όρος των τιμών των στοιχείων της εικόνας. Στη συνέχεια, υπολογίζεται ξανά ο μέσος όρος μόνο για τα στοιχεία των οποίων οι τιμές απέχουν το πολύ κατά T (όπου T ένα προκαθορισμένο κατώφλι χρωματικής έντασης) από τον αρχικό μέσο όρο. Ο νέος μέσος όρος που προκύπτει με τον τρόπο αυτόν χρησιμοποιείται ως η νέα τιμή του στοιχείου που αποτελεί το κέντρο του παραθύρου.[18]

Ο ορισμός του φίλτρου αριθμητικού μέσου σε σχέση με μια εικόνα A είναι:

όπου η συντεταγμένη $x+i$, $y+j$ ορίζεται στην εικόνα A και η συντεταγμένη i,j ορίζεται στην μάσκα M . Ο ολικός αριθμός των εικονοστοιχείων που ορίζεται από τη μάσκα και περιλαμβάνεται στη διαδικασία μέσου όρου δίνεται από το N^2 . Συνήθως το N είναι περιττός ακέραιος οπότε η παραπάνω σχέση μπορεί να γραφτεί ως

Για παράδειγμα, διαλέγουμε για 3 x 3 γειτονιά (N=3):



Εικόνα 12 :αρχική εικόνα



Εικόνα 13: εφαρμογή φίλτρου μέσου όρου

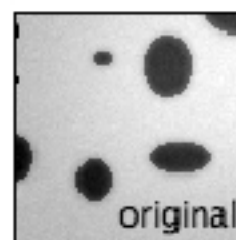
4.5.2. Φίλτρο Ενδιάμεσης Τιμής (Median Filter)

Οι γραμμικές μέθοδοι φιλτραρίσματος δεν μπορούν να εξομαλύνουν το θόρυβο μιας εικόνας χωρίς ταυτόχρονα να θολώσουν τις ακμές και άλλες οξείες λεπτομέρειες, όπως θα ήταν επιθυμητό. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με την εφαρμογή μη γραμμικής επεξεργασίας. Τα μη γραμμικά φίλτρα δρουν σε περιοχές γύρω από το κάθε εικονοστοιχείο και οι νέες τιμές των εικονοστοιχείων της εικόνας προκύπτουν από έναν μη γραμμικό συνδυασμό των αρχικών τιμών. Ένα μη γραμμικό φίλτρο, που χρησιμοποιείται πολύ συχνά για εξομάλυνση εικόνας με αρκετά ικανοποιητικά αποτελέσματα, είναι το φίλτρο *ενδιάμεσης τιμής* (*Median Filter*). Το φίλτρο αυτό είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό σε περιπτώσεις ύπαρξης έντονου υψίσυχνου θορύβου. Συγκεκριμένα, η αρχική τιμή ενός εικονοστοιχείου αντικαθίσταται από την ενδιάμεση τιμή των εικονοστοιχείων ενός παραθύρου με κέντρο το εικονοστοιχείο αυτό. Το πλεονέκτημα του συγκεκριμένου φίλτρου είναι ότι δημιουργεί διακριτές περιοχές ενδιαφέροντος και η μετάβαση από τη μια περιοχή στην άλλη γίνεται απότομα, με αποτέλεσμα η ακμή να μη θολώνεται. Επίσης, τα αποτελέσματα μπορούν να βελτιωθούν σημαντικά με επαναληπτική εφαρμογή του φίλτρου.[18]

Αντίθετα, αν το φίλτρο μέσου όρου χρησιμοποιηθεί επαναληπτικά, η τελική εικόνα που θα προκύψει θα είναι θολή. Το μειονέκτημα του φίλτρου ενδιάμεσης τιμής είναι ότι σε περιπτώσεις υψηλού θορύβου, το φίλτρο ανιχνεύει εσφαλμένα μη υπαρκτές ακμές, που αντιστοιχούν σε θόρυβο, οι οποίες βέβαια μπορούν στη συνέχεια να απομακρυνθούν με χρήση κατωφλίωσης. Ο ορισμός του φίλτρου μεσαίου σε σχέση με μια εικόνα **A** είναι:

$$\text{Median}(A)=\text{Median}[A(x+i,y+j)]$$

όπου η συντεταγμένη **x+i** ,**y+j** ορίζεται στην εικόνα **A** και η συντεταγμένη **i,j** ορίζεται στη μάσκα **M**. Η μάσκα **M** καθορίζει ποια εικονοστοιχεία πρόκειται να συμπεριληφθούν στον ισολογισμό του μεσαίου.



Εικόνα 14: Αρχική εικόνα



Εικόνα 15: Εφαρμογή μεσαίου φίλτρου

4.5.3. Φίλτρα παραγωγίσισης-όξυνσης (Sharpening)

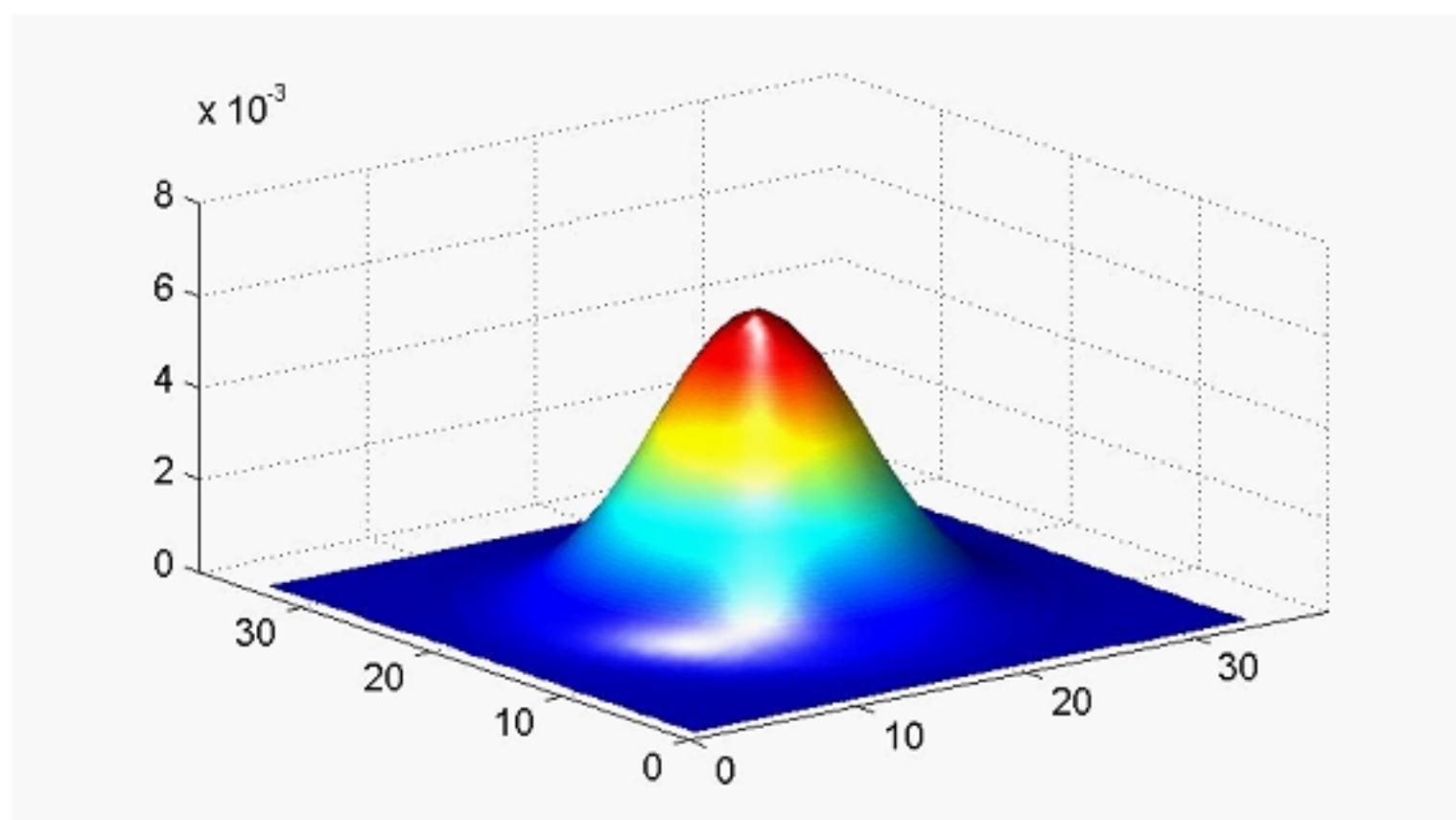
Τα φίλτρα όξυνσης τονίζουν τις ακμές των αντικειμένων μιας εικόνας. Στα περισσότερα από αυτά η τιμή των ψηφίδων στην εικόνα που προκύπτει υπολογίζεται από την αφαίρεση των τιμών των γειτονικών ψηφίδων από την τιμή της τρέχουσας ψηφίδας πολλαπλασιασμένης με έναν κατάλληλο συντελεστή βαρύτητας. Η άθροιση των τιμών των εικονοστοιχείων όπως για παράδειγμα με το φίλτρο μέσης τιμής, οδηγεί σε θόλωση των λεπτομερειών της εικόνας. Αφού η άθροιση είναι ανάλογη με τη διαδικασία της ολοκλήρωσης, η παραγωγή θα έχει αντίθετο αποτέλεσμα, ενισχύοντας τις λεπτομέρειες της εικόνας. Τα φίλτρα παραγωγίσισης έχουν ως στόχο την έμφαση σε λεπτομέρειες της εικόνας ή τη βελτίωση λεπτομερειών που έχουν θολωθεί είτε κατά λάθος ή σαν συνέπεια συγκεκριμένων μεθόδων συλλογής των δεδομένων.[19]



Εικόνα 16: Εικόνα με την εφαρμογή Sharpen φίλτρου

4.5.4. Φίλτρο Κανονικής Κατανομής (Gauss filter)

Όσον αφορά το φίλτρο Gauss, πρόκειται για ένα δυσδιάστατο φίλτρο συνέλιξης ο οποίος χρησιμοποιείται για να 'θολώσει' τις εικόνες και να απομακρύνει τη λεπτομέρεια και το θόρυβο. Από αυτή την άποψη, θα μπορούσε να θεωρηθεί παρόμοιο με το φίλτρο μέσης τιμής αλλά χρησιμοποιεί ένα διαφορετικό πίνακα ο οποίος έχει τη μορφή ενός Γκαουσιανού εξογκώματος (σχήμα, καμπάνας).



Εικόνα 17: Η "καμπάνα" του Gauss

Το φίλτρο Γκαουσιανού θολώματος προσθέτει λεπτομέρειες χαμηλών συχνοτήτων και ενδέχεται να δημιουργήσει ένα 'εφέ' ασάφειας.
Η Γκαουσιανή συνάρτηση για μία διάσταση είναι:

όπου σ είναι το πλάτος της Γκαουσιανής συνάρτησης. Για την επεξεργασία εικόνων, η δισδιάστατη συνάρτηση Gauss με μηδενικό μέσο είναι,

Δηλαδή το μεγαλύτερο βάρος έγκειται στο κέντρο και υπάρχει ομαλή εξασθένηση όσο απομακρυνόμαστε από το κέντρο. Συνήθως οι υψηλές συχνότητες στο φάσμα μιας εικόνας συνεισφέρουν στο διαχωρισμό των αντικειμένων δηλαδή στις λεπτομέρειες ενώ οι χαμηλές αντιπροσωπεύουν μεγάλες περιοχές αντικειμένων. Εφαρμόζοντας το χαμηλοπερατό φίλτρο οι υψηλές συχνότητες χάνονται και ο διαχωρισμός των αντικειμένων, οι ακμές, γίνονται περισσότερο δυσδιάκριτες. Με την εφαρμογή του χαμηλοπερατού φίλτρου οι περιοχές της εικόνας που διαχωρίζουν τα αντικείμενα, δηλαδή οι ακμές της θα έρθουν σε πιο κοντινές τιμές μετά την εφαρμογή του φίλτρου, το οποίο τείνει να εξαλείψει τις σημαντικές διαφορές μεταξύ γειτονικών pixels. Έτσι οι ακμές των αντικειμένων γίνονται δυσδιάκριτες και θολές.

Τα Γκαουσιανά φίλτρα έχουν πέντε ιδιότητες που τα κάνουν ιδιαίτερα χρήσιμα στα πρώτα στάδια της επεξεργασίας εικόνων. Αυτές οι ιδιότητες δείχνουν ότι τα φίλτρα αυτά είναι αποτελεσματικά χαμηλοπερατά φίλτρα απ' την πλευρά και της χωρικής πληροφορίας και του πεδίου των συχνοτήτων. Επειδή είναι αποτελεσματικά στην υλοποίηση χρησιμοποιούνται κατά κόρον από αναλυτές σε πρακτικές εφαρμογές οπτικής ανάλυσης με πολύ καλά αποτελέσματα. Οι πέντε αυτές ιδιότητες είναι:

1. Στις δύο διαστάσεις, τα γκαουσιανά φίλτρα είναι περιστροφικά συμμετρικά. Αυτό σημαίνει ότι το ποσό της ομαλοποίησης που πραγματοποιείται από το φίλτρο θα είναι το ίδιο σε όλες τις κατευθύνσεις. Έτσι δεν χρειάζεται να επαναλάβουμε τη διαδικασία και σε άλλη κατεύθυνση πέραν της αρχικής, και ακόμα δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της ανίχνευσης ακμών προς μια συγκεκριμένη κατεύθυνση.
2. Η συνάρτηση Gauss έχει μια κορυφή. Αυτό σημαίνει ότι τα φίλτρα αυτά ομαλοποιούν, αντικαθιστώντας κάθε pixel της εικόνας με ζυγισμένο μέσο όρο

των γειτονικών pixels τέτοιο, που το βάρος που δίνεται σε μια γειτονιά αυξάνεται μονοτονικά, συναρτήσει της απόστασης από το κεντρικό pixel. Αυτή η ιδιότητα είναι απαραίτητη αφού μια ακμή είναι ένα τοπικό μέγιστο σε μια εικόνα, και μια διαδικασία ομαλοποίησης που δίνει πιο πολύ σημασία στα απομακρυσμένα pixels θα διαστρέψει το αποτέλεσμα.

3. Ο μετασχηματισμός Fourier της συνάρτησης Gauss έχει μια κορυφή στο φάσμα συχνοτήτων. Αυτή η ιδιότητα είναι αποτέλεσμα του ότι ο μετασχηματισμός Fourier μιας γκαουσιανής συνάρτησης είναι η ίδια μια Γκαουσιανή συνάρτηση. Η μια κορυφή στον μετασχηματισμό Fourier μιας συνάρτησης Gauss σημαίνει ότι η ομαλοποιημένη εικόνα δεν θα διαστρεβλωθεί από μη επιθυμητά σήματα υψηλών συχνοτήτων, ενώ τα περισσότερα από τα επιθυμητά σήματα θα διατηρηθούν.
4. Το εύρος, με αποτέλεσμα και το βαθμό της ομαλοποίησης, ενός γκαουσιανού φίλτρου παραμετροποιείται από το σ , και η σχέση μεταξύ σ και βαθμού ομαλοποίησης είναι πολύ απλή. Ένα μεγαλύτερο σ συνεπάγεται ένα διευρυμένο γκαουσιανό φίλτρο και περισσότερη ομαλοποίηση. Οι αναλυτές μπορούν να προσαρμόσουν το βαθμό της ομαλοποίησης για να επιτύχουν ένα συμβιβασμό ανάμεσα σε υπερβολικό θόλωμα των στοιχείων της επιθυμητής εικόνας(πολύ θόλωμα) και υπερβολική ανεπιθύμητη ποικιλία στην ομαλοποιημένη εικόνα εξαιτίας θορύβου και λεπτής υφής(λίγο θόλωμα).
5. Μεγάλα Γκαουσιανά φίλτρα μπορούν να υλοποιηθούν πολύ ικανοποιητικά γιατί οι Γκαουσιανές συναρτήσεις είναι διασπασίμες. Δισδιάστατη Γκαουσιανή συνέλιξη μπορεί να πραγματοποιηθεί περνώντας την εικόνα από ένα μονοδιάστατο Γκαουσιανό φίλτρο και στη συνέχεια περνώντας το αποτέλεσμα από ένα παρόμοιο μονοδιάστατο φίλτρο προσανατολισμένο ορθογώνια, σε σχέση με το φίλτρο που χρησιμοποιήθηκε στο πρώτο στάδιο. Έτσι το ποσό των υπολογισμών που χρειάζεται ένα δισδιάστατο Γκαουσιανό φίλτρο αυξάνεται γραμμικά σε σχέση με το πλάτος της μάσκας αντί να αυξάνεται τετραγωνικά. [20]

Εικόνα 18: Εφαρμογή Gauss με 3 διαφορετικά πρότυπα

4.6. Τεχνικές επεξεργασίας ψηφιακών εικόνων

Οι τεχνικές επεξεργασίας ψηφιακών εικόνων αποσκοπούν στην επεξεργασία μιας εικόνας (ή ενός πλήθους εικόνων, π.χ. βίντεο) με χρήση αλγορίθμων ή μετασχηματισμών για την επίτευξη στόχων όπως:

- Βελτίωση της ποιότητας της εικόνας (αύξηση αντίθεσης, αποθορυβοποίηση κ.ά.)
- Ανίχνευση διαφόρων χαρακτηριστικών της (ανίχνευση ακμών, κ.ά.)
- Τμηματοποίηση της εικόνας - Εξαγωγή και διαχωρισμός των αντικειμένων που υπάρχουν σε αυτή
- Συμπύεση της εικόνας
- Μετασχηματισμός της γεωμετρίας της εικόνας ή των αντικειμένων της (περιστροφή, κ.ά.)
- Μετασχηματισμός σε άλλα πεδία. π.χ. στο πεδίο των συχνοτήτων, για αποκάλυψη πληροφορίας που δεν είναι εμφανής στο αρχικό πεδίο

Οι τεχνικές αυτές έχουν ως είσοδο μια εικόνα (εικόνα εισόδου - αρχική εικόνα) και μέσω ενός μετασχηματισμού ή αλγορίθμου παράγουν μια άλλη εικόνα (εικόνα εξόδου). Κατά την ψηφιακή επεξεργασία μιας εικόνας, στόχος μας είναι να δημιουργήσουμε μια εικόνα εξόδου που θα είναι πιο κατάλληλη από την αρχική για μια συγκεκριμένη εφαρμογή. Η ψηφιακή επεξεργασία μιας ιατρικής εικόνας εξυπηρετεί στην ανάδειξη πληροφορίας η οποία είναι κλινικά χρήσιμη και ίσως αθέατη διά γυμνού οφθαλμού.

Ανάλογα με την εφαρμογή, η εικόνα εξόδου μπορεί να είναι ίδιων διαστάσεων με την αρχική (π.χ. σε εφαρμογές βελτίωσης της ποιότητας, ανίχνευσης ακμών κ.λπ.) ή διαφορετικών (π.χ. αλλαγή μεγέθους της εικόνας, εξαγωγή μιας περιοχής κ.λπ.). Οι

βασικότερες τεχνικές επεξεργασίας μιας ψηφιακής εικόνας μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες:

- Τεχνικές επεξεργασίας στο πεδίο του χώρου (spatial domain)
- Τεχνικές επεξεργασίας στο πεδίο της συχνότητας (frequency domain)

Η επεξεργασία στο χώρο της συχνότητας συνίσταται στην ανάλυση και την επεξεργασία του φασματικού περιεχομένου μιας εικόνας και στοχεύει στην ανάλυση και τη βελτίωσή της λαμβάνοντας υπόψη την κατανομή των συχνοτήτων της. Στις ψηφιακές εικόνες, οι συχνότητες αντιπροσωπεύουν την ταχύτητα και την κατεύθυνση μεταβολής της φωτεινότητας ή του χρώματος. Οι τεχνικές επεξεργασίας στο πεδίο του χώρου αφορούν τεχνικές που εφαρμόζονται απευθείας πάνω στα pixel μιας εικόνας. Οι τεχνικές αυτές μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

- Σημειακή επεξεργασία (Point Processing): Η τιμή κάθε pixel στην εικόνα εξόδου (pixel εξόδου) υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την τιμή του pixel στην αντίστοιχη θέση της εικόνας εισόδου (pixel εισόδου). Δηλαδή, κάθε pixel εξόδου εξαρτάται από την τιμή φωτεινότητας του αντίστοιχου pixel εισόδου και του εκάστοτε μετασχηματισμού που εφαρμόζεται.
- Τοπική επεξεργασία (Local Processing): Η τιμή κάθε pixel στην εικόνα εξόδου υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την τιμή του pixel στην αντίστοιχη θέση της εικόνας εισόδου, καθώς επίσης και τις τιμές των γειτονικών pixels. Επομένως, στις τεχνικές αυτές, η τιμή ενός pixel εξόδου δεν εξαρτάται μόνο από την τιμή του αντίστοιχου pixel εισόδου και του εφαρμοζόμενου μετασχηματισμού αλλά και από τις τιμές των γειτονικών pixels γύρω από το pixel εισόδου. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τεχνικών τοπικής επεξεργασίας αποτελούν τα χωρικά φίλτρα τα οποία θα παρουσιαστούν στη συνέχεια. Τέτοια φίλτρα χρησιμοποιούνται για διάφορες εφαρμογές, όπως εξάλειψη του θορύβου, ανίχνευση ακμών κ. α.
- Καθολική επεξεργασία (Global Processing): Για να υπολογιστεί η τιμή ενός pixel της εικόνας εξόδου χρησιμοποιούνται όλα τα pixels της εικόνας εισόδου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα καθολικής επεξεργασίας αποτελεί η διαδικασία ολικής εξισορρόπησης ιστογράμματος (global histogram equalization). Η τεχνική αυτή μετασχηματίζει τα επίπεδα φωτεινότητας μιας εικόνας έτσι ώστε αυτά να κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλη την κλίμακα φωτεινότητας (δηλαδή το ιστογράμμο της αρχικής εικόνας να μετατραπεί σε ομοιόμορφο). Επομένως η τιμή φωτεινότητας κάθε pixel εξόδου εξαρτάται τόσο από την τιμή που έχει το αντίστοιχο pixel εισόδου όσο και από τις τιμές φωτεινότητας όλων των

υπολοίπων pixels της εικόνας εισόδου. Η εικόνα εξόδου που προκύπτει από την διαδικασία εξισορρόπησης ιστογράμματος είναι αυξημένης αντίθεσης σε σχέση με την αρχική.

- Γεωμετρικοί μετασχηματισμοί: Στην πιο απλή περίπτωση, τα pixels της εικόνας εξόδου υπολογίζονται από το μετασχηματισμό των συντεταγμένων των pixels της εικόνας εισόδου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περιστροφή μιας εικόνας κατά 90°. [20]

4.7. Ανάλυση κύριων συνιστωσών

Η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) είναι μία από τις στατιστικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται συχνά στην επεξεργασία σήματος με τη μείωση της διάστασης των δεδομένων ή για την συσχέτιση των δεδομένων. Ανήκει στους γραμμικούς μετασχηματισμούς με βάση τις στατιστικές τεχνικές. Αυτή η μέθοδος παρέχει ένα ισχυρό εργαλείο για την ανάλυση δεδομένων και την αναγνώριση προτύπων που χρησιμοποιείται συχνά στην επεξεργασία σήματος και εικόνας [17] ως μια τεχνική για την συμπίεση δεδομένων, τη μείωση της διάστασης των δεδομένων ή επίσης για την συσχέτιση. Υπάρχουν διάφοροι αλγόριθμοι που βασίζονται σε πολυπαραγοντική ανάλυση ή σε νευρωνικά δίκτυα που μπορεί να εκτελέσει PCA για ένα δεδομένο σύνολο δεδομένων. Το παρών έγγραφο συστήνει την PCA ως πιθανό εργαλείο για την ενίσχυση και ανάλυση της εικόνα.

4.7.1. Η Θεωρία της PCA

Μπορούμε να περιγράψουμε την ανάλυση κύριων συνιστωσών στην επεξεργασία σήματος ως ένα μετασχηματισμό ενός δεδομένου σετ από n διανύσματα εισόδου (μεταβλητές) με τον ίδιο μήκος K που διαμορφώνεται σε n -διάστασεων διάνυσμα $x=[x_1, x_2, \dots, x_n]^T$ σε ένα διάνυσμα y , σύμφωνα με

$$Y = A(x - m_x) \quad (1)$$

Αυτή η άποψη δίνει τη δυνατότητα να σχηματιστεί ένας απλός τύπος(1), αλλά είναι απαραίτητο να λάβουμε υπόψη ότι κάθε γραμμή του διανύσματος x αποτελείται από K τιμές που ανήκουν σε μία είσοδο. Το διάνυσμα m_x στην εξίσωση (1) είναι το διάνυσμα των μέσων τιμών όλων των μεταβλητών εισόδου που καθορίζονται από τη σχέση

$$m_x = E\{x\} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K x_k \quad (2)$$

Ο πίνακας A στην εξίσωση (1) καθορίζεται από τον πίνακα συνδιακύμανσης C_x . Οι γραμμές στον πίνακα A σχηματίζονται από τα ιδιοδιανύσματα e του C_x ταξινομημένα σύμφωνα με τις αντίστοιχες ιδιοτιμές σε φθίνουσα σειρά. Η αξιολόγηση του πίνακα C_x είναι δυνατή σύμφωνα με τη σχέση

$$C_x = E\{(x - m_x)(x - m_x)^T\} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K x_k x_k^T - m_x m_x^T \quad (3)$$

Αν x είναι το διάνυσμα των μεταβλητών εισόδου n -διαστάσεων, είναι προφανές ότι το μέγεθος του C_x είναι $n \times n$. Τα στοιχεία $C_x(i, i)$ που βρίσκονται στην κύρια διαγώνιο του, είναι οι διακυμάνσεις

$$C_x(i, i) = E\{(x_i - m_i)^2\} \quad (4)$$

των x και οι άλλες τιμές $C_x(i, j)$ καθορίζουν τη συνδιακύμανση μεταξύ των μεταβλητών εισόδου x_i, x_j .

$$C_x(i, j) = E\{(x_i - m_i)(x_j - m_j)\} \quad (5)$$

μεταξύ των μεταβλητών εισόδου x_i, x_j . Οι σειρές της A στην εξίσωση (1) είναι ορθοκανονική έτσι ώστε η αναστροφή των PCA να είναι δυνατή σύμφωνα με τη σχέση

$$x = A^T y + m_x \quad (6)$$

Ο πυρήνας της PCA που ορίζεται από την εξίσωση (1) έχει μερικές άλλες ενδιαφέρουσες ιδιότητες που απορρέουν από την θεωρία των πινάκων που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην επεξεργασία σήματος και εικόνας για την εκπλήρωση διαφόρων στόχων όπως αναφέρονται παρακάτω[21].

4.7.2. Η χρήση της PCA για συμπίεση εικόνας

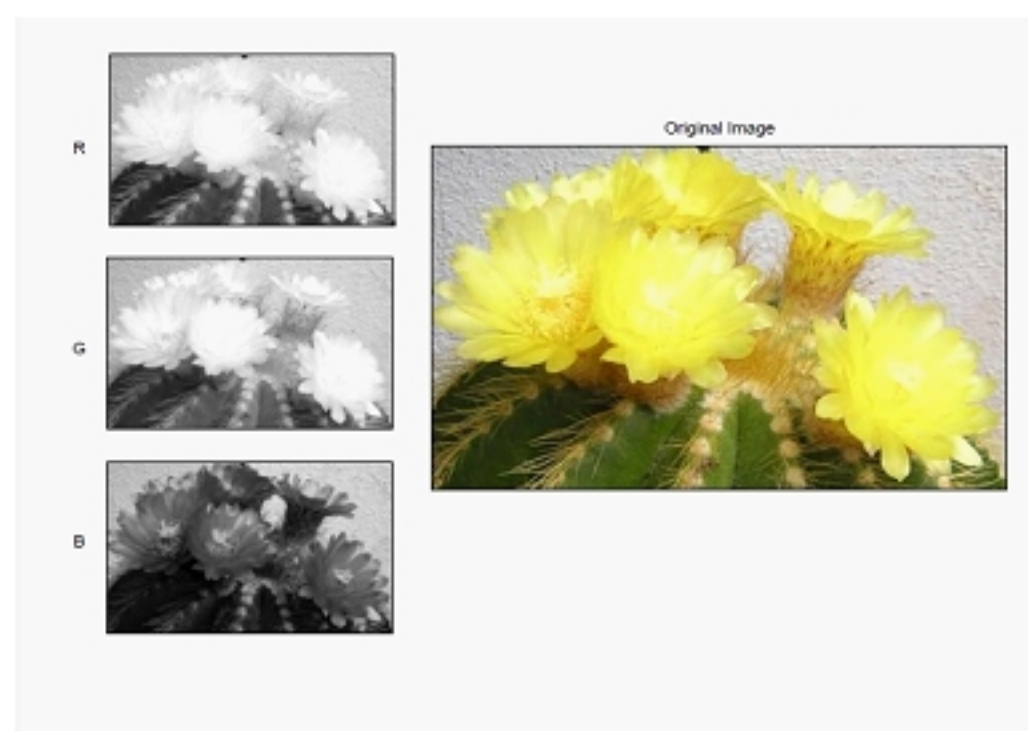
Η μείωση του όγκου των δεδομένων είναι μια συνηθισμένη εργασία στην επεξεργασία της εικόνας. Οι αλγόριθμοι που βασίζονται στη μείωση της έγχρωμης εικόνας είναι ως επί το πλείστον με απώλειες, αλλά τα αποτελέσματά τους εξακολουθούν να είναι αποδεκτά για ορισμένες εφαρμογές. Η μετάβαση της εικόνας από έγχρωμη σε γκριζα εικόνα ανήκει στους πιο συνηθισμένους αλγόριθμους. Η εφαρμογή του βασίζεται συνήθως στο σταθμισμένο άθροισμα των τριών στοιχείων του χρώματος R

$$I = w_1 R + w_2 G + w_3 B \quad (7)$$

Οι πίνακες R, G και B περιέχουν τα στοιχεία της έγχρωμης εικόνας, τα βάρη w_i προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις δυνατότητες της ανθρώπινης αντίληψης [2]. Η μέθοδος PCA παρέχει έναν εναλλακτικό τρόπο για τη μέθοδο αυτή. Η ιδέα αυτή βασίζεται στην εξίσωση (6) όπου ο πίνακας A αντικαθίσταται από τον πίνακα A1 στην οποία μόνο η l μεγαλύτερη (αντί του n) ιδιοτιμή χρησιμοποιείται για τον σχηματισμό. Το διάνυσμα x των ανακατασκευασμένων μεταβλητών στη συνέχεια δίδεται από την σχέση.

$$x = A_k^T y + m_x \quad (8)$$

Οι έγχρωμες εικόνες με μέγεθος MxN συνήθως αποθηκεύονται στον τρισδιάστατο πίνακα P με μέγεθος M x N x 3, το οποίο σημαίνει ότι οι πληροφορίες για την ένταση των στοιχείων του χρώματος αποθηκεύονται στα 3 συγκεκριμένα επίπεδα. Το διάνυσμα των μεταβλητών εισόδου x στην εξίσωση (1) μπορεί να σχηματιστεί ως διάνυσμα n = 3-διαστάσεων για κάθε χρώμα. Σχηματίζοντας τρία διανύσματα x_1, x_2, x_3 1-διάστασης από κάθε επίπεδο P (M, N, i) με το μήκος του MN μπορεί να είναι επωφελής για την καλύτερη κατανόηση και τον προγραμματισμό. Ο πίνακας συνδιακύμανσης Cx και ο αντίστοιχος πίνακας A στη συνέχεια αξιολογούνται και το 3-διάστατο ανακατασκευασμένο διάνυσμα x σύμφωνα με την εξίσωση (8) μπορεί να χαρακτηριστεί ως η πρώτη, η δεύτερη και η τρίτη συνιστώσα της δεδομένης εικόνας. Από την θεωρία των πινάκων συνεπάγεται ότι η εικόνα που λαμβάνεται από την ανακατασκευή του πίνακα A1 (μόνο η πρώτη-μεγαλύτερη ιδιοτιμή χρησιμοποιήθηκε για τον ορισμό της) περιλαμβάνει την πλειονότητα των πληροφοριών, ώστε η εικόνα αυτή θα πρέπει να έχει τη μέγιστη αντίθεση. [21]



Εικόνα 19: Παράδειγμα-αρχική εικόνα και οι 3 συνιστώσες RGB.

Ο κώδικας PCA για την μείωση χρωμάτων από έγχρωμη σε γκριζα στο Matlab


```
% PCA
```

```
A=double(foto);
```

```
X=im2col(A(:,:,1),[size(A,1),size(A,2)]);
```

```
Y=im2col(A(:,:,2),[size(A,1),size(A,2)]);
```

```
Z=im2col(A(:,:,3),[size(A,1),size(A,2)]);
```

```
I=cat(2,X,Y,Z);
```

```
[coefs,scores,variances,t2] = princomp(I);
```

```
s=1*scores(:,1);
```

```
m=min(s);
```

```
ma=max(s);
```

```
t=255*(s-min(s))/(max(s)-min(s));
```

```
t=uint8(t);
```

```
PCA_im=col2im(t,[size(A,1),size(A,2)],[size(A,1),size(A,2)],'distinct');
```

```
%%%%%%%%%
```

4.8. Watershed αλγόριθμος

Ο μετασχηματισμός Watershed είναι ένα μορφολογικό εργαλείο τμηματοποίησης εικόνας και ανήκει στην κατηγορία μεθόδων τμηματοποίησης βασισμένων σε περιοχές, δηλαδή στην εύρεση και ενοποίηση παρόμοιων εικονοστοιχείων και περιοχών βάση κάποιου χαρακτηριστικού. Οι Beucher και Lantuejoul είναι οι πρώτοι που εφάρμοσαν το μετασχηματισμό Watershed για τμηματοποίηση εικόνων.[9]

Ο μετασχηματισμός watershed εντοπίζει τα περιγράμματα των αντικειμένων που είναι πιο ανυψωμένα στην εικόνα (στο foreground) και τα παρουσιάζει σαν μια επιφάνεια όπου τα φωτεινά pixels έχουν υψηλές τιμές και τα σκοτεινά pixels χαμηλές. Η κατάτμηση μιας εικόνας χρησιμοποιώντας τον μετασχηματισμό watershed δουλεύει καλύτερα εάν αναγνωρίσουμε τα μπροστινά αντικείμενα και τις περιοχές που δηλώνουν το background σε μια εικόνα.

Μια εικόνα μπορεί να θεωρηθεί σαν μια ανάγλυφη τοπογραφική επιφάνεια. Όσο μεγαλύτερη η φωτεινότητα ενός εικονοστοιχείου τόσο μεγαλύτερο και το ύψος του συγκεκριμένου εικονοστοιχείου στην τοπογραφική επιφάνεια S . Αν υποθέσει κανείς ότι μια σταγόνα νερού πέφτει σε ένα σημείο p της επιφάνειας S τότε αυτή ρέει προς τα κάτω κατά μήκος ενός μονοπατιού της πλάγιάς μέχρι το σημείο όπου θα εγκλωβιστεί σε ένα τοπικό ελάχιστο M (*minimum*) του ανάγλυφου. Το σύνολο $C(M)$ των εικονοστοιχείων που όταν μια σταγόνα πέσει πάνω σε αυτά και καταλήξει στο ίδιο ελάχιστο M αποτελούν μια κοιλάδα απορροής νερού (*catchment basin*) του τοπικού ελαχίστου M . Το σύνολο των ορίων όλων των διαφορετικών κοιλάδων της εικόνας αποτελεί το Watershed αυτής. Με άλλα λόγια οι γραμμές του Watershed βρίσκονται στις κορυφογραμμές της εικόνας, οι οποίες στην ουσία χωρίζουν δύο τοπικά ελάχιστα (οι γραμμές του Watershed είναι πάντα κλειστές).

Η διαδικασία με την οποία γίνεται η εύρεση των γραμμών του Watershed μπορεί να παρομοιαστεί με ένα πλημμύρισμα της εικόνας. Η ανάγλυφη εικόνα, στην οποία έχουμε δημιουργήσει τρύπες στα σημεία που είναι τοπικά ελάχιστα, βυθίζεται με σταθερό ρυθμό σε μια λεκάνη με νερό. Το νερό μπαίνει μέσα στην ανάγλυφη εικόνα από τις τρύπες και πλημμυρίζει τις κοιλάδες. Κατά τη διάρκεια του βυθίσματος, δύο οι περισσότερες πλημμύρες που προέρχονται από δύο οι και περισσότερα διαφορετικά τοπικά ελάχιστα μπορεί να ενωθούν. Για να αποτραπεί η συνένωση αυτή χίζεται ένα υδάτινο φράγμα στα σημεία όπου οι δύο πλημμύρες θα ενωνόταν. Στο τέλος της διαδικασίας, δηλαδή όταν θα έχει βυθιστεί όλη η εικόνα μέσα στο νερό, το μόνο που θα εξέχει από το νερό θα είναι τα φράγματα. Τα φράγματα αυτά είναι που τελικά ορίζουν τα Watershed και διαχωρίζουν τις κοιλάδες που κάθε μία περιέχει μόνο ένα τοπικό ελάχιστο.

Ο μετασχηματισμός watershed ακολουθεί τα παρακάτω βασικά βήματα:

1. Υπολογίζει μια συνάρτηση κατάτμησης. Είναι μια εικόνα όπου οι σκοτεινές περιοχές είναι τα αντικείμενα που προσπαθούμε να αναγνωρίσουμε.
2. Υπολογισμός σημείων στο foreground: Είναι συνδεδεμένα pixel που ανήκουν στο εσωτερικό των αντικειμένων.
3. Υπολογισμός σημείων στο background: Είναι συνδεδεμένα pixel που δεν είναι κομμάτι κανενός αντικειμένου.
4. Μετατρέπουμε την συνάρτηση κατάτμησης έτσι ώστε να έχουμε τα ελάχιστα σημεία των pixel που ανήκουν στο background και στο foreground.
5. Εφαρμόζουμε τον μετασχηματισμό watershed στην συνάρτηση κατάτμησης που δημιουργήσαμε.[10]

4.9. Μετασχηματισμός απόστασης

Όταν σε μια δυαδική εικόνα εφαρμοστεί ο μετασχηματισμός απόστασης, προκύπτει μια γκριζα εικόνα όπου κάθε pixel είναι ενδεικτικό της απόστασης του αντίστοιχου σημείου της δυαδικής εικόνας από το κοντινότερο σημείο του φόντου. Αυτό σημαίνει ότι όσο πιο μακριά είναι ένα pixel της δυαδικής εικόνας από το φόντο, τόσο πιο φωτεινό είναι το αντίστοιχο pixel της εικόνας του μετασχηματισμού απόστασης, δηλαδή τόσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της φωτεινότητας του. Ο μετασχηματισμός απόστασης βρίσκει εφαρμογή σε πολλά προβλήματα στην επεξεργασία εικόνας, όπως την περιγραφή του σχήματος, την αναγνώριση αντικειμένων, αλλά και την κατάτμηση εικόνων[19].

Στην κατάτμηση εικόνων, αξιοποιείται το γεγονός ότι κάθε pixel στην εικόνα του μετασχηματισμού απόστασης είναι ενδεικτικό της απόστασης του αντίστοιχου pixel της αρχικής εικόνας από το φόντο. Αν λοιπόν υπολογιστεί η συμπληρωματική εικόνα της εικόνας του μετασχηματισμού απόστασης, θα προκύψει μία εικόνα που θα έχει πολύ μικρή ένταση φωτεινότητας στις περιοχές των κυττάρων που είναι πιο μακριά από το φόντο (οι περιοχές αυτές θα είναι πολύ σκούρες), ενώ όσο τα pixel πλησιάζουν στο φόντο θα έχουν μεγαλύτερη ένταση της φωτεινότητας και οι περιοχές που αντιστοιχούν στο φόντο θα έχουν τη μέγιστη ένταση φωτεινότητας (θα είναι χρώματος λευκού). Αν λοιπόν εφαρμοστεί ο αλγόριθμος watershed στην ανάστροφη της εικόνας του μετασχηματισμού απόστασης, ο 'πλημμυρισμός' θα ξεκινήσει από τις περιοχές ελαχίστου (δηλαδή τις περιοχές που βρίσκονται πιο μακριά από το φόντο) και θα 'χτίσει' τα όρια στις περιοχές που βρίσκονται τα όρια των κυττάρων[19].

5. ΚΑΤΑΤΜΗΣΗ ΕΙΚΟΝΑΣ

Η κατάτμηση εικόνας (image segmentation) αποτελεί μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές στο χώρο της επεξεργασίας εικόνας. Ο κύριος στόχος της είναι ο διαχωρισμός της εικόνας σε τμήματα, τα οποία έχουν ισχυρό βαθμό συσχέτισης με αντικείμενα του πραγματικού κόσμου τα οποία περιέχονται στην εικόνα. Επιδίωξη μας μπορεί να είναι μια πλήρης κατάτμηση της εικόνας (complete segmentation), με την οποία επιπυγχάνουμε τη δημιουργία ενός συνόλου ανεξάρτητων(χωρίς κοινά σημεία) περιοχών της εικόνας, οι οποίες αντιστοιχούν μοναδικά σε αντικείμενα της εικόνας, ή μια μερική κατάτμηση (partial segmentation) κατά την οποία οι περιοχές της εικόνας που εξάγονται δεν αντιστοιχούν σε αντικείμενα της εικόνας. Για την πλήρη κατάτμηση της εικόνας απαιτούνται διαδικασίες υψηλού επιπέδου οι οποίες χρησιμοποιούν συγκεκριμένη γνώση η οποία εξάγεται από το πεδίο του προβλήματος[19]. Αντίθετα αν απαιτείται μερική κατάτμηση η εικόνα χωρίζεται σε ξεχωριστές περιοχές οι οποίες είναι ομοιογενείς με βάση κάποια επιλεγμένη ιδιότητα όπως μπορεί να είναι η φωτεινότητα, χρώμα, υφή κ.α. Μέχρι τώρα έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές που σχετίζονται με το στάδιο της τμηματοποίησης. Παρόλο αυτά ,δεν υπάρχει μια καθολική μέθοδος και σταθερές προδιαγραφές ώστε να καθορίζουν την ποιότητα και αποτελεσματικότητα των τεχνικών. Ανάλογα με την εφαρμογή, πρέπει να επιλέγεται και η κατάλληλη τεχνική τμηματοποίηση. Ο Haralick και ο Shapiro πρότειναν ότι για να είναι καλή μια μέθοδος τμηματοποίησης πρέπει:[22]

- Οι περιοχές που διαχωρίζει να είναι ομοιόμορφες και ομογενείς σε σχέση με κάποιο χαρακτηριστικό, όπως για παράδειγμα τα επίπεδα του γκρι.
- Το εσωτερικό των περιοχών πρέπει να είναι απλό, χωρίς για παράδειγμα πολλές μικρές οπές.
- Γειτονικές περιοχές πρέπει να έχουν σαφώς διαφορετικές τιμές για το χαρακτηριστικό με το οποίο έγινε ο διαχωρισμός.
- Τα όρια των περιοχών πρέπει να είναι απλά, όχι απότομα, και ακριβή.

Συνήθως για την ανάπτυξη και την επιλογή μιας τεχνικής διαχωρισμού χρησιμοποιούνται οι ιδιότητες της ασυνέχειας και ομοιότητας. Με τον έλεγχο της ασυνέχειας εξετάζεται η απότομη μεταβολή στις τιμές εικονοστοιχεία, με αποτέλεσμα ο προσδιορισμός απομονω μένων σημείων, καμπύλων και ακμών. Στη δεύτερη κατηγορία ο έλεγχος της ομοιότητας ως προς ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά οδηγεί σε τεχνικές τμηματοποίησης όπως κατωφλίου (Thresholding) και ανάπτυξη περιοχών (region growing).

Γενικά οι τεχνικές τμηματοποίησης μπορούν να χωριστούν στις ακόλουθες τεχνικές :

- Κατωφλίου-Πολυκατωφλίωσης

- Ταξινόμηση στοιχείων
- Μέθοδοι βασιζόμενες στα όρια περιοχών
- Μέθοδοι βασιζόμενες σε χαρακτηριστικά περιοχών και ομαδοποίησης
- Σύγκριση προτύπων

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι υπάρχουσες τεχνικές δεν καλύπτουν όλες τις δυνατές εφαρμογές, παρά αποτελούν ερέθισμα για την ανάπτυξη εξειδικευμένων τεχνικών τμηματοποίησης που αφορούν συγκεκριμένες εφαρμογές[17]. Για παράδειγμα επικαλυπτόμενα αντικείμενα, ενωμένοι χαρακτήρες είναι δύσκολο να διαχωριστούν ικανοποιητικά. Επίσης ο ποιοτικός έλεγχος ηλεκτρονικών πλακετών ή η αναγνώριση ιατρικών εικόνων απαιτούν συνθετότερους και πλέον εξειδικευμένους αλγόριθμους.

Η τμηματοποίηση της εικόνας είναι συνήθως το πρώτο στάδιο της διαδικασίας ανάλυσης μιας εικόνας. Όλες οι ακόλουθες διαδικασίες όπως η εξαγωγή χαρακτηριστικών και η αναγνώριση αντικειμένων στηρίζονται σχεδόν ολικά στην σωστή τμηματοποίηση. Η απουσία ενός καλού αλγόριθμου τμηματοποίησης, μπορεί να οδηγήσει στην μη αναγνώριση ενός αντικειμένου στην εικόνα. Υπέρμηματοποίηση θα οδηγήσει στον χωρισμό ενός αντικειμένου σε περισσότερα από ένα αντικείμενα, ενώ η υπόμηματοποίηση θα ενώσει περισσότερα του ενός αντικείμενα σε μια μεγαλύτερη περιοχή. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, το βήμα της τμηματοποίησης καθορίζει ή όχι την επιτυχία της ανάλυσης μιας εικόνας, και για τον λόγο αυτό καταβάλλεται περίσσια προσπάθεια για την μείωση της πιθανότητας λάθους κατά τη διεξαγωγή της.[5]

5.1. Μέθοδος απόλυτης κατωφλίωσης (Otsu)

Μια από τις σημαντικότερες και περισσότερο χρησιμοποιούμενης τεχνική απόλυτου κατωφλίου είναι η μέθοδος Otsu [1]. Η μέθοδος Otsu βασίζεται στην επεξεργασία του ιστογράμματος της εικόνας και στον προσδιορισμό του κατωφλίου βάσει του κριτηρίου της μεγιστοποίησης της διαχωριστικότητας μεταξύ των περιοχών κειμένου και υποβάθρου. Για την μετατροπή μιας εικόνας αποχρώσεων του γκρι σε δυαδική απαιτείται η εύρεση μιας τιμής κατωφλίου t η οποία χωρίζει τις αποχρώσεις της εικόνας σε δυο κλάσεις C_0 , και C_1 με $C_0 = \{0, 1, 2, \dots, t\}$ και $C_1 = \{t+1, t+2, \dots, L-1\}$. Όπου L είναι ο συνολικός αριθμός των επιπέδων γκρι της εικόνας. Η κάθε κλάση αποτελείται από τις αποχρώσεις με τιμές που βρίσκονται χαμηλότερα και ψηλότερα, αντίστοιχα, από το κατώφλι t . [1]

Εάν πούμε ότι με n_i συμβολίζουμε τον αριθμό των pixels του i -οστού γκρι επιπέδου και με n τον αριθμό των pixels της εικόνας τότε η πιθανότητα εμφάνισης του i γκρι επιπέδου ορίζεται ως

$$p_i = \frac{n_i}{n}$$

Το C_0 και C_1 ανταποκρίνονται στο αντικείμενο που μας ενδιαφέρει και στο φόντο. Οι πιθανότητες εμφάνισης αυτών των 2 κλάσεων ονομάζονται ω_0, ω_1 και υπολογίζονται :

$$\omega_0 = \sum_{i=0}^t p_i$$
$$\omega_1 = \sum_{i=t+1}^{L-1} p_i$$

Ο μέσος όρος μπορεί να υπολογιστεί

$$\mu_0(t) = \frac{\sum_{i=0}^t i p_i}{\omega_0(t)}$$
$$\mu_1(t) = \frac{\sum_{i=t+1}^{L-1} i p_i}{\omega_1(t)}$$

Τελικά ένα βέλτιστο όριο κατωφλίωσης μπορεί να επιτευχθεί εάν μεγιστοποιηθεί η διακύμανση μεταξύ των 2 κλάσεων

$$t = \text{Arg} + \left\{ \max_{0 \leq t \leq L-1} \left(\frac{\sigma_B^2}{\sigma_T^2} \right) \right\}$$

Όπου σ_B^2 είναι το τετράγωνο της τυπικής απόκλισης μεταξύ των δυο κλάσεων και υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο :

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

Και το σ_T^2 είναι το ολικό τετράγωνο της τυπικής απόκλισης των επιπέδων του γκρι της εικόνας και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\sigma_T^2 = \sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu_T)^2$$

Ο συνολικός μέσος όρος της εικόνας υπολογίζεται

$$\mu_T = \sum_{i=0}^{L-1} ip_i$$

Γενικά με βάση τα παραπάνω η μέθοδος Otsu είναι αποδοτική όταν υπάρχουν 2 αρκετά διακριτές κατηγορίες στην εικόνα.

Τα βήματα υλοποίησης του αλγόριθμου είναι :

1. Υπολόγισε το ιστόγραμμα και τις πιθανότητες του κάθε επιπέδου έντασης
2. Αρχικοποίησε τις τιμές $w_i(0)$ και $m_i(0)$
3. Δοκίμασε βήμα βήμα όλα τα πιθανά όρια κατωφλίωσης με την μέγιστη ένταση
 - (a) Ανανέωση για w_i για m_i
 - (b) Υπολογισμός του τετραγώνου της τυπικής απόκλισης μεταξύ των δυο κλάσεων
4. Το επιθυμητό όριο αντιστοιχεί στο μέγιστο αριθμό που βρίσκουμε στο β.[31]

5.2. Μέθοδος με κριτήριο την εντροπία

Η μέθοδος αυτή προτάθηκε από τους Karur κ.α ,βασίζεται στη μεγιστοποίηση ενός κριτηρίου που σχετίζεται με την εντροπία της εικόνας. Δυο κατανομές πιθανοτήτων ολόκληρης της εικόνας αντί μιας ερευνώνται σε αυτή τη μέθοδο. Μία για το αντικείμενο και μια για το φόντο. Η ζητούμενη τιμή κατωφλίου T είναι εκείνη για την οποία το άθροισμα της εντροπίας $H(B)$ του φόντου και του αντικειμένου $H(O)$ μεγιστοποιείται .

Η κατανομή πιθανοτήτων των επιπέδων του γκρι στα μαύρα σημεία της εικόνας είναι

$$O: \frac{p_0}{P_t}, \frac{p_1}{P_t}, \dots, \frac{p_t}{P_t},$$

Και για τα λευκά σημεία

$$B: \frac{p_{t+1}}{1 - P_t}, \frac{p_{t+2}}{1 - P_t}, \dots, \frac{p_{L-1}}{1 - P_t},$$

Όπου P_t είναι η πιθανότητα των pixels με επίπεδο γκρι μικρότερο ή ίσο του κατωφλίου t

$$P_t = \sum_{i=0}^t p_i$$

Την εντροπία των μαύρων σημείων της εικόνας την υπολογίζουμε από την σχέση

$$H(O) = \ln P_t + \frac{H_t}{P_t}$$

Το H_t το υπολογίζουμε από την σχέση

$$H_t = - \sum_{i=0}^t (p_i \ln p_i)$$

Και για τα λευκά σημεία μπορούμε να υπολογίσουμε από

$$H(B) = \ln(1 - P_t) + \frac{H_{L-1} - H_t}{1 - P_t}$$

Όπου H_{L-1} υπολογίζουμε από την σχέση

$$H_{L-1} = - \sum_{i=0}^{L-1} (p_i \ln p_i)$$

Από όπου προκύπτει το άθροισμα

$$M(t) = H(O) + H(B)$$

Το βέλτιστο κατώφλι είναι το σημείο που μεγιστοποιείται η $M(t)$

Τα βήματα υλοποίησης του αλγόριθμου είναι :

1. Βρίσκουμε την πιθανότητα της A κλάσης p_1 για κάθε πιθανό κατώφλι
2. Βρίσκουμε τους λογαρίθμους τιμών πιθανότητας A κλάσης
3. Βρίσκουμε λογαρίθμους τιμών πιθανότητας B κλάσης
4. Βρίσκουμε την εντροπία A και B κλάσης
5. Βρίσκουμε την εντροπία του συστήματος ως άθροισμα
6. Βρίσκουμε το κατώφλι για το οποίο μεγιστοποιείται η εντροπία . [3],[4].

5.3. Μέθοδος ομαδοποίησης δεδομένων

Έως τώρα οι προηγούμενοι αλγόριθμοι τμηματοποιούν μια εικόνα με βάση την ασυνέχεια-ανομοιότητα που υπάρχει στην εικόνα μεταξύ φόντου και αντικείμενου. Η μέθοδος ομαδοποίησης δεδομένων διαφέρει στον τρόπο λειτουργίας. Τμηματοποιεί την εικόνα με βάση την ομοιότητα δλδ δημιουργεί ομάδες όμοιων αντικειμένων. [7] Ο αλγόριθμος Fuzzy C-means (FCM) clustering στον οποίο βασίζεται η μέθοδος εισήχθη από τον J.C. Bezdec και αποτελεί μία τεχνική μη αυστηρής ομαδοποίησης δεδομένων. Συνεπώς αν $P = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$ αποτελεί το σύνολο των δεδομένων προς ομαδοποίηση και αναζητούνται οι C κλάσεις P_1, P_2, P_c , τότε ισχύει $P_1 \cup P_2 \cup P_c = P$. Η ομαδοποίηση και στην περίπτωση του FCM γίνεται με στόχο την ελαχιστοποίηση μίας αντικειμενικής συνάρτησης. Η συνάρτηση αυτή είναι η

$$J(U, V) = + \sum_{i=1}^c \sum_{k=1}^n u_{ik}^m \|x_k - v_i\|^2$$

όπου

- x_k είναι τα n το πλήθος σημεία προς ομαδοποίηση
- $V = \{v_1, v_2, \dots, v_c\}$ είναι τα κέντρα των c το πλήθος κλάσεων
- $U = [u_{ik}]$ είναι ένας $c \times n$ πίνακας, όπου u_{ik} είναι ο συντελεστής συμμετοχής του k σημείου στην κλάση i .

Στον συντελεστή συμμετοχής κάθε σημείου γίνεται κανονικοποίηση ως προς το σύνολο των κέντρων, επομένως για τα στοιχεία u_{ik} του πίνακα U ισχύουν τα εξής:

$$0 \leq u_{ik} \leq 1, \quad i = 1, \dots, c \quad k = 1, \dots, n$$

$$\sum_{i=1}^c u_{ik} = 1, \quad k = 1, \dots, n$$

$$0 < \sum_{i=1}^c u_{ik} < n, \quad i = 1, \dots, c$$

- m είναι εκθετικός συντελεστής βάρους με $m > 1$, $m \in \mathbb{R}$ (συνηθέστερα $m = 2$).

Κατά συνέπεια πριν ξεκινήσει η εκτέλεση του αλγορίθμου πρέπει να επιλεγούν οι παράμετροι c και m . Στη συνέχεια πρέπει τα κέντρα των c το πλήθος κλάσεων να αρχικοποιηθούν είτε σε τυχαία σημεία, είτε σε τυχαία επιλεγμένα σημεία από το σύνολο P . Αφού αρχικοποιηθεί ο πίνακας $V^{(0)}$ (ο δείκτης 0 φανερώνει πως πρόκειται για την αρχική κατάσταση του πίνακα V) τα αλγοριθμικά βήματα που ακολουθούνται έχουν ως εξής:

1. Υπολογισμός του πίνακα συμμετοχής $U^{(a)}$ σύμφωνα με τη σχέση

$$u_{ik} = \frac{\left[\frac{1}{\|x_k - v_i\|^2} \right]^{1/(m-1)}}{\sum_{j=1}^c \left[\frac{1}{\|x_k - v_j\|^2} \right]^{1/(m-1)}}$$

Όπου $i=1, \dots, c$ και $k=1, \dots, n$

όπως είναι προφανές, ο βαθμός συμμετοχής ενός σημείου σε μία κλάση είναι αντίστροφος της δύναμης $(m-1)$ της απόστασης του σημείου από το κέντρο της κλάσης.

2. Υπολογισμός των κέντρων $V^{(a)}$ των κλάσεων, μέσω της σχέσης

$$v_i = \frac{\sum_{k=1}^n u_{ik}^m x_{ik}}{\sum_{k=1}^n u_{ik}^m}$$

Με $i=1, \dots, c$

3. Υπολογισμός της αντικειμενικής συνάρτησης $J^{(a)}$

4. Έλεγχος συνθήκης τερματισμού.

Τερματισμός της διαδικασίας ή επανάληψη από το βήμα 1 με $a = a + 1$. Αν η μεταβολή της αντικειμενικής συνάρτησης σε σχέση με την τιμή της στο τέλος της προηγούμενης επανάληψης είναι μικρότερη μίας τιμής κατωφλίου

$$|J^{(a)} - J^{(a-1)}| \leq \varepsilon$$

ή αν ο αριθμός των επαναλήψεων είναι ίσος με ένα μέγιστο επιτρεπτό αριθμό

$a = a_{max}$, ο αλγόριθμος τερματίζει τη λειτουργία του.

Η προηγούμενη επαναληπτική διαδικασία θα οδηγήσει σε τοπικό ελάχιστο (local minimum) της αντικειμενικής συνάρτησης. Όμως και πάλι η εξεύρεση του ολικού ελάχιστου (global minimum) απαιτεί γενικά διεξοδική αναζήτηση σε ολόκληρο το χώρο των σημείων εκκίνησης $V^{(0)}$ του αλγορίθμου. Ο χώρος αυτός είναι ουσιαστικά ο χώρος που βρίσκεται ο $V^{(0)}$ αν θεωρηθεί διάνυσμα, όπου L ο αριθμός των διαστάσεων του χώρου στον οποίο βρίσκονται τα δεδομένα. Είναι φανερό πως η διεξοδική αναζήτηση είναι υπολογιστικά ασύμφορη για δεδομένα με μεγάλη διασπορά μέσα σε χώρους υψηλών διαστάσεων και μεγάλο πλήθος κλάσεων. Στην περίπτωση του FCM η επανάληψη της διαδικασίας με διαφορετικά κάθε φορά σημεία εκκίνησης, τις περισσότερες φορές οδηγεί στην εξεύρεση ολικού ελαχίστου της αντικειμενικής συνάρτησης.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί πως αν σε κάποια εφαρμογή δεν απαιτείται σαν πληροφορία ο βαθμός συμμετοχής του κάθε σημείου σε όλες τις κλάσεις, αλλά μονάχα η κλάση στην οποία ανήκει, τότε προφανώς το σημείο θα ανατεθεί στην κλάση στην οποία έχει τη μεγαλύτερη συμμετοχή. [6,32,33]

5.4. Μέθοδος ISODATA

Μία άλλη συνηθισμένη μέθοδος ταξινόμησης είναι η Iterative Self-Organizing Data Analysis Technique (ISODATA). Τα αρχικά σημαίνουν «Επαναλαμβανόμενη και αυτό-οργανωμένη τεχνική ανάλυσης δεδομένων». Είναι μία επαναληπτική μέθοδος μη επιβλεπόμενης ταξινόμησης. Το «επαναλαμβανόμενη» αναφέρεται στο ότι εκτελεί την ταξινόμηση επανειλημμένα δίνοντας στην έξοδο ένα θεματικό ψηφιδωτό χάρτη και επαναυπολογίζει τα στατιστικά στοιχεία. Το αυτό-οργανωμένη αναφέρεται στον τρόπο με τον οποίο εντοπίζει τις κλάσεις που ενυπάρχουν στα δεδομένα.

Ο αλγόριθμος ISODATA αποτελεί μία από τις πολλές παραλλαγές του αλγορίθμου k-means που επιχειρεί να βελτιώσει τις αδυναμίες του.

Στον αλγόριθμο k-means ο χρήστης καθορίζει τον αριθμό των ομάδων που θα δημιουργηθούν, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αυστηρά ακριβώς τόσες ομάδες δεδομένων, ακόμη και αν ορισμένες από αυτές περιέχουν πολύ μικρό ή πολύ μεγάλο αριθμό δεδομένων.

Αντίθετα, ο ISODATA επιτρέπει τη συνένωση και/ή τη διαίρεση των ομάδων που προκύπτουν στα βήματα εκτέλεσής του, συμβάλλοντας έτσι στη βελτιστοποίηση της αντιστοίχισης των δεδομένων στις ομάδες.

Βήματα Αλγορίθμου

1. Εκτέλεσε k-means Clustering
2. Διάσπασε όσα clusters έχουν αρκετά ανόμοια δεδομένα
3. Ένωσε όσα clusters έχουν αρκετά όμοια δεδομένα
4. Βήμα 1

Ο αλγόριθμος βρέθηκε έτοιμος και υλοποιήσιμος στο λογισμικό Dip image 2.3. Η υλοποίηση της ρουτίνας έγινε μέσα στο Matlab.

5.4.1. DIPimage

Το DIPimage είναι μία εργαλειοθήκη του Matlab με σκοπό να κάνει επεξεργασία εικόνας η οποία βασίζεται στην βιβλιοθήκη DIPlib. Είναι ένα εργαλείο για την έρευνα καθώς και την εκπαίδευση της επεξεργασίας εικόνας σε διάφορα επίπεδα και δεν προορίζεται για βιομηχανική χρήση γιατί υπάρχουν περιορισμοί τόσο στη ταχύτητα του επεξεργαστή όσο και της μνήμης[38].

5.4.2. DIPimagelib

Η βιβλιοθήκη της DIPimage είναι γραμμένη σε C και περιέχει ένα μεγάλο αριθμό συναρτήσεων για την επεξεργασία και την ανάλυση πολλών διαστάσεων δεδομένων. Η βιβλιοθήκη παρέχει συναρτήσεις για την εκτέλεση διαφόρων μετασχηματισμών, επαναλήψεων, δημιουργία αντικειμένων και στατιστική ανάλυση της εικόνας. Είναι επίσης πολλή αποδοτική με τη διαχείριση της μνήμης και του χρόνου διασύνδεσης με το matlab γίνονται καλώντας συναρτήσεις της βιβλιοθήκης οι οποίες είναι γραμμένες σε C[38].

5.5. Μέθοδος επανάληψης

Η βασική παράμετρος στη διαδικασία εύρεσης κατωφλίου είναι η επιλογή της οριακής τιμής. Μια απλή μέθοδος θα ήταν να επιλεχτεί η μέση είτε η διάμεση τιμή, όμως θα πρέπει αν το pixel του αντικείμενο είναι πιο φωτεινό από το φόντο, θα πρέπει επίσης να είναι πιο φωτεινό από το μέσο όρο. Μια πιο πολύπλοκη προσέγγιση θα ήταν να δημιουργηθεί ένα ιστόγραμμα των εντάσεων των pixel της εικόνας και να χρησιμοποιηθεί το σημείο «κοιλιάδα» ως το κατώτατο όριο. Το ιστόγραμμα υποθέτει ότι υπάρχει κάποια μέση τιμή ανάμεσα στο φόντο και pixels του αντικείμενο, αλλά και ότι οι πραγματικές τιμές pixel έχουν κάποια διακύμανση γύρω από αυτές τις μέσες τιμές. Ωστόσο, αυτό μπορεί να είναι υπολογιστικά αρκετά δαπανηρό και σε αρκετά ιστογράμματα διαφόρων εικόνων δεν υπάρχουν ξεκάθαρα σημεία για την επιλογή του ορίου. Μια μέθοδος που είναι σχετικά απλή, δεν απαιτεί πολύ εξειδικευμένες γνώσεις της εικόνας, και είναι ισχυρή κατά του θορύβου της εικόνας, είναι η ακόλουθη επαναληπτική μέθοδος η οποία προτάθηκε από τον Shapiro [8,34]

Βήματα Αλγορίθμου

1. Αρχικά επιλέγεται μία τυχαία τιμή κατωφλίου.
2. Χωρίζονται το αντικείμενο και φόντο δημιουργώντας 2 σεις:
 - a. $G1 = \{f(m,n):f(m,n)>T\}$ (pixels αντικειμένου)
 - b. $G2 = \{f(m,n):f(m,n) \leq T\}$ (pixels φόντου)όπου $f(m,n)$ είναι η τιμή του pixel m -οστης στήλης και n -οστης γραμμής
3. Υπολογίζουμε την μέση τιμή του κάθε σετ
 - a. $m1 = \text{average } G1$
 - b. $m2 = \text{average } G2$
4. Δημιουργείται ένα όριο που έχει τιμή $m1+m2/2$

5. Πηγαίνουμε στο βήμα2 και υπολογίζουμε νέες τιμές μέχρις ότου επιτευχθεί η σύγκλιση

5.6. Gaussian Mixture Model

Το Gaussian Mixture Models παρουσιάζεται ως η πιο ολοκληρωμένη μέθοδος για ομαδοποίηση [39]. Η εικόνα όπως γνωρίζουμε είναι ένας πίνακας του οποίου κάθε στοιχείο είναι ένα pixel. Η τιμή του pixel είναι ένας αριθμός που μας δείχνει την ένταση της εικόνας υποθέσουμε ότι X μια τυχαία μεταβλητή παίρνει αυτές τις τιμές. Για την πιθανότητα ενός μοντέλου προσδιορισμού υποθέτουμε ότι έχουμε μείγμα κανονικών κατανομών από την παρακάτω φόρμα.

$$f(x) = \sum_{i=1}^k p_i N(x|\mu_i, \sigma_i^2) \quad (1)$$

Όπου k είναι ο αριθμός των περιοχών και $p_i > 0$ είναι τα βάρη για

$$\sum_{i=1}^k p_i = 1$$

$$N(\mu_i, \sigma_i^2) = \frac{1}{\sigma_i \sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\frac{(x - \mu_i)^2}{2\sigma_i^2} \right\} \quad (2)$$

Όπου μ_i και σ_i σημαίνουν η τυπική απόκλιση της κλάσης i . Για μία δεδομένη εικόνα X , τα δεδομένα πλέγματος είναι οι τιμές των pixels και Gaussian Mixture Model είναι το μοντέλο βάσης των pixel. Ωστόσο, οι παράμετροι είναι $\theta = (p_1, \dots, p_k, \mu_1, \dots, \mu_k, \sigma_1, \dots, \sigma_k)$ και οι αριθμοί βρίσκονται από τα δεδομένα πλέγματος του ιστογράμματος [11].

5.6.1. Expectation Maximization αλγόριθμος

Ο αλγόριθμος ομαδοποίησης Expectation Maximization (EM) αποτελείται από δύο φάσεις, οι οποίες εφαρμόζονται εναλλάξ. Τα βήματα του αλγορίθμου Expectation-Maximization είναι τα παρακάτω [11].

1. Είσοδος : η εικόνα - διάνυσμα $x_j, j=1,2,\dots,n$ και i ανήκει $\{1,2,\dots,k\}$ σε ένα σετ ετικετών.
2. Αρχικοποίηση :

$$\theta^{(0)} = (p_1^{(0)} \dots p_1^{(0)}, \mu_1^{(0)} \dots \mu_k^{(0)}, \sigma_1^2{}^{(0)} \dots \sigma_k^2{}^{(0)})$$

3. Βήμα E

$$P_{ij}^{(r+1)} = P^{(r+1)}(i|x_j) = \frac{P_i^{(r)} N(x_j|\mu_i^{(r)}, \sigma_i^2{}^{(r)})}{f(x_j)} \quad (3)$$

4. Βήμα M

$$P_i^{(r+1)} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n P_{ij}^{(r)} \quad (4)$$

$$\mu_i^{(r+1)} = \frac{\sum_{j=1}^n P_{ij}^{(r+1)} x_j}{n P_i^{(r+1)}} \quad (5)$$

$$\sigma_i^2{}^{(r+1)} = \frac{\sum_{j=1}^n P_{ij}^{(r+1)} (x_j - \mu_i^{(r+1)})^2}{n P_i^{(r+1)}} \quad (6)$$

5. Επανάλαβε τα βήματα 3 και 4 μέχρι να προσδιοριστεί ένα σφάλμα όπως για παράδειγμα $\sum_i e_i^2 < \epsilon$
6. Υπολόγισε $P_{ij} = \text{ArgMax}_i p_{ij}^{(final)}$, $j = 1, 2, \dots, n$
7. Κατασκεύασε την επισημασμένη εικόνα που αντιστοιχεί σε κάθε πραγματικό pixel της εικόνας

Οι δύο φάσεις εφαρμόζονται επαναληπτικά η φάση E υπολογίζει πιθανοτικές εκτιμήσεις για την ομαδοποίηση των στοιχείων της εισόδου και η φάση M τροποποιεί τις παραμέτρους του γενικευμένου Γκαουσιανού μοντέλου στο οποίο βασίζονται οι πιθανοτικές εκτιμήσεις καθώς το μοντέλο συγκλίνει στα αποτελέσματα με τη μεγαλύτερη πιθανότητα, βάσει των παραδοχών του [11,39].

6. ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΓΡΑΦΩΝ

Η Θεωρία Γράφων είναι η μελέτη των γράφων. Ο γράφος είναι η παρουσίαση μιας σειράς αντικειμένων, όπου αυτά τα αντικείμενα συνδέονται μεταξύ τους με συνδέσμους. Διαφορετικά είναι ένα διάγραμμα που αποτελείται από κόμβους και συνδέσεις, δηλαδή σημεία και γραμμές με άκρα τα ίδια τα σημεία. Αυτό που ενδιαφέρει στη μελέτη των γράφων είναι με ποιά σημεία συνδέεται το κάθε σημείο. Σε αντίθεση με άλλα γεωμετρικά σχήματα η μελέτη του δεν περιλαμβάνει τη μελέτη του είδους των γραμμών, δηλαδή αν είναι ευθείες ή καμπύλες ή τί είδους καμπύλες είναι. Επιπλέον, ούτε ενδιαφέρει η διάταξη των σημείων στο χώρο. Ωστόσο, ο γράφος γίνεται σημαντικά πιο κατανοητός αν και η απεικόνιση γεγονικών κόμβων αναπαρίστανται με κοντινά σημεία, και οι συνδέσεις με ευθύγραμμα τμήματα, αν συνδέουν κοντινά σημεία. Κάθε σύνδεση μπορεί να έχει ή να μην έχει προσανατολισμό. Αν δεν έχει προσανατολισμό μοιάζει με σύνδεση διπλής κατεύθυνσης, όπως ένας δρόμος που είναι είτε μονόδρομος είτε διπλής κατεύθυνσης. Επιπλέον, μια σύνδεση μπορεί να χαρακτηρίζεται από το μήκος της. Το μήκος της σύνδεσης δεν είναι ίδιο απαραίτητα με το μήκος της γραμμής η οποία την αναπαριστά. Για παράδειγμα ένας γράφος μπορεί να αναπαριστά ένα οδικό σύστημα, στο οποίο οι κόμβοι είναι πόλεις. Οι υψομετρικές μεταβολές του εδάφους (βουνά, λόφοι, χαντάκια και τα λοιπά) αλλάζουν το μήκος της κάθε σύνδεσης χωρίς αυτό να αποτυπώνεται στον χάρτη της περιοχής.

Ο γράφος στον απλούστερο ορισμό του είναι η οπτική αναπαράσταση των σχέσεων που αναπτύσσουν ορισμένες ποσότητες, σχεδιασμένες σε σχέση με ένα σύνολο αξόνων. Ένας άλλος ορισμός που κινείται στο ίδιο εννοιολογικό πλαίσιο της οπτικής αναπαράστασης αναγνωρίζει τον γράφο ως απεικόνιση αποτελούμενη από ένα σύνολο σημείων (κορυφών ή κόμβων) που συνδέονται με γραμμές (ακμές) Στους κατευθυνόμενους ή προσανατολισμένους γράφους οι ακμές απεικονίζονται διανυσματικά.[23,36]

Ένας γράφος $G=(V,E)$ αποτελείται από ένα σύνολο κόμβων (vertices ή nodes) V και ένα σύνολο ακμών (edges) E . Κάθε ακμή ορίζεται ως ένα μη διατεταγμένο ζεύγος δύο κόμβων:

Σε μία άλλη εκδοχή είναι ένα σύνολο από κόμβους (κορυφές) που ενώνονται μεταξύ τους με ακμές και ορίζεται από τον τρόπο με τον οποίο συνδέονται οι κορυφές (κόμβοι). Αν οι ακμές προσανατολίζονται οριζόμενες από διατεταγμένα ζεύγη κόμβων, τότε ο γράφος αποκαλείται κατευθυνόμενος. Αν οι ακμές δεν προσανατολίζονται, οριζόμενες απλώς από διμελή σύνολα και όχι διατεταγμένα ζεύγη, τότε αποκαλείται μη κατευθυνόμενος. Επιπλέον στοιχεία για τον ορισμό ενός γράφου είναι η σύνδεση των ακμών του με κάποια αξία, οπότε αποκαλείται σταθμισμένος.[23]

6.1. Μη κατευθυνόμενος γράφος

Ως μαθηματική έκφραση, ο ορισμός του μη κατευθυνόμενου γράφου έχει ως εξής: Ο γράφος G είναι ένα διατεταγμένο ζεύγος $G = \langle V(G), E(G) \rangle$ όπου: $V(G) = \{v_1, v_2, \dots, v_n\}$ το σύνολο των κορυφών $E(G) = \{e_1, e_2, \dots, e_m\}$ το σύνολο των ακμών. Στην προκειμένη περίπτωση κάθε ακμή είναι ένα διμελές σύνολο αποτελούμενο από δύο κορυφές, οι οποίες αποκαλούνται τερματικές κορυφές (κόμβοι) και δεν είναι απαραίτητα διαφορετικές μεταξύ τους[23].

6.2. Κατευθυνόμενος γράφος

Ως μαθηματική έκφραση, ο ορισμός του κατευθυνόμενου γράφου έχει ως εξής: Ο γράφος G είναι ένα διατεταγμένο ζεύγος $G = \langle V(G), E(G) \rangle$ όπου: $V(G) = \{v_1, v_2, \dots, v_n\}$ το σύνολο των κορυφών $E(G) = \{e_1, e_2, \dots, e_m\}$ το σύνολο των ακμών. Εδώ κάθε ακμή είναι ένα διατεταγμένο ζεύγος αποτελούμενο από δύο κορυφές, οι οποίες αποκαλούνται τερματικές κορυφές (κόμβοι) και δεν είναι απαραίτητα διαφορετικές μεταξύ τους. Η διαφορά ανάμεσα σε έναν μη κατευθυνόμενο και έναν κατευθυνόμενο γράφο είναι ότι στην πρώτη περίπτωση έχουμε διμελές σύνολο, ενώ στη δεύτερη διατεταγμένο ζεύγος[23].

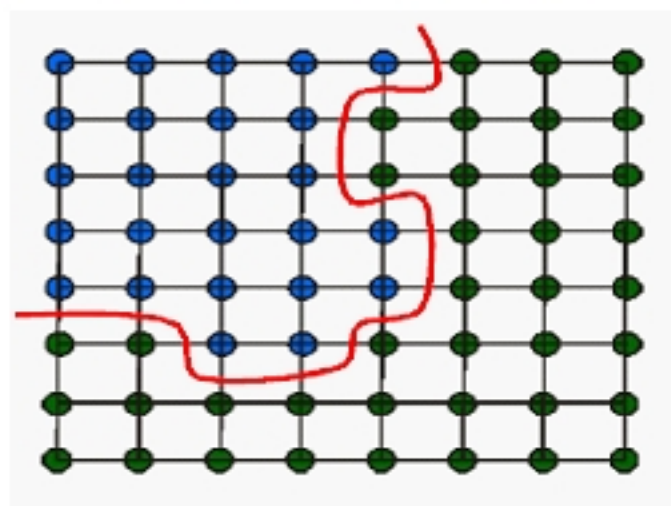
6.3. Πίνακας Γειτνίασης

Ένας γράφος $G=(V,E)$ μπορεί εναλλακτικά να αναπαρασταθεί από έναν πίνακα γειτνίασης (adjacency matrix) ο πίνακας έχει μέγεθος $|V|^2$. Κάθε στοιχείο του $a_{i,j}$ (όπου $i,j < |V|$) ορίζεται ως

$$a_{i,j} = \begin{cases} 1, & \text{αν } (i,j) \in E \\ 0, & \text{σε κάθε άλλη περίπτωση} \end{cases}$$

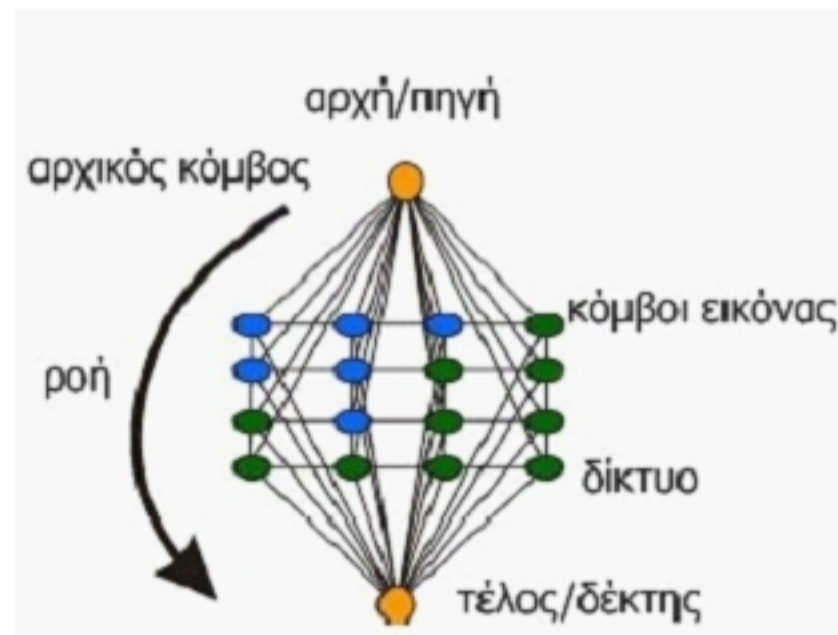
6.4. Graph Cuts τμηματοποίηση

Η μέθοδος τμηματοποίησης Graph cuts έχει γίνει πολύ δημοφιλής λόγω της πρακτικής συμπεριφοράς η οποία προκύπτει από τις θεωρητικές του ιδιότητες. Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογές στην κατάμηση της εικόνας. Ο αλγόριθμος χρησιμοποιεί σαν είσοδο δεδομένων το αντικείμενο και το φόντο. Ο αλγόριθμος προχωρά στη συνέχεια να βρει την μέγιστη-ροή/ελάχιστη-τομή μεταξύ αυτών των δεδομένων, βλέποντας την εικόνα, σαν ένα γράφο μια γραφική παράσταση όπου τα pixels είναι οι κόμβοι και οι ακμές συνδέουν τα παρακείμενα γειτονικά pixel.



Εικόνα 1: pixel και ακμές

Παρά το γεγονός ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ρουτίνες μέγιστης-ροής ελάχιστης-τομής για τον υπολογισμό αυτό τον τελευταίο καιρό έχουν αναπτυχθεί ταχύτεροι αλγόριθμοι για τον τομέα της κατάμησης.



6.5. Θεώρημα της μέγιστης-ροής ελάχιστης-τομής

Το πρόβλημα του θεωρήματος της μέγιστης ροής αναφέρεται στο να βρει το πιο κατάλληλο δρόμο μεταξύ της πηγής και του δέκτη. Όταν σχεδιάζεται ένα δίκτυο οι συνδέσεις αναπαριστούν κανάλια ροής με περιορισμένες χωρητικότητες. Στόχος είναι η μεγαλύτερη ποσότητα ροής που μπορούμε να πετύχουμε από την πηγή προς τον προορισμό, έτσι σε ένα δίκτυο μεταφοράς δεδομένων θέλουμε να βρούμε ένα δρόμο ο οποίος να μας δίνει την μέγιστη απόδοση μεταφοράς με την λιγότερη καθυστέρηση. Ως τομή (cut) ορίζεται ένα σύνολο προσανατολισμένων κλάδων, που περιέχει τουλάχιστον έναν κλάδο από κάθε μονοπάτι από την πηγή στο δέκτη, όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα. Φυσικά, υπάρχουν πολλοί τρόποι για να σχηματιστεί μία τομή που «κόβει» στα δύο το δίκτυο. Η τιμή ενός κλάδου (cut value) είναι το άθροισμα των χωρητικότητων ροής των κλάδων της τομής (προς τη συγκεκριμένη κατεύθυνση). Το πρόβλημα των ελαχίστων τομών είναι να βρεθεί ο αριθμός τομών ο οποίος έχει τον μικρότερο αριθμό τομών από όλες τις πιθανές τομές. [23,35]

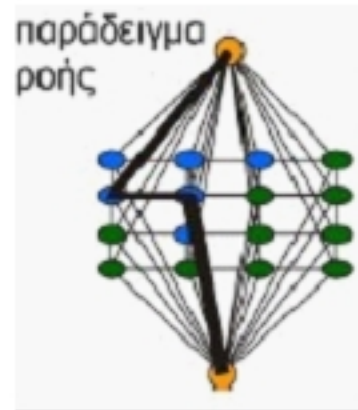
Max-Flow-Min-Cut (graph $G = (V, E)$, source S , terminal T , capacity C)

1. $f = 0$ αρχικοποίηση της ροής
2. $x = \text{ψευδής}$
3. ΟΣΟ $!x$ ΚΑΝΕ
4. κατασκευή G_f ($G_f =$ δείχνει πόση ροή μπορεί να προστεθεί σε κάθε ακμή του δικτύου)
5. Βρες ένα απευθείας μονοπάτι από S σε T
6. ΕΑΝ αυτό το μονοπάτι υπάρχει
7. ΤΟΤΕ ανανέωσε την ροή f με το μονοπάτι P
8. ΑΛΛΙΩΣ $x = \text{true}$; και $W =$ το σετ των κορυφών G_f που είναι προσβάσιμο από το S

9. ΤΕΛΟΣ-ΟΣΟ

10. ΕΠΕΣΤΡΕΨΕ την f ως την μέγιστη ροή και το $(W, V-W)$ ως την ελάχιστη τομή

11. END



6.6. Βήματα αλγορίθμου τμηματοποίησης

- 1) Γίνεται τμηματοποίησης της εικόνας χρησιμοποιώντας την μέθοδο K-means
- 2) Υπολογίζονται οι πίνακες συμμεταβλητότητας για κάθε κατηγορία και χρησιμοποιούνται για να βρουν την απόσταση Mahalanobis από κάθε δείγμα από το κέντρο της κλάσης.
- 3) Το πρόβλημα ελαχιστοποίησης της ενέργειας είναι σχεδιασμένο για να βελτιστοποιεί τις ετικέτες σε όλα τα εικονοστοιχεία με πιο ομαλούς περιορισμούς. Συγκεκριμένα:
 - a) ο όρος δεδομένων επιλέχθηκε ως το αντίθετο του λογαρίθμου της πιθανότητας του pixel να ανήκει στην συγκεκριμένη κατηγορία.
 - b) ένα σταθερό κόστος εξομάλυνσης εφαρμόζεται σε κάθε δύο γειτονικά pixels με διαφορετικές ετικέτες και
 - c) ένα χωρικά μεταβαλλόμενο στο χώρο κόστος εξομάλυνσης, που αποδίδει ένα μικρότερο κόστος στις ακμές της εικόνας που ανιχνεύονται με φιλτραρίσματος την εικόνα χρησιμοποιώντας μία Σόμπελ μάσκα.
- 4) Η τομή ελάχιστου κόστους βρίσκεται εκτελώντας επαναλήψεις a-expansion μέχρι την σύγκλιση ή μέχρι να συμπληρωθεί ένας μέγιστος αριθμός επαναλήψεων.[23]

7. Υλοποίηση προγράμματος

Για την πραγματοποίηση της εργασίας χρειάστηκε να έρθουμε σε επαφή με το Τμήμα Ιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για να λάβουμε εικόνες από μικροσκόπιο. Η πειραματική διάταξη του εργαστηρίου αποτελείται από ένα οπτικό μικροσκόπιο Nikon Eclipse E200 στο οποίο πάνω προσαρμόζεται



Εικόνα 1: Nikon Eclipse E200

και η Camera Nikon DN100 (digital network camera) που φαίνεται στην παρακάτω εικόνα



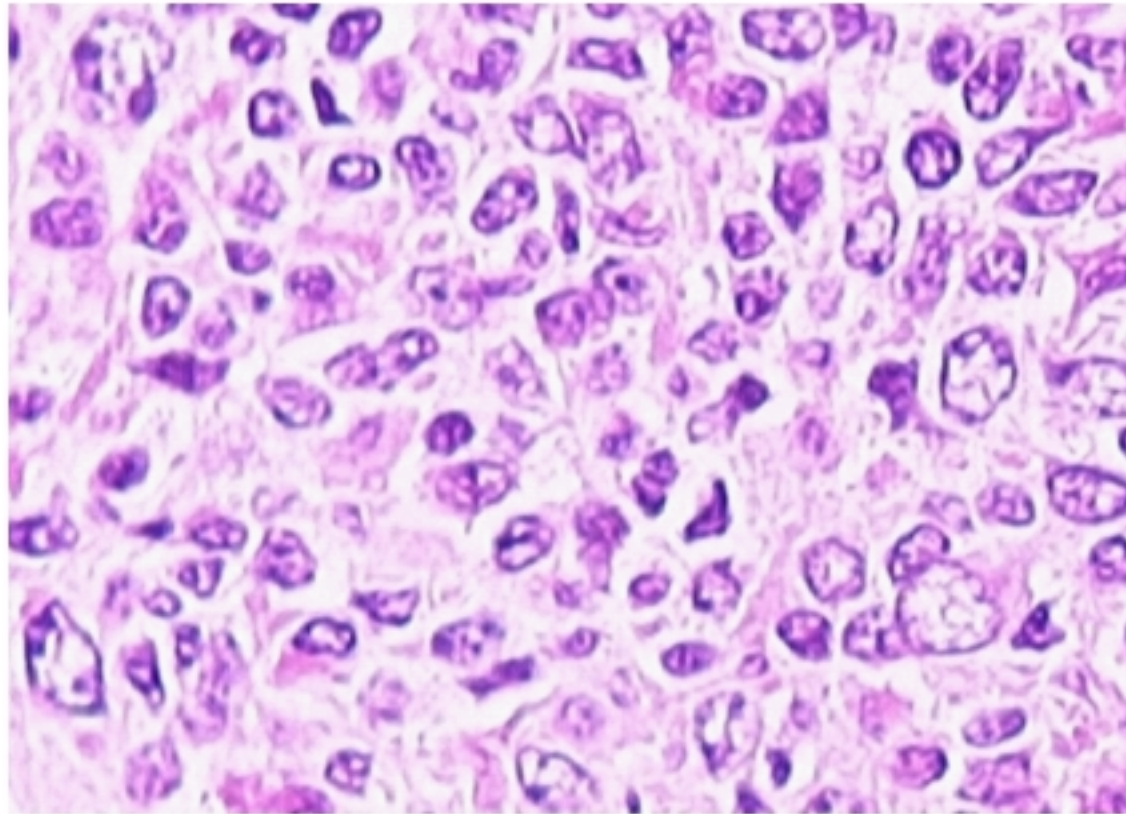
Εικόνα 2: Nikon DN 100 digital network camera



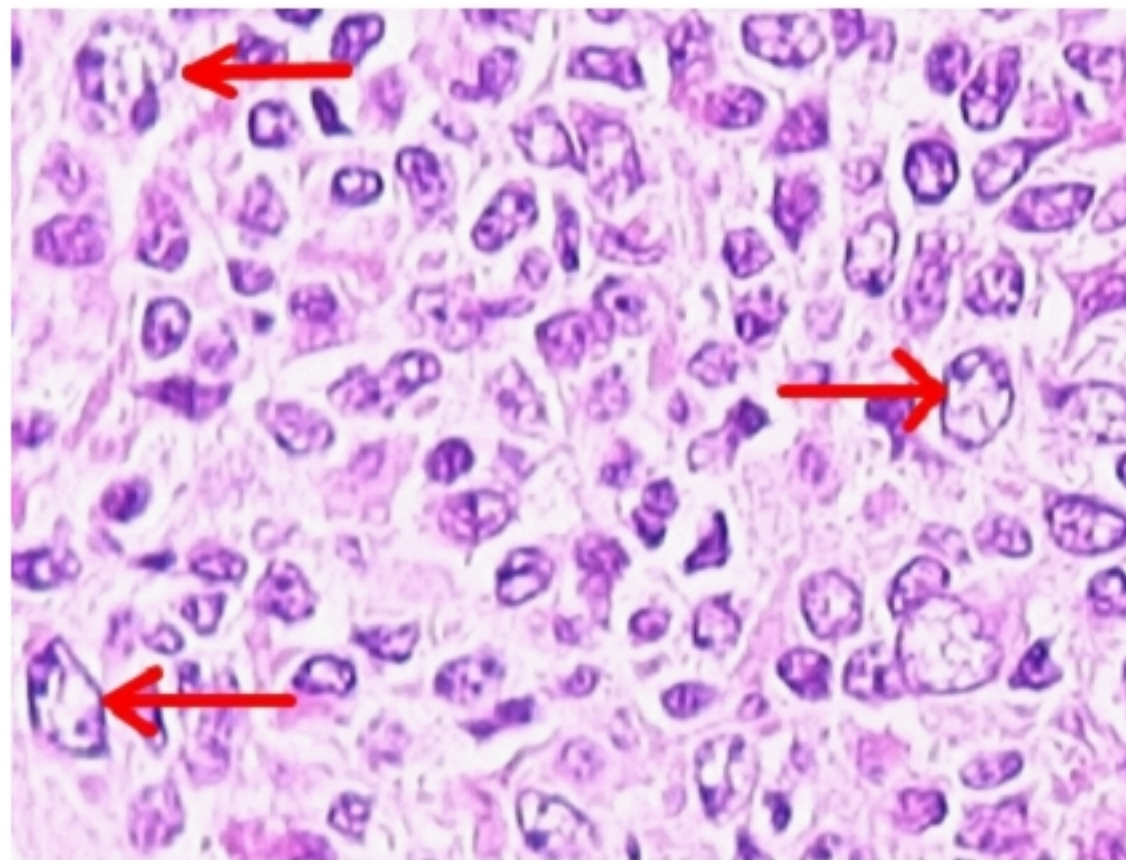
Εικόνα 3: Ολοκληρωμένο σύστημα Image Acquisition .Στην εικόνα ένα παρόμοιο μοντέλο Nikon Eclipse E600.

Η έξοδος της cameras οδηγείται σε ένα Control Box για να γίνουν οι απαραίτητες μετατροπές που χρειάζονται ώστε να τις επεξεργάζεται αργότερα ο υπολογιστής που είναι συνδεδεμένος με το Control Box. Συνολικά λάβαμε 16 εικόνες για επεξεργασία και ανάλυση. Παρακάτω εφαρμόζουμε το πρόγραμμα που υλοποιήθηκε σε μία εικόνα .Η εικόνα δείγμα που εξετάζουμε έχει μέγεθος 400X300 pixels και διακρίνονται με ευκολία τόσο τα λεμφοκύτταρα -μικρά κύτταρα, στρογγυλά και μαύρα- όσο και οι κεντροβλάστες που είναι μεγαλύτερα κύτταρα με περισσότερους πυρήνες.

Παρακάτω δείχνεται όλη η διαδικασία της τμηματοποίησης παίρνοντας μία εικόνα ως παράδειγμα. Φαίνεται η αρχική εικόνα έτσι όπως αποθηκεύεται στον υπολογιστή εργασίας .Στην εικόνα αναγνωρίστηκαν από τους Ιατρούς της ιατρικής σχολής 3 Κεντροβλάστες, οι οποίοι μαρκαρίστηκαν με κόκκινο βέλος. Αυτους τους Κεντροβλάστες το πρόγραμμα θα προσπαθήσει να ανιχνεύσει στο τέλος.

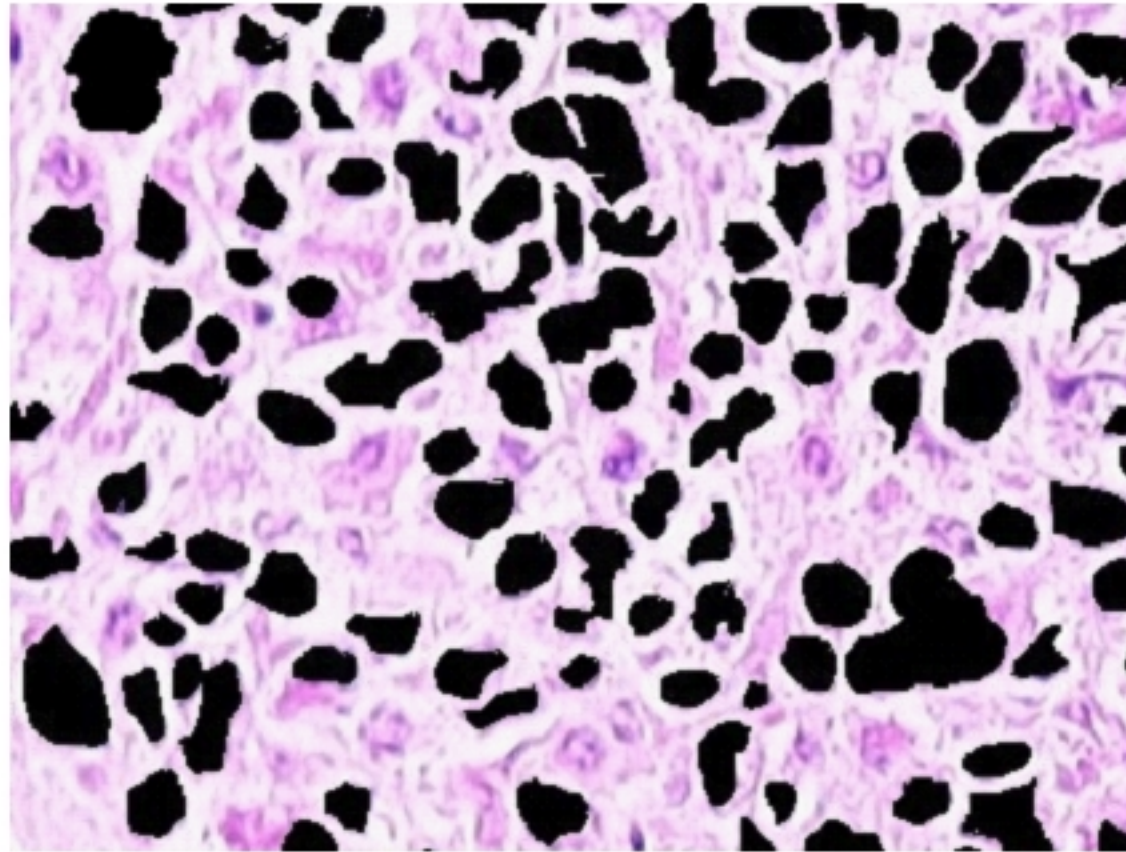


Εικόνα 4: Η εικόνα του παραδείγματος



Εικόνα 5: Τα βέλη δείχνουν τους 3 κεντροβλάστες που υπάρχουν στο δείγμα.

Στη συνέχεια κατασκευάστηκε η εικόνα Ground Truth .Η εικόνα αυτή είναι μία μάσκα εικόνα της αρχικής και μας υποδεικνύει σε ποια σημεία υπάρχουν κύτταρα. Οι υποδείξεις των κυττάρων έγιναν από ειδικευμένους Παθολογοανατόμους της Ιατρικής σχολής ΑΠΘ.



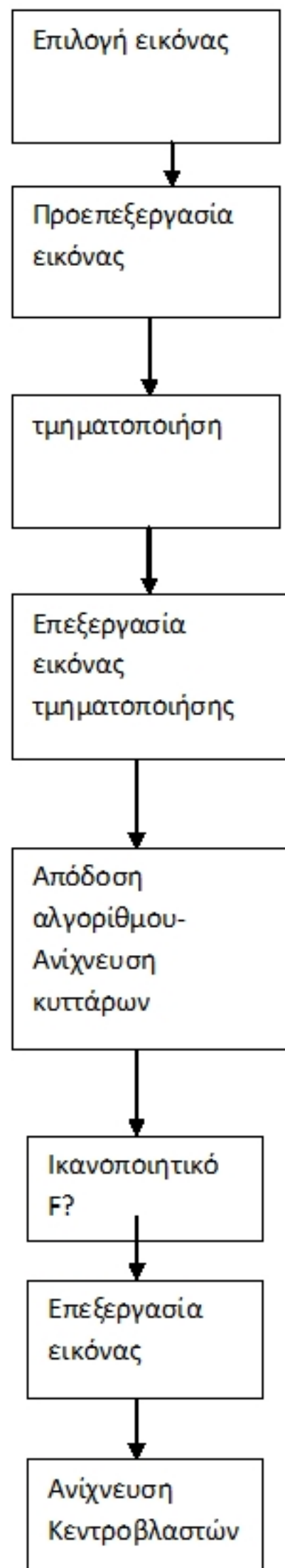
Εικόνα 6: Εικόνα Ground Truth

Την εικόνα Ground Truth την χρειαζόμαστε για να μπορέσουμε να μετρήσουμε με αξιοπιστία τα κύτταρα. Παρακάτω περιγράφονται οι αλγόριθμοι που αναπτύχθηκαν για κάθε στάδιο της επεξεργασίας εικόνας και παρατίθενται τα αποτελέσματα της εφαρμογής τους στην εικόνα . Συγκεκριμένα συγκρίθηκαν όλοι οι αλγόριθμοι τμηματοποίησης που αναφέρθηκαν παραπάνω ως προς την απόδοση τους για το καλύτερο αποτέλεσμα .

- Μέθοδος Otsu
- Μέθοδος Kapur et al
- Fuzzy C clustering
- Isodata DIPimage
- Επαναληπτική Μέθοδος
- Μέθοδος Γράφων
- Mixture Gaussian Model (Μίξη Κανονικής Κατανομής)

7.1. Λειτουργία Προγράμματος

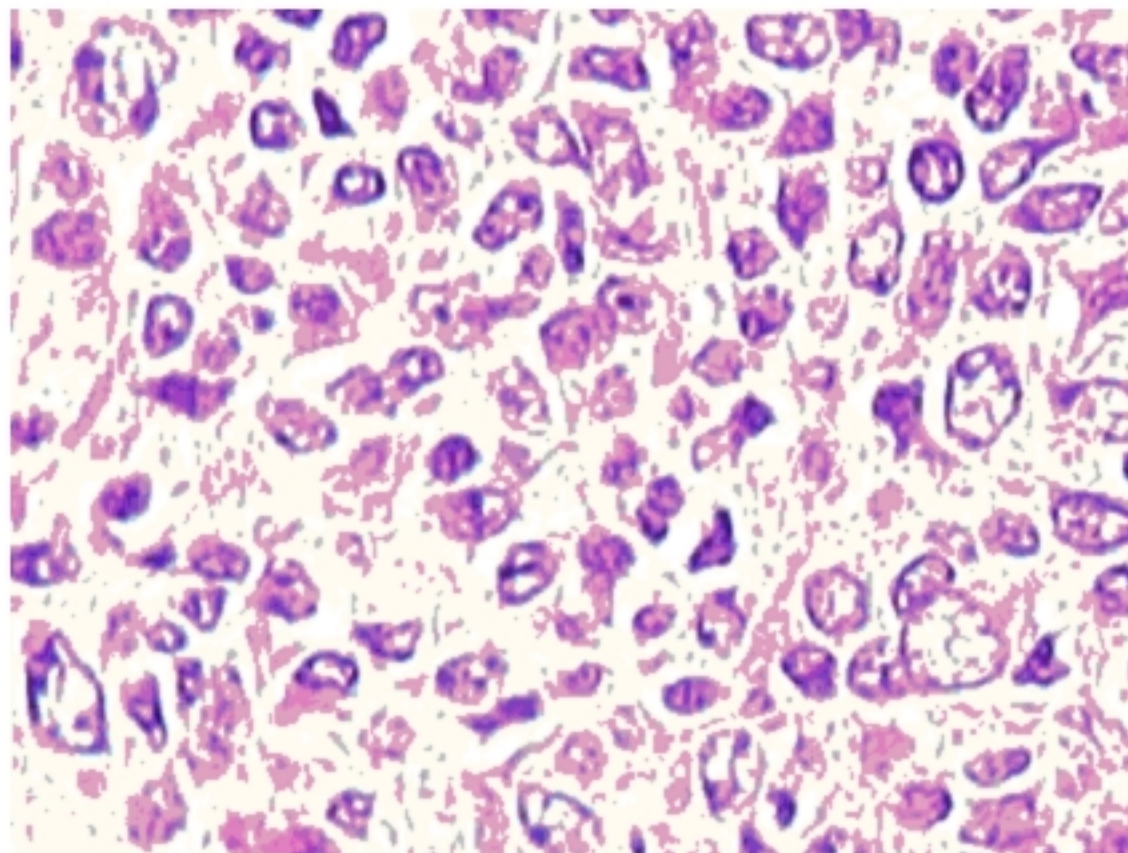
Τα βήματα της προτεινόμενης μεθοδολογίας.



7.2. Προ-επεξεργασία εικόνας

Η ανάγκη για προ-επεξεργασία της εικόνας έγκειται στο γεγονός ότι η αρχική έγχρωμη εικόνα μπορεί να περιέχει κάποια σημάδια που δεν είναι ωφέλιμο αντικείμενο και είτε οφείλεται στο μικροσκόπιο είτε οφείλεται στη χρωστική ουσία που τοποθετείται για να χρωματιστεί η εικόνα. Με αυτό τον τρόπο μπορούμε και εξαλείφουμε αυτά τα ανεπιθύμητα σημάδια που έχουν εισαχθεί στην εικόνα. Μερικές μέθοδοι είναι η εξομάλυνση για την απαλοιφή θορύβου, η ενίσχυση φωτεινότητας, η όξυνση των ακμών της εικόνας και άλλες παρόμοιες. Αν δεν γίνει κατάλληλη προ-επεξεργασία της εικόνας το έργο της τμηματοποίησης γίνεται πιο δύσκολο. Αρχικά επιλέγουμε την εικόνα που θέλουμε να τμηματοποιήσουμε.

```
foto = imread('p1.jpg');
```

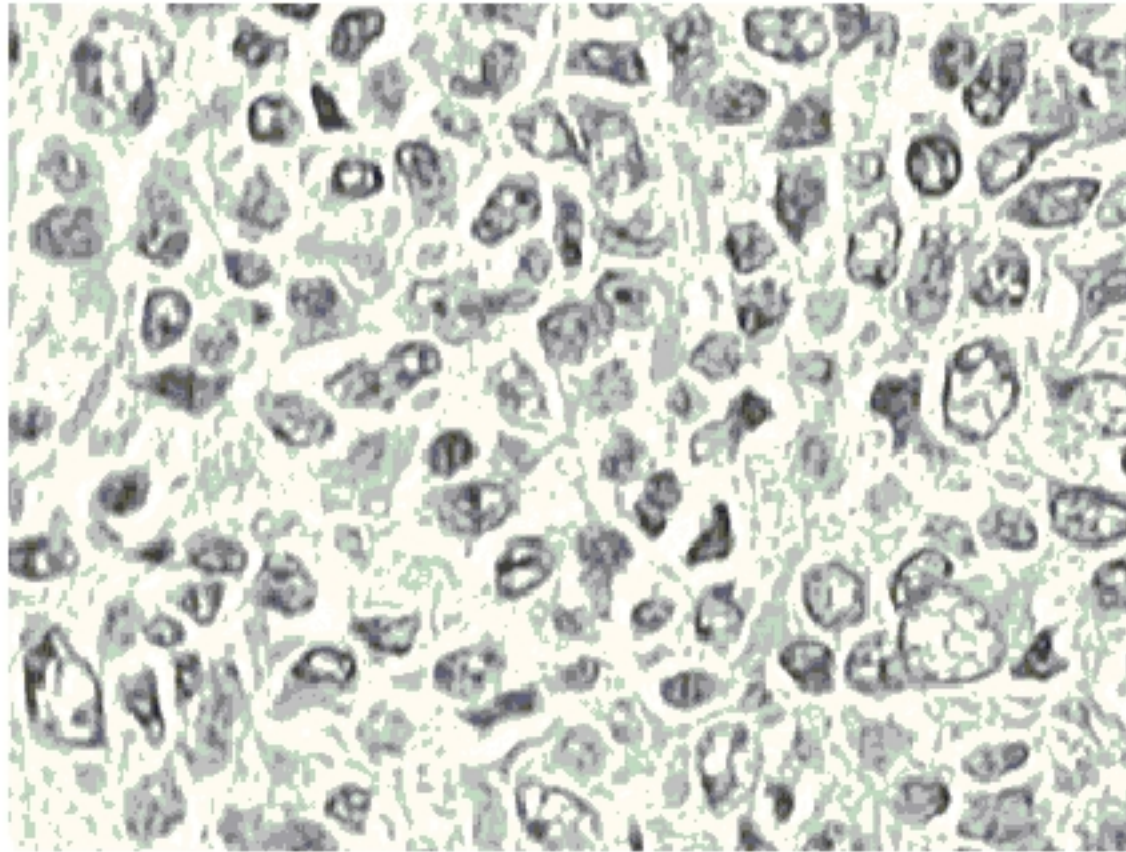


Εικόνα 7: Αρχική εικόνα

Έπειτα η εικόνα γίνεται από έγχρωμη σε γκριζα με δύο τρόπους.

- Με έτοιμη συνάρτηση του Matlab

```
foto = imread('p1.jpg');  
imgray=rgb2gray(foto);  
figure(1),imshow(imgray);  
title(['grayscale ']);
```



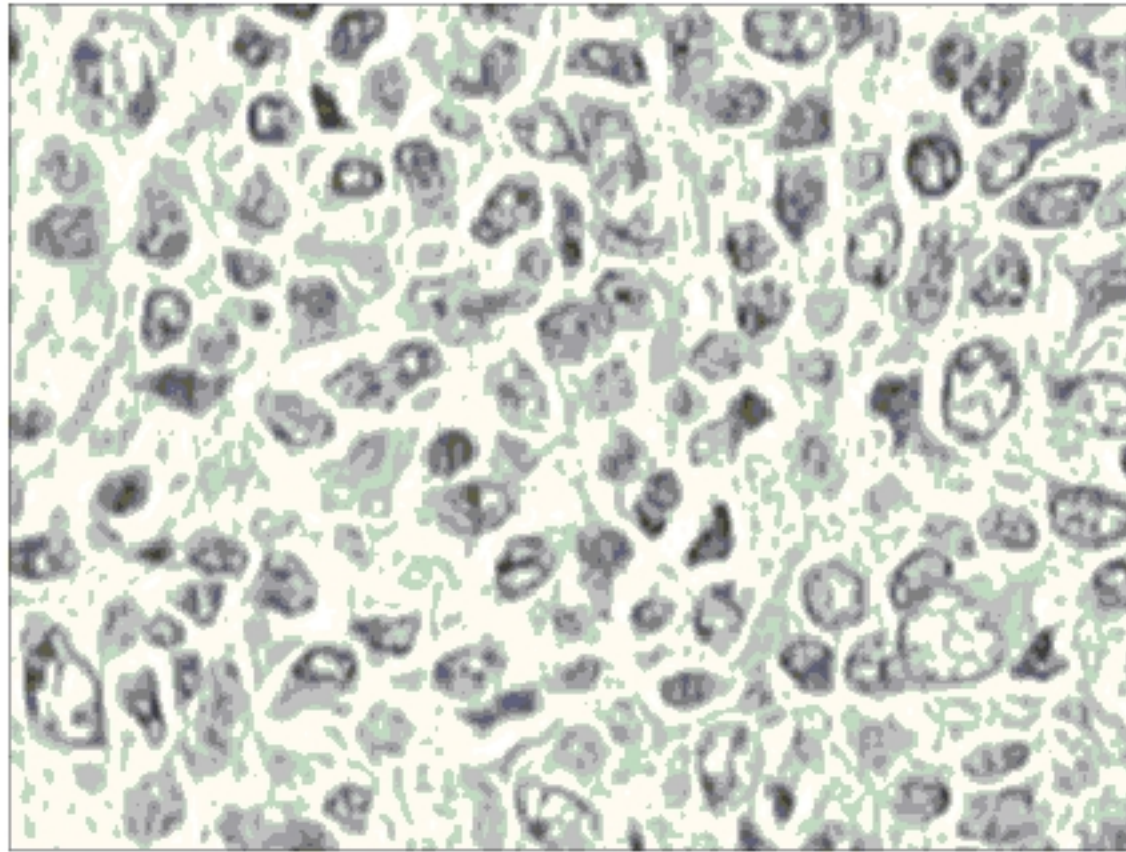
Εικόνα 8: Grayscale εικόνα Matlab

- Με αφαίρεση χρωμάτων μέσω του αλγορίθμου PCA

```
% PCA *****
A=double(foto);
X=im2col(A(:,:,1),[size(A,1),size(A,2)]);
Y=im2col(A(:,:,2),[size(A,1),size(A,2)]);
Z=im2col(A(:,:,3),[size(A,1),size(A,2)]);
I=cat(2,X,Y,Z);
[coefs,scores,variances,t2] = princomp(I);
s=1*scores(:,1);
m=min(s);
ma=max(s);
t=255*(s-min(s))/(max(s)-min(s));
t=uint8(t);
PCA_im=col2im(t,[size(A,1),size(A,2)],[size(A,1),size(A,2)],'distinct')
imgray=PCA_im;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
```

Στην γκριζα εικόνα εισάγουμε ένα φίλτρο Gauss για να γίνει η εικόνα περισσότερο ομαλή.

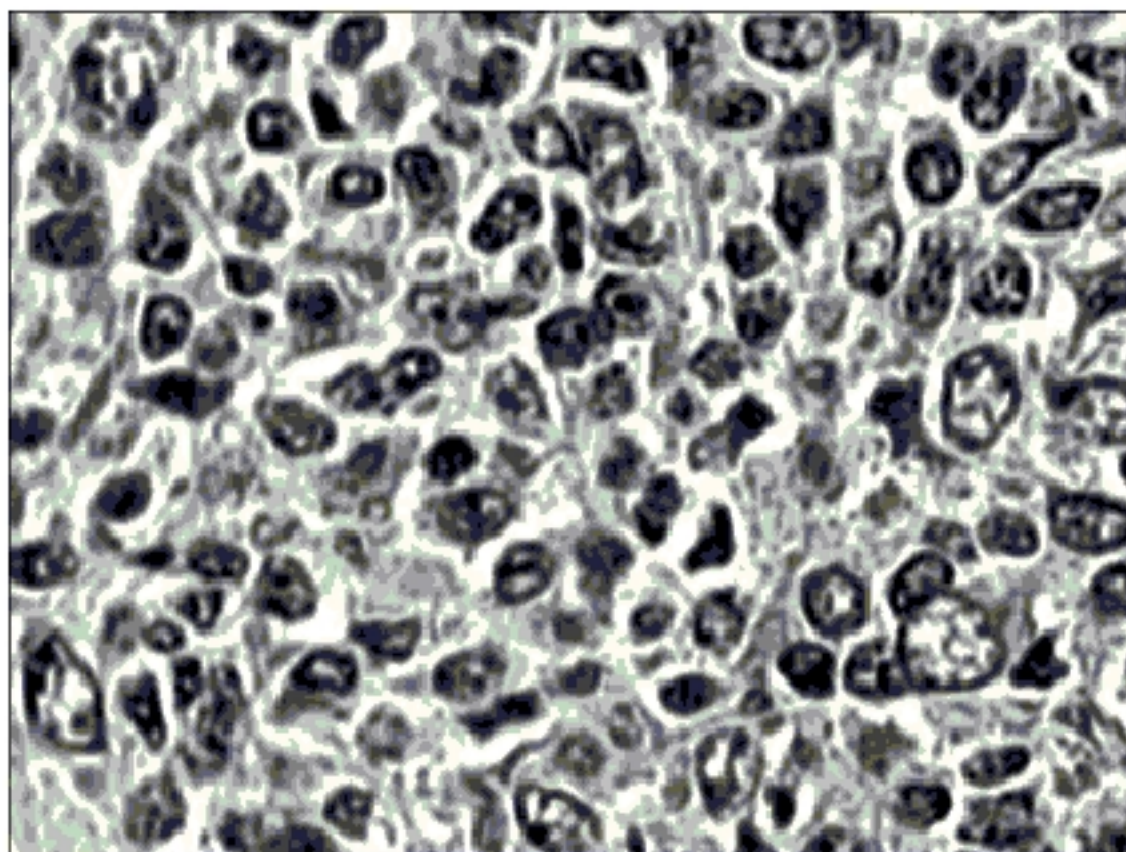
```
G = fspecial('gaussian',[3 3],2);
Ig = imfilter(imgray,G);
```



Εικόνα 9: Εισαγωγή φίλτρου Gauss

Πριν από την τμηματοποίηση βρέθηκε ότι είναι πολύ σημαντικό να γίνει εξισορρόπηση ιστογράμματος. Με αυτό τον τρόπο τονίζονται παραπάνω οι περιοχές των κυττάρων από το κυτταρόπλασμα.

$adhist = adapthisteq(Ig);$

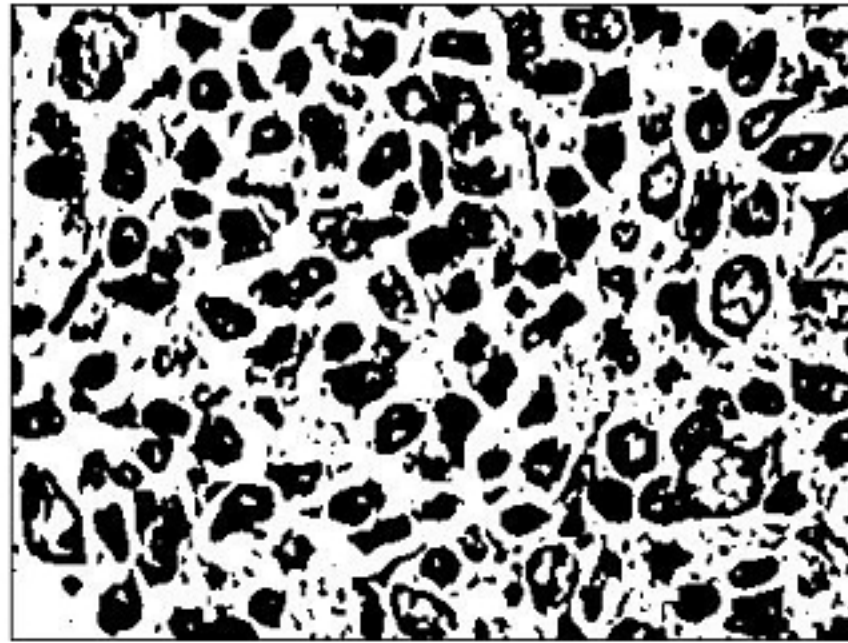


Εικόνα 10: Εξισορρόπηση ιστογράμματος

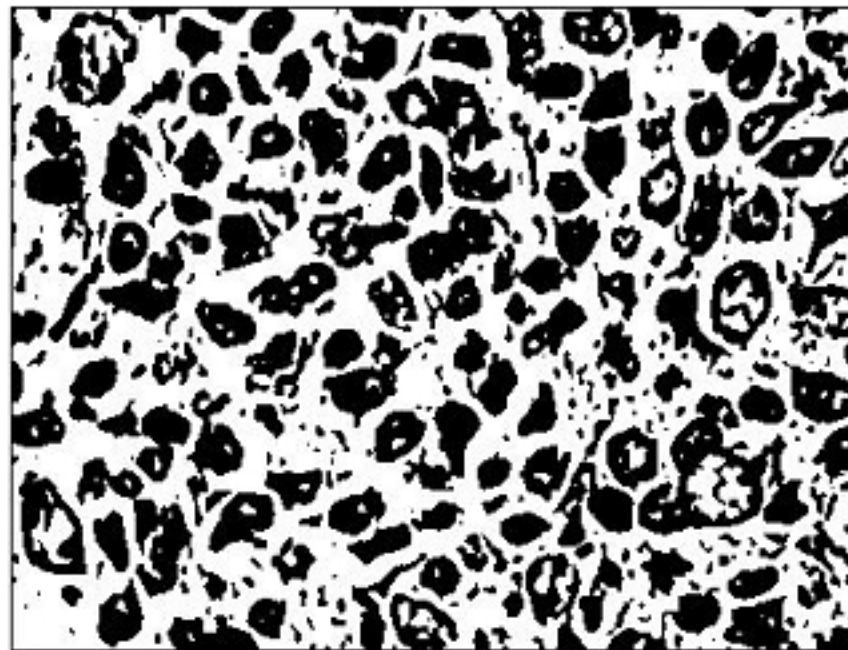
7.3. Τμηματοποίηση

Αφού τελείωσε η προ-επεξεργασία της εικόνας η επόμενη φάση είναι η τμηματοποίηση. Μέχρι τώρα τα στάδια είναι κοινά για όλους τους αλγορίθμους. Στην

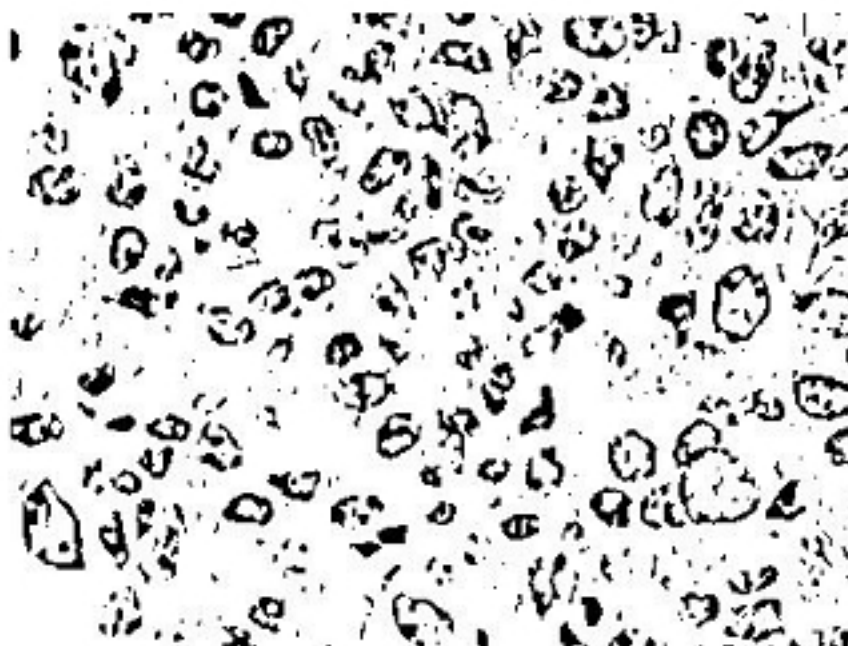
τμηματοποίηση δοκιμάζεται ξεχωριστά κάθε ένας αλγόριθμος. Για ευνόητους λόγους (χώρου) οι κώδικες των αλγορίθμων βρίσκονται στο παράρτημα.



Εικόνα 11: Αλγόριθμος Otsu με Grayscale Matlab



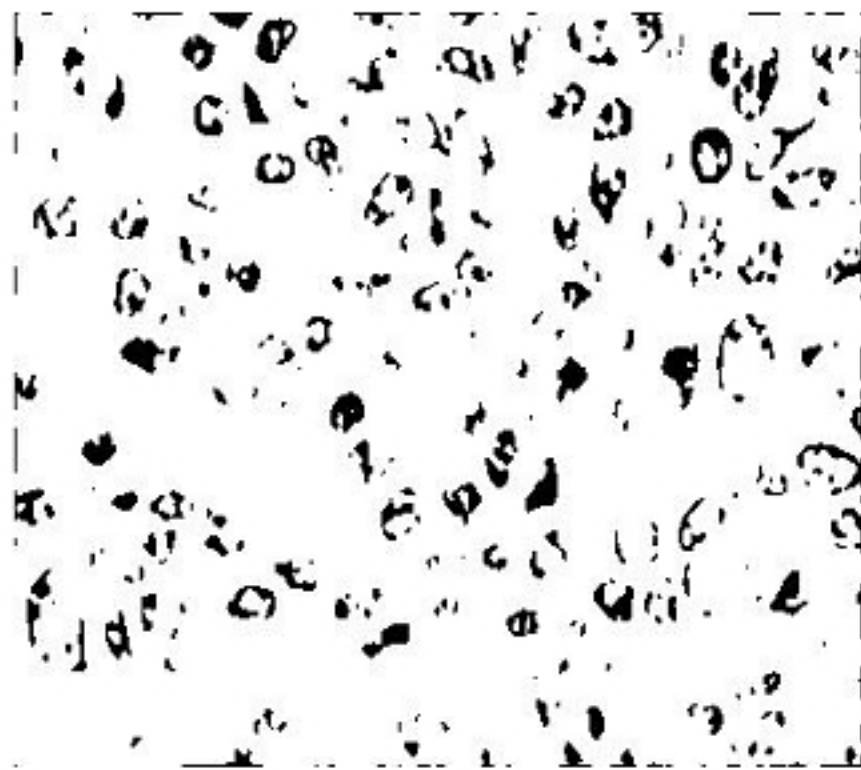
Εικόνα 12: Αλγόριθμος Otsu με Grayscale PCA



Εικόνα 13: Αλγόριθμος Mixture Gaussian με Grayscale Matlab



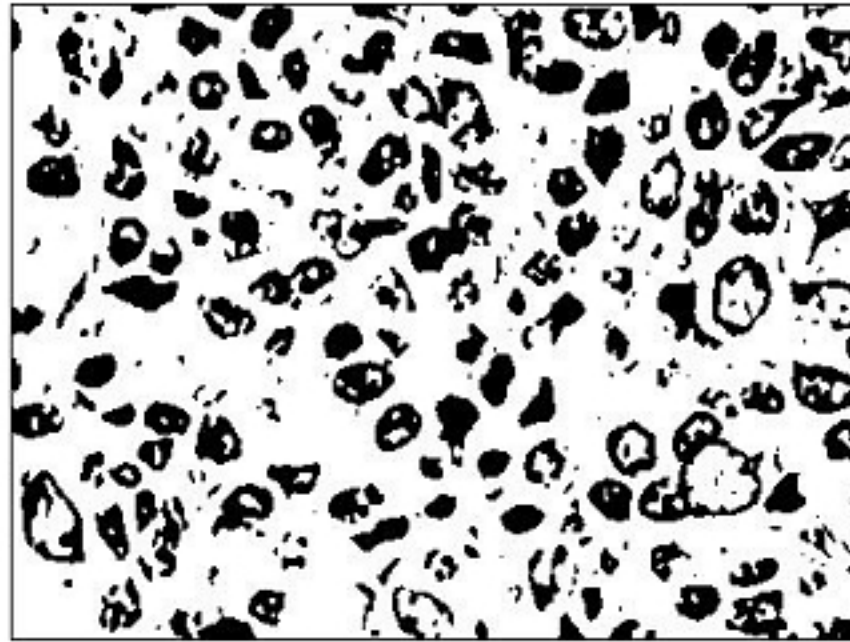
Εικόνα 14: Αλγόριθμος Mixture Gaussian με Grayscale



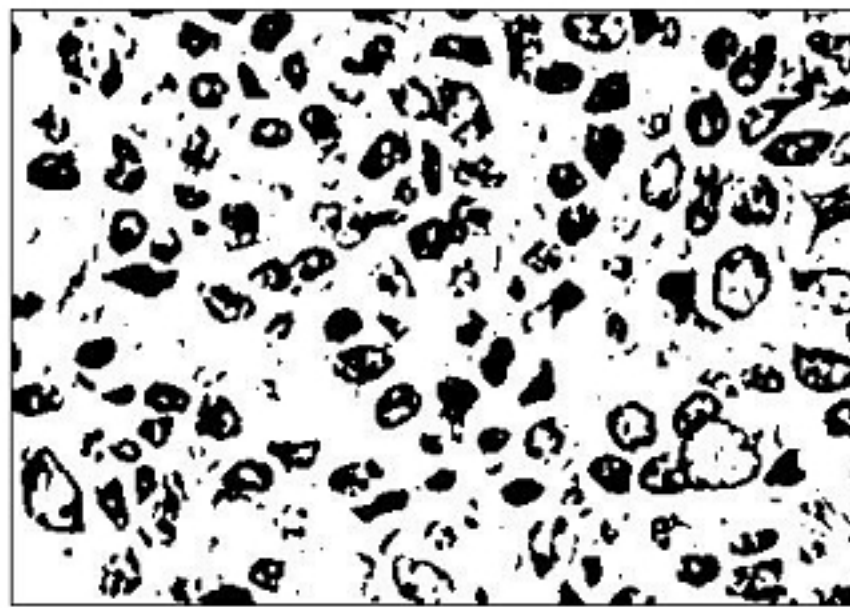
Εικόνα 15: Αλγόριθμος Fuzzy-C Cluster με Grayscale Matlab



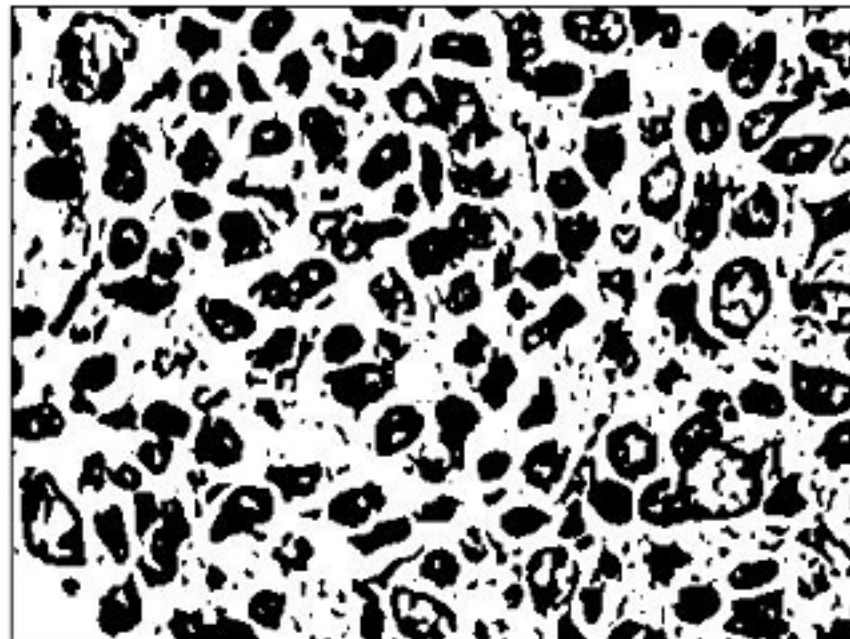
Εικόνα 16: Αλγόριθμος Fuzzy-C Cluster με Grayscale PCA



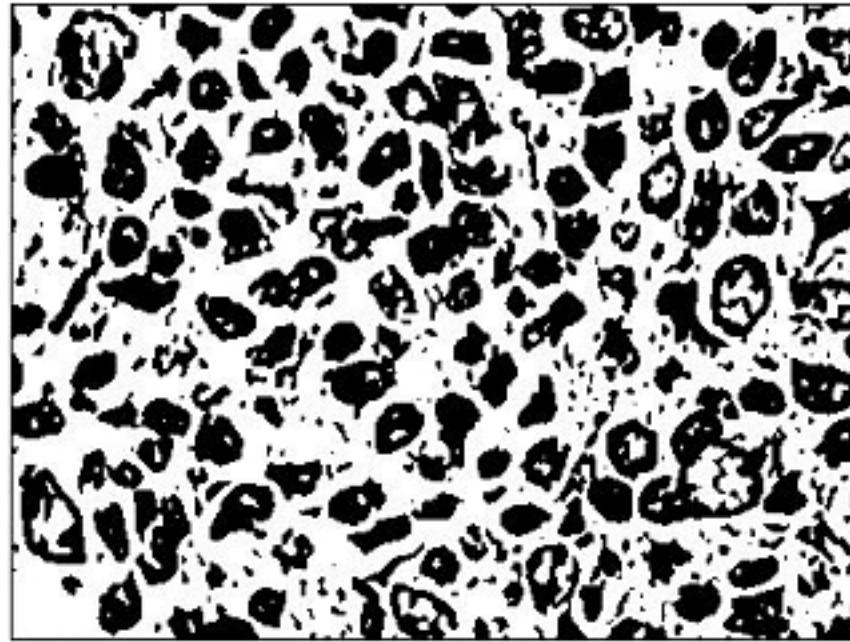
Εικόνα 17: Αλγόριθμος Isodata με Grayscale Matlab



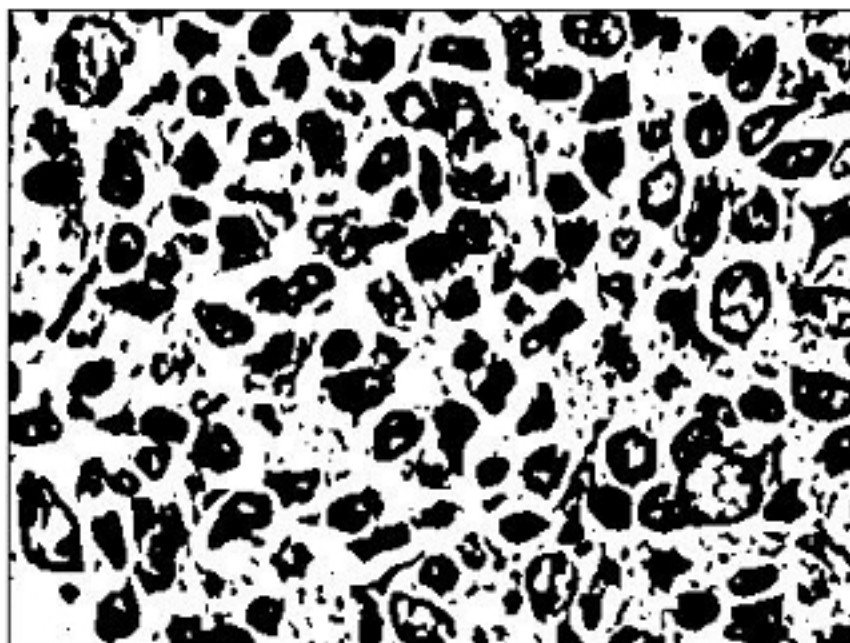
Εικόνα 18: Αλγόριθμος Isodata με Grayscale PCA



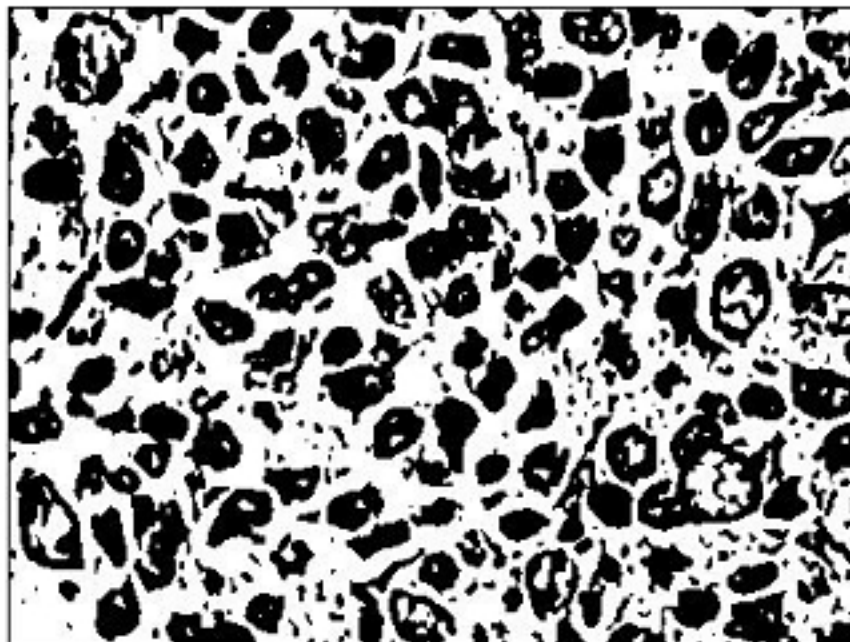
Εικόνα 19: Αλγόριθμος Kapur με Grayscale Matlab



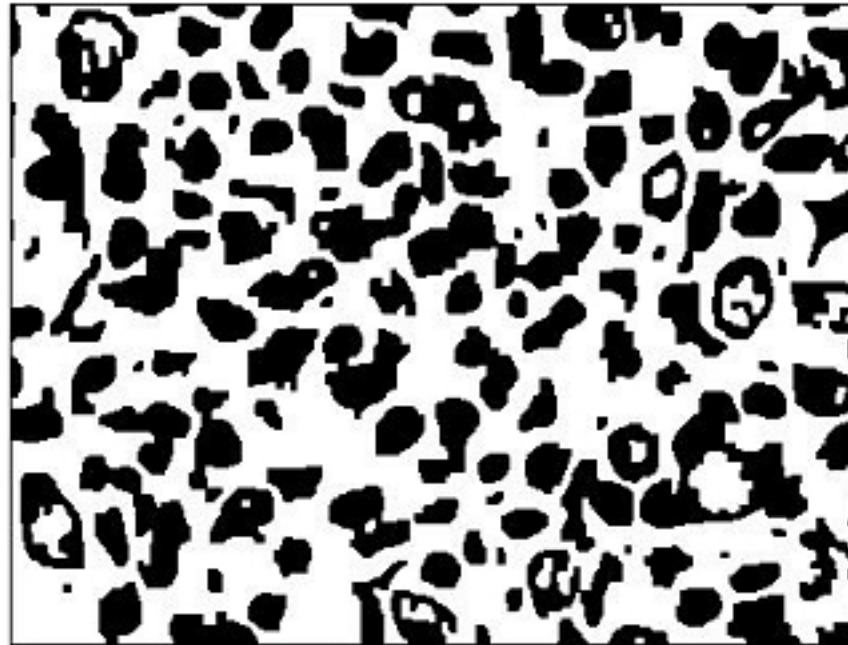
Εικόνα 20: Αλγόριθμος Καρur με Grayscale PCA



Εικόνα 21: Επαναληπτικός Αλγόριθμος με Grayscale Matlab



Εικόνα 22: Επαναληπτικός Αλγόριθμος με Grayscale PCA



Εικόνα 23: Αλγόριθμος Graphcuts

Ένα πρώτο συμπέρασμα για αυτήν την είναι ότι οι αλγόριθμοι Graph Cuts και Otsu έχουν καλύτερα αποτελέσματα .

7.4. Επεξεργασία εικόνας

Μετά την τμηματοποίηση σειρά έχει η επεξεργασία στην τμηματοποιημένη εικόνα αυτή τη φορά . Αρχικά αφαιρούνται αντικείμενα που είναι πολύ μικρότερα των κυττάρων. Ο αριθμός 200 αναφέρεται σε pixel. Βρέθηκε πειραματικά ότι ο αριθμός αυτός αντιστοιχεί σε σημεία που δεν ανήκουν σε κύτταρα. Στην ουσία γίνεται ένα αρχικό φιλτράρισμα των κυττάρων.

```

small = bwareaopen(BW,P,8);
small=1-small;
cc = bwconncomp(small);
stats = regionprops(cc, 'Area');
idx = find([stats.Area] > 200);
region=ismember(labelmatrix(cc), idx); %κρατάει αντικείμενα που
είναι μεγαλύτερα των 200 pixel

```

Αμέσως μετά πραγματοποιούμε μία σειρά από μαθηματικές μορφολογικές πράξεις.

```

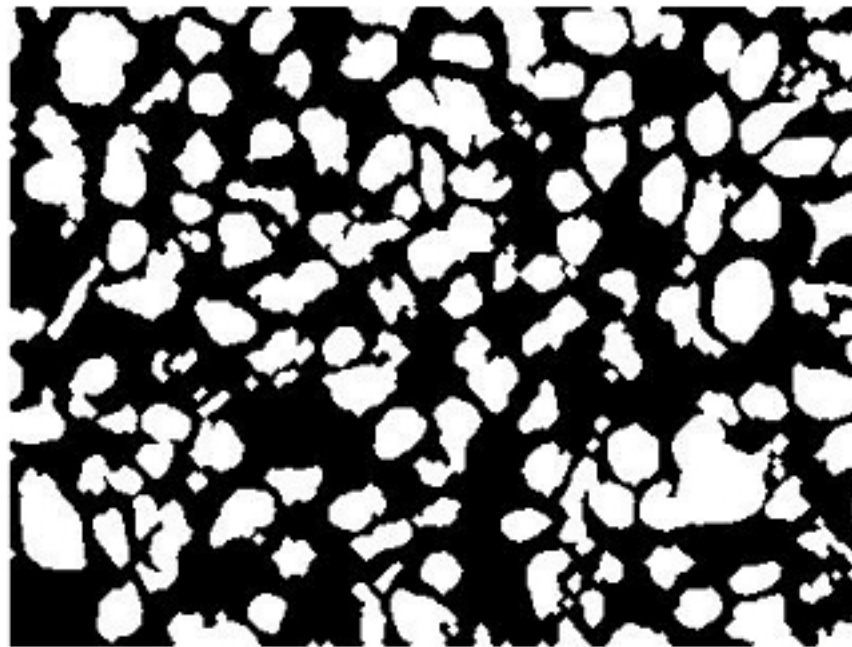
diskos=strel('disk',2,0);
after_strel=imopen(region,diskos);
dis1=strel('line',1,90);
dis2=strel('line',1,90);
dil=imdilate(after_strel,dis1);
dil=imdilate(dil,dis2);
uber=imfill(dil,'holes');

```

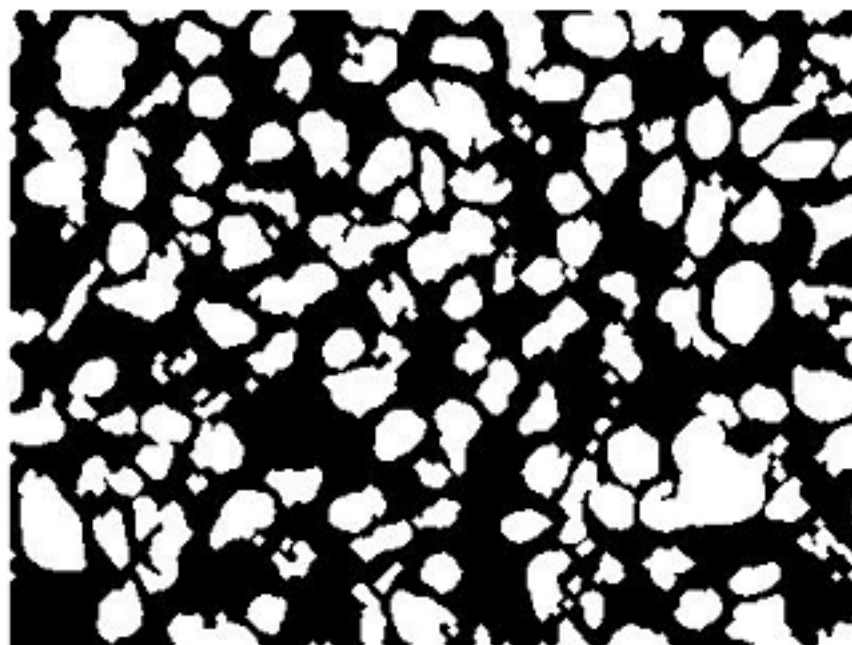
Σκοπός είναι σε αυτό το σημείο να δημιουργηθεί μία εικόνα που να πλησιάζει όσο το δυνατό καλύτερα στην εικόνα αναφοράς. Γίνεται δηλαδή μία ανακατασκευή ,μία

αναδόμηση της εικόνας. Το καλύτερο αποτέλεσμα είναι συνδεδεμένο με την αρχική τμηματοποίηση.

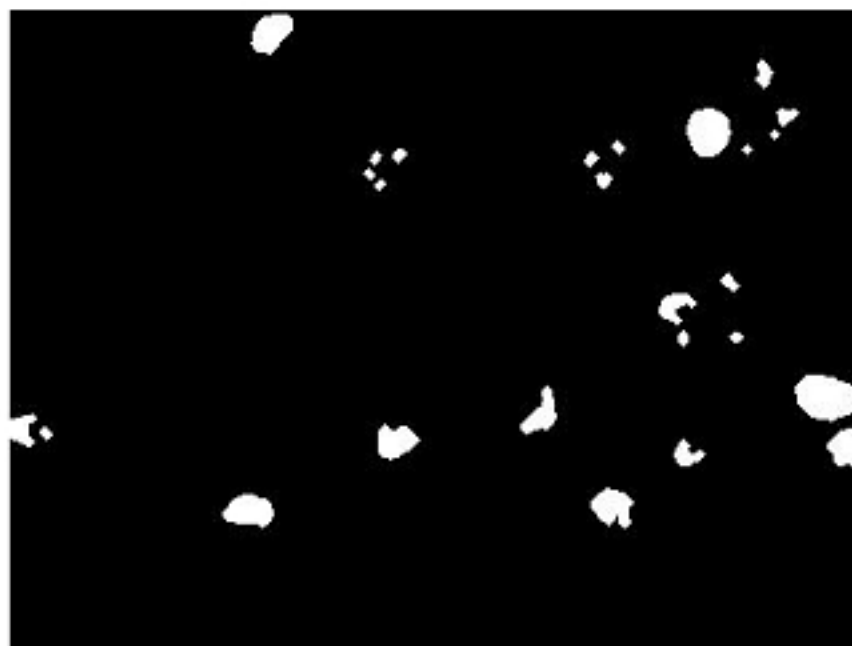
Παρακάτω δίδονται οι τελικές εικόνες επεξεργασίας.



Εικόνα 24: Otsu grayscale matlab τελική



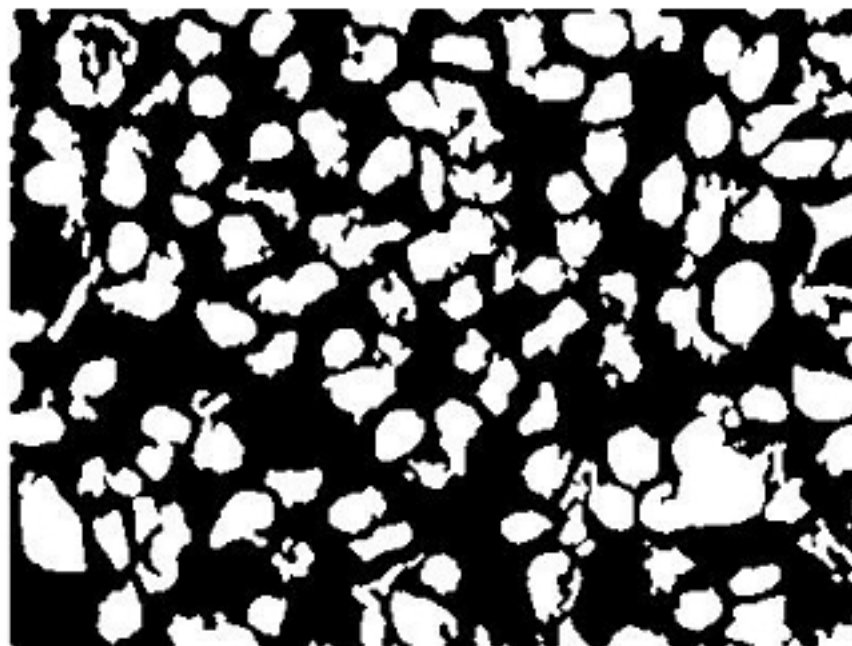
Εικόνα 25: Otsu grayscale PCA τελική



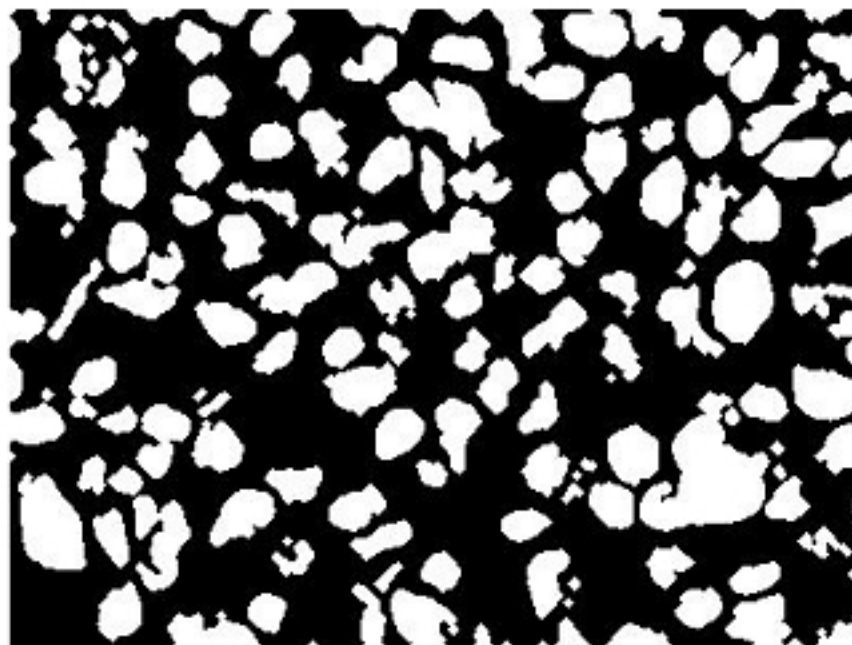
Εικόνα 26: Mixture Gaussian Grayscale Matlab - τελική



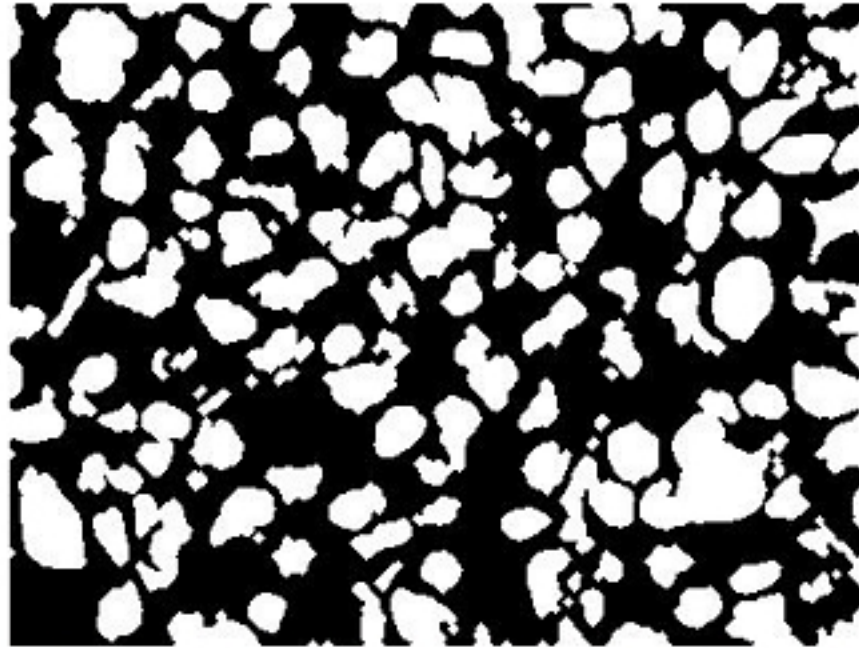
Εικόνα 27: Mixture Gaussian Grayscale PCA τελική



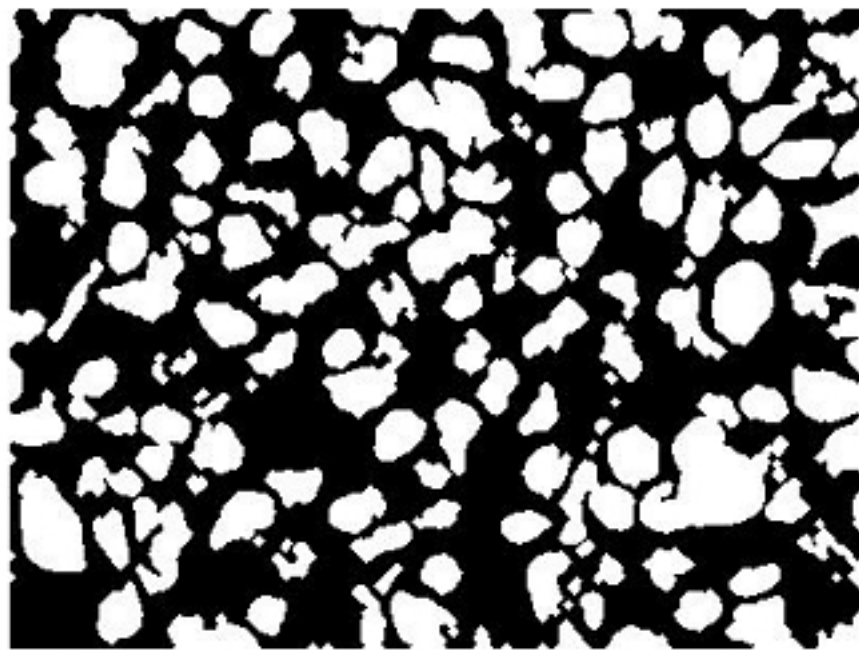
Εικόνα 28: Kapur Grayscale Matlab -τελική



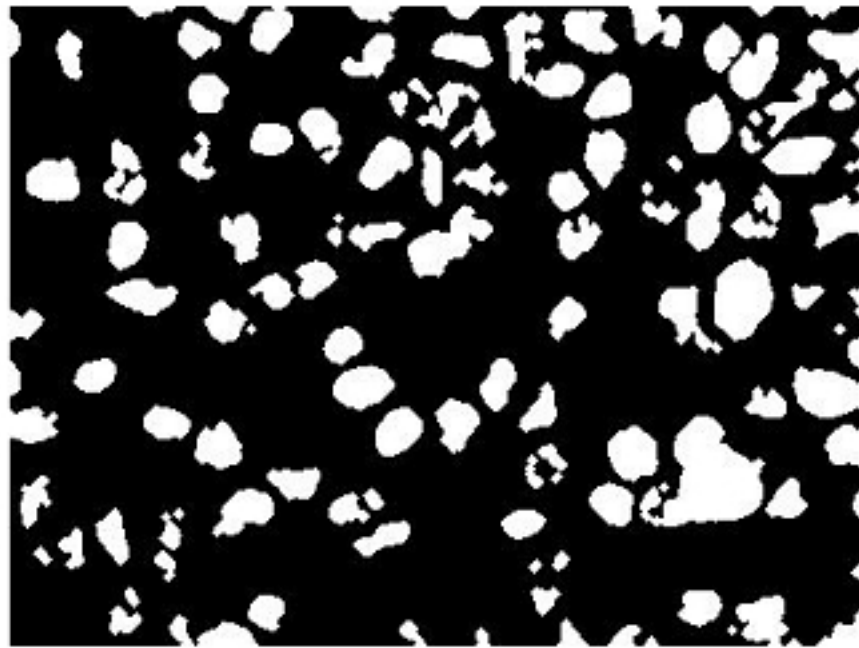
Εικόνα 29: Kapur Grayscale PCA -τελική



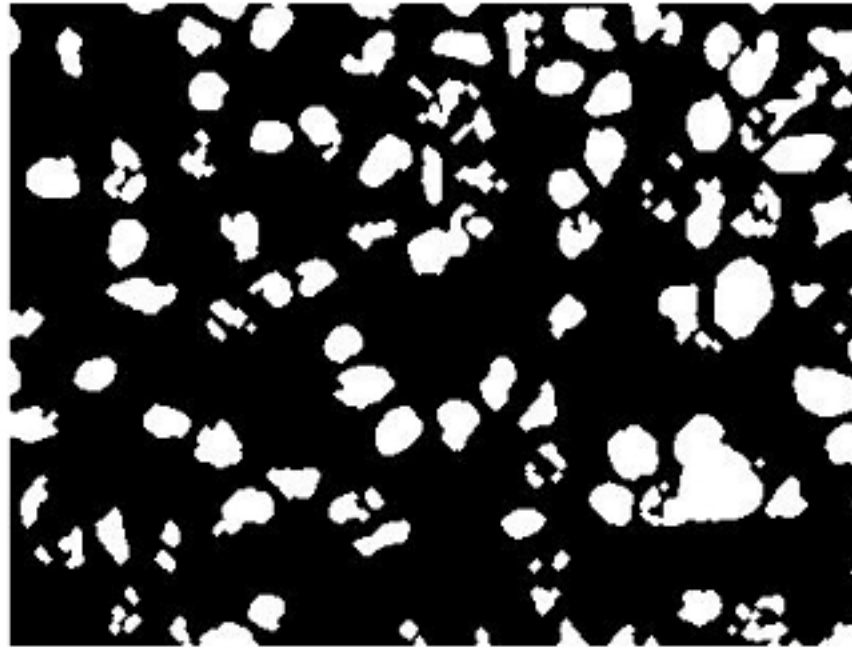
Εικόνα 30: Αλγόριθμος επανάληψης Grayscale Matlab –τελική



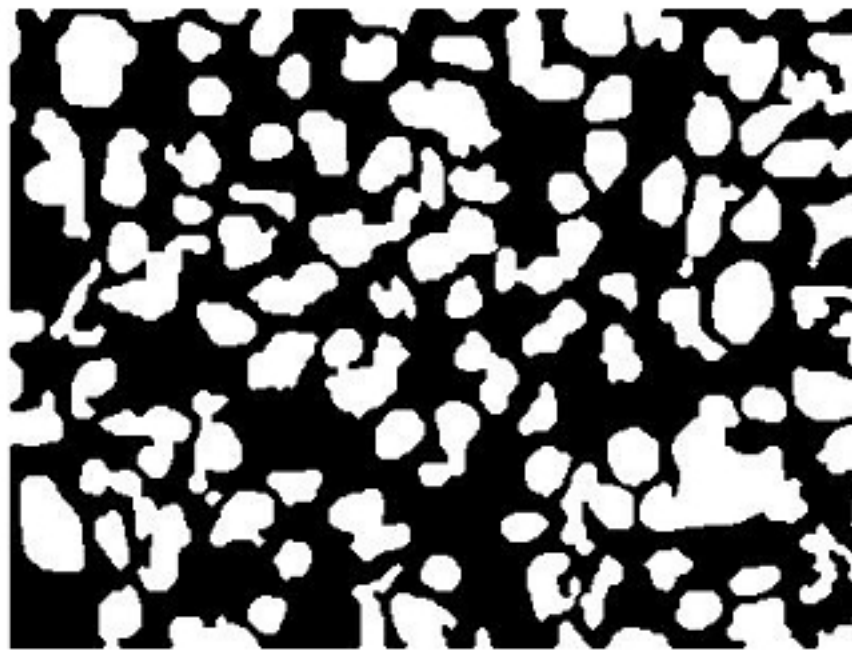
Εικόνα 31: Αλγόριθμος επανάληψης Grayscale PCA-τελική



Εικόνα 32: Isodata Grayscale Matlab –τελική



Εικόνα 33: Isodata Grayscale PCA-τελική



Εικόνα 34: Graphcuts –τελική

7.5. Μετρικές εκτίμησης απόδοσης

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι για να εκτιμηθεί η κάθε μέθοδος το πόσο καλή απόδοση έχει θα πρέπει να υπολογιστεί η ακρίβεια (precision) και η ανάκληση (recall) της τμηματοποιημένης εικόνας με την εικόνα αναφοράς ground truth image και στη συνέχεια να υπολογιστεί ο Αρμονικός Μέσος όρος. Αυτές οι δύο μετρικές αποτελούν τις πιο σημαντικές που μπορούμε να συναντήσουμε στην εκτίμηση απόδοσης. Παρόλα αυτά δεν είναι και οι μοναδικές, υπάρχουν και άλλες εναλλακτικές λύσεις. Το precision και το recall, είναι δύο ευρέως διαδεδομένες μετρικές για τον υπολογισμό της ποιότητας των αποτελεσμάτων και χρησιμοποιούνται σε διάφορα επιστημονικά πεδία όπως είναι το statistical classification και η ανάκτηση πληροφορίας. Στο τομέα του statistical classification, έχουμε ως στόχο να χωρίσουμε κάποια συλλογή πραγμάτων σε ομάδες αντικειμένων

που εμφανίζουν κάποια σχετικότητα μεταξύ τους ως προς τα υπόλοιπα αντικείμενα της συλλογής. Το precision και το recall, μας βοηθούν να καθορίσουμε το πόσο σωστά χωρίστηκε η συλλογή στις αντίστοιχες ομάδες.[24]

Η **Ανάκληση** (recall) ορίζεται ως ο λόγος του αριθμού των σχετικών pixel που ανακτήθηκαν προς το συνολικό αριθμό pixel που θα περιμέναμε να ομαδοποιηθούν.

$$recall = \frac{\text{αριθμός pixel που ανακτήθηκαν}}{\text{αριθμό pixel που θα περιμέναμε να ομαδοποιηθούν}}$$

$$recall = \frac{tp}{tp + fn}$$

Το **Precision** (ακρίβεια) ορίζεται ως ο λόγος του αριθμού pixel που ανακτήθηκαν σωστά προς τον αριθμό pixel της εικόνας αναφοράς που θεωρούνται σωστά.

$$precision = \frac{\text{αριθμός pixel που ανακτήθηκαν σωστά}}{\text{αριθμό pixel της εικόνας αναφοράς που θεωρούνται σωστά}}$$

$$precision = \frac{tp}{tp + fp}$$

Σημείωση:

True positive (tp): Ποια αναγνωρίστηκαν σωστά

False positive (fp): Ποια απορρίφθηκαν σωστά

True negative (tn): Ποια αναγνωρίστηκαν λανθασμένα

False negative (fn): Ποια απορρίφθηκαν λανθασμένα

Σε ένα ιδανικό σύστημα πληροφορίας, αυτές οι δύο μετρικές πρέπει να παίρνουν τις μέγιστες τιμές που τους επιτρέπονται. Οι τιμές που μπορούν να πάρουν είναι εύκολα κατανοητό ότι είναι μεταξύ του 0 και του 1. Άρα η μονάδα αποτελεί και την μεγιστοποίηση αυτών των δύο μετρικών. Συγκεκριμένα, το Precision με 1 υποδηλώνει ότι όλα τα κείμενα τα οποία επιστρέφονται είναι σχετικά, ενώ το recall αν

πάρει μέγιστη τιμή υποδηλώνει ότι όλα τα σχετικά κείμενα επιστρέφονται, χωρίς όμως να έχουμε πληροφορία για τα μη σχετικά κείμενα. Όπως και στην περίπτωση της ανάκλησης, η καλύτερη δυνατή ακρίβεια που μπορούμε να πετύχουμε είναι 100%. Από τους ορισμούς της ανάκλησης και της ακρίβειας παρατηρούμε ότι αυτό που αλλάζει είναι ο παρονομαστής στις δύο αντίστοιχες σχέσεις, ενώ ο αριθμητής είναι ίδιος. Με τη βοήθεια της ανάκλησης και της ακρίβειας μπορούμε να αποτιμήσουμε κατά πόσον τα pixel ομαδοποιήθηκαν σωστά ή όχι.[24]

7.6. Αρμονικός Μέσος Όρος

Έχοντας δει και αναλύσει τις δύο βασικές μετρικές, το precision και το recall, υπάρχει ακόμη μία μετρική η οποία βασίζεται σε αυτά τα δύο και ονομάζεται Αρμονικός Μέσος όρος (F). Αυτή η μέθοδος είναι αρκετά δημοφιλής, συνδυάζει τις παραπάνω και υπολογίζει τον αρμονικό τους μέσο γι αυτό αποτελεί και μια μέθοδο η οποία είναι αξία αναφοράς. Η απλή μορφή της F, δίνεται από τον τύπο ο οποίος είναι γνωστός F μετρική, επειδή το recall και το precision είναι ισοβαρή στον συγκεκριμένο τύπο. Αυτό όμως δεν είναι υποχρεωτικό, μπορεί να υπάρχουν και ειδικές περιπτώσεις που καθορίζεται από την ανισότητα των βαρών και την επιλογή της μετρικής που θα λάβουμε υπόψη περισσότερο μεταξύ του precision ή του recall. [24]

$$F = 2 * \frac{\text{precision} * \text{recall}}{\text{precision} + \text{recall}}$$

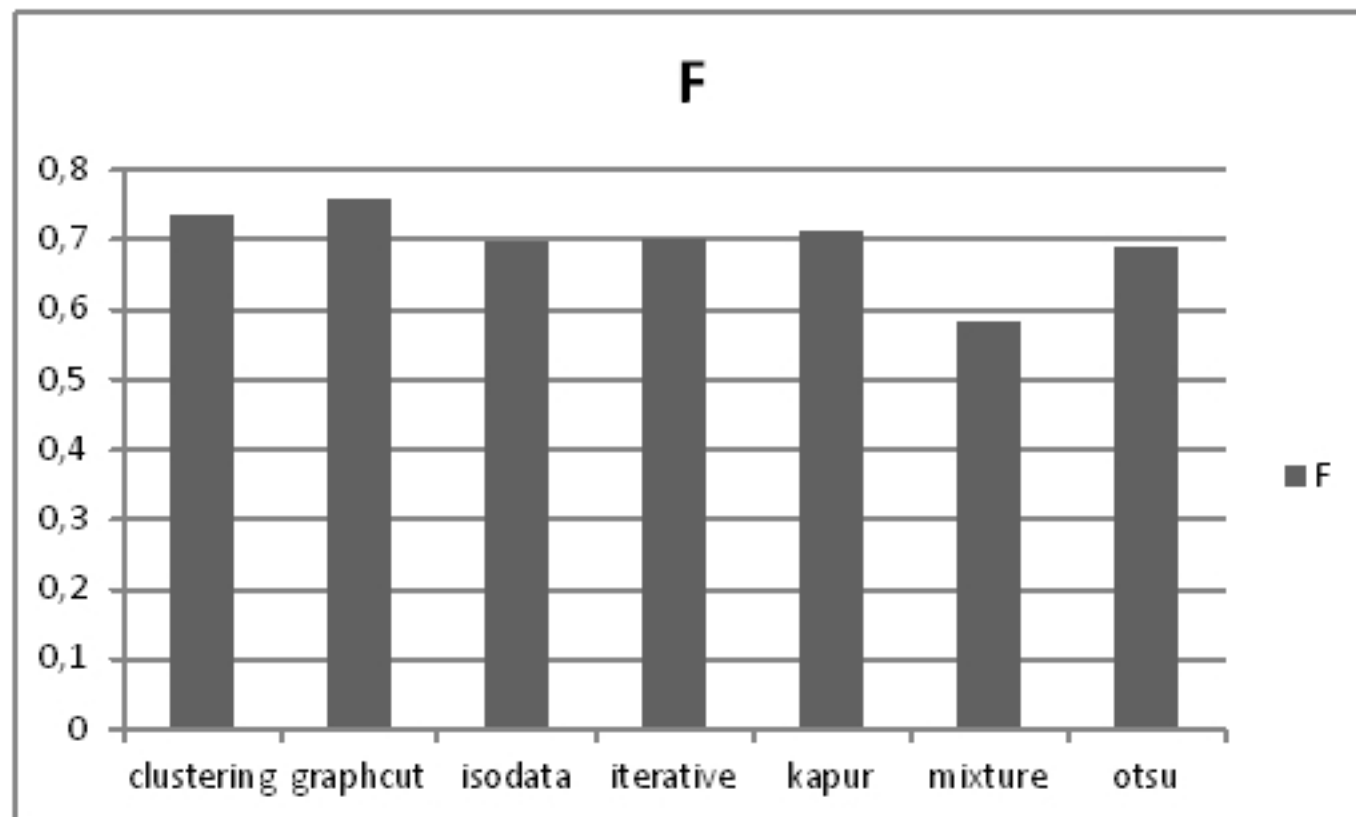
7.7. Πειραματικά αποτελέσματα αλγορίθμων κατάτμησης

Σε αυτό το σημείο μετριέται η απόδοση του κάθε αλγορίθμου. Οι μετρήσεις αφορούν τα true positive, false positive, true negative και false negative pixel της εικόνας. Από αυτά στη συνέχεια θα υπολογιστεί ο αρμονικός μέσος όρος. Η τμηματοποιημένη εικόνα συγκρίνεται pixel – pixel με την εικόνα που έχει οριστεί ως εικόνα αναφοράς. Η εικόνα αυτή θεωρείται ότι έχει αναγνωρισθεί κάθε κύτταρο της από Ιατρική ομάδα. Η λογική είναι απλή: μετρούνται πόσα αντικείμενα ξεχώρισε ο αλγόριθμος και τα αναγνώρισε ως κύτταρα σύμφωνα με την εικόνα αναφοράς. Υπολογίζεται η ακρίβεια και η ανάκληση και έπειτα ο Αρμονικός μέσος Όρος.

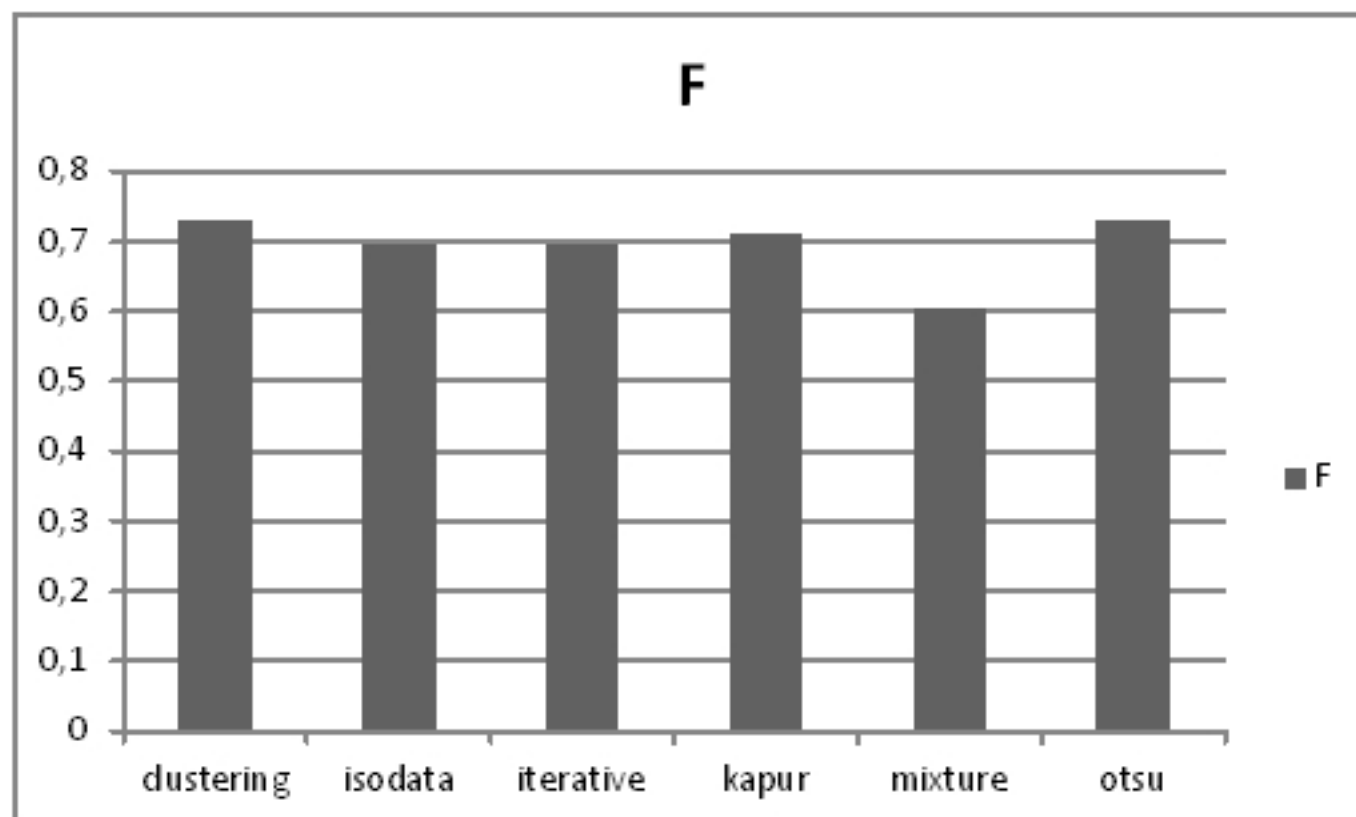
Αλγόριθμος	Precision	Recall	F
Otsu_grayscale	0.6878	0.9441	0.7958
Otsu_PCA	0.6926	0.9446	0.7992
Mix_grayscale	0.2820	0.9062	0.4301
Mix_PCA	0.2810	0.9005	0.4283
Kapur_Grayscale	0.7284	0.9026	0.8062
Kapur_PCA	0.7290	0.9054	0.8077
Iterative_grayscale	0.6878	0.9441	0.7958
Iterative_PCA	0.6926	0.9446	0.7992
Graphcuts	0.6899	0.9439	0.7971
Clustering_Grayscale	0.9910	0.0214	0.0419
Clustering_PCA	-----	-----	-----
Isodata_grayscale	0.8859	0.6660	0.7604
Isodata_PCA	0.8913	0.6385	0.7440

Πίνακας 1.Αποτελέσματα τιμών Precision ,Recall και F

Εφ' όσον ένας αλγόριθμος καταλήξει να έχει ένα υψηλό νούμερο Αρμονικού μέσου Όρου ,που αυτό σημαίνει ότι είχε επιτυχία στην τμηματοποίηση και άρα κατά συνέπεια έχει βρει πολλά αντικείμενα που ανήκουν σε κύτταρα, τότε γίνεται ακόμη ένα βήμα: την εύρεση των Κεντροβλαστών καρκινικών κυττάρων. Η σύγκριση θα συνεχιστεί με την επιλογή των τριών αλγορίθμων που βρέθηκε να έχουν υψηλό F. Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα για τις υπόλοιπες 16 εικόνες . Εδώ ο αριθμός F αναφέρεται στο μέσο οπο των εικόνων.



Εικόνα 16: αποτελέσματα data set με grayscale Matlab



Εικόνα 17: αποτελέσματα data set με PCA

Από τα αποτελέσματα βλέπουμε ότι υπάρχει μία σταθερότητα στις τιμές των αποτελεσμάτων, αλλά φαίνεται ότι ο αλγόριθμος ξεχωρίζει ελαφρώς λίγο περισσότερο από τους υπόλοιπους.

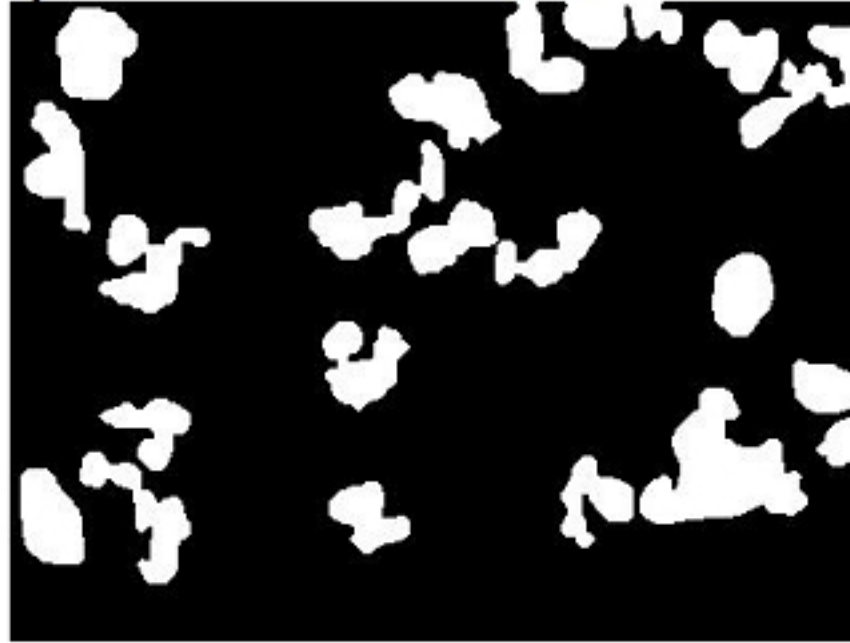
7.8. Αποκόλληση κυττάρων και ανίχνευση με βάση το μέγεθος

Οι κεντροβλαστοί σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι μεγάλα κύτταρα και ανήκουν στη κατηγορία των καρκινικών κυττάρων[27]. Σε αυτό το βήμα γίνεται προσπάθεια απομόνωσης από τα υγιή κύτταρα.


```

cc1 = bwconncomp(uber);
stats = regionprops(cc1, 'Area');
idx1 = find([stats.Area] > 700);
bigstay = ismember(labelmatrix(cc1), idx1);

```



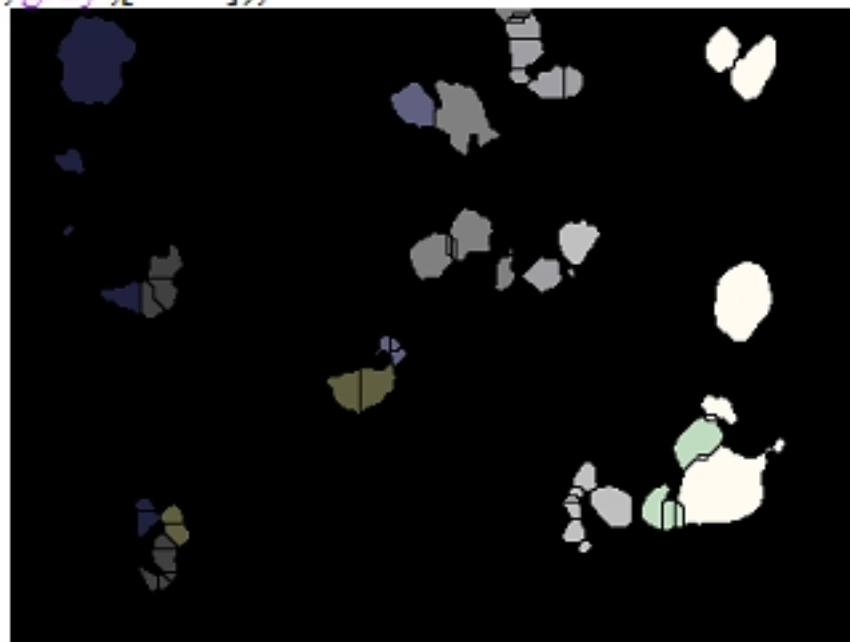
Εικόνα 35: Συγκράτηση μεγάλων κυττάρων

Το ερώτημα είναι πως θα καταλάβει το πρόγραμμα ότι διώχνει τα σωστά κύτταρα και όχι τα υγιή. Ο μετασχηματισμός απόστασης σε συνεργασία με τον αλγόριθμο Watershed ανιχνεύουν τις ασυνέχειες στα κύτταρα. Οι αλγόριθμοι ανακαλύπτουν αυτές τις ασυνέχειες και τις μαρκάρουν ως νέα αντικείμενα. Αφού έχει ασυνέχειες άρα ένα κύτταρο θα αποτελείται από πολλά μικρά. Αυτό σημαίνει ότι δεν είναι Κεντροβλαστός που συνήθως αυτοί χαρακτηρίζονται από μεγάλο μέγεθος αρκετά στρογγυλο χωρίς απότομες ακμές .

```

D = bwdist(~bigstay, 'quasi-euclidean');
D = -D;
D(~bigstay) = -Inf;
LL = watershed(D);
rgb = label2rgb(LL, 'gray', [0 0 0]);

```



Εικόνα 36: Διαχωρισμός κυττάρων με τον Μετασχηματισμό απόστασης και Watershed

```

bw2=im2bw(rgb,0);
cc2 = bwconncomp(bw2);
stats = regionprops(cc2, 'Area');
idx2 = find([stats.Area] > 700);

```



Εικόνα 37:τελική εικόνα

Στην τελική εικόνα παρατηρούμε ότι ανιχνεύτηκαν με επιτυχία οι 3 Κεντροβλάστες τις αρχικής εικόνας , παρ' όλα αυτά ανιχνεύθηκε και ένα επιπλέον κύτταρο που δεν ανήκει στην κατηγορία των κεντροβλαστών. Εάν δεν ήταν γνωστό από την αρχή ότι αυτό το κυτταρο δεν είναι Κεντροβλαστός τότε την τελευταία λέξη της διάγνωσης θα την είχε ο Ιατρός. Οι αλγόριθμοι Otsu και Graph Cuts έδωσαν το ίδιο αποτέλεσμα όπως φαίνεται στη παραπάνω εικόνα. Ο αλγόριθμος Karur αν και αρχικά φάνηκε να έχει μεγαλύτερο F στην τελική επεξεργασία δεν έδωσε καλό αποτέλεσμα.



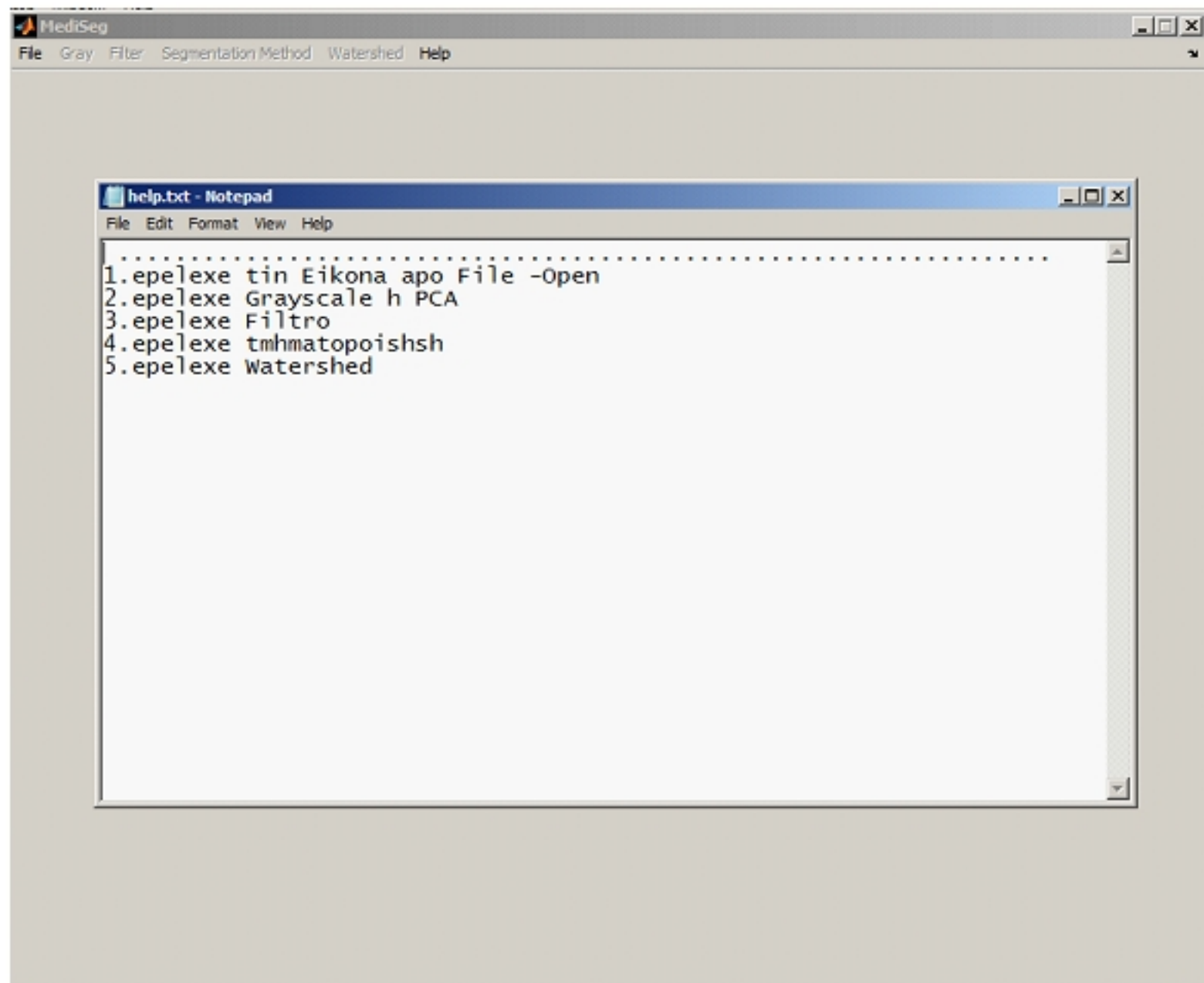
Εικόνα 38: Μετασχηματισμός απόστασης και watershed στον αλγόριθμο Karur.



Εικόνα 39: τελική εικόνα με αλγόριθμο Karu

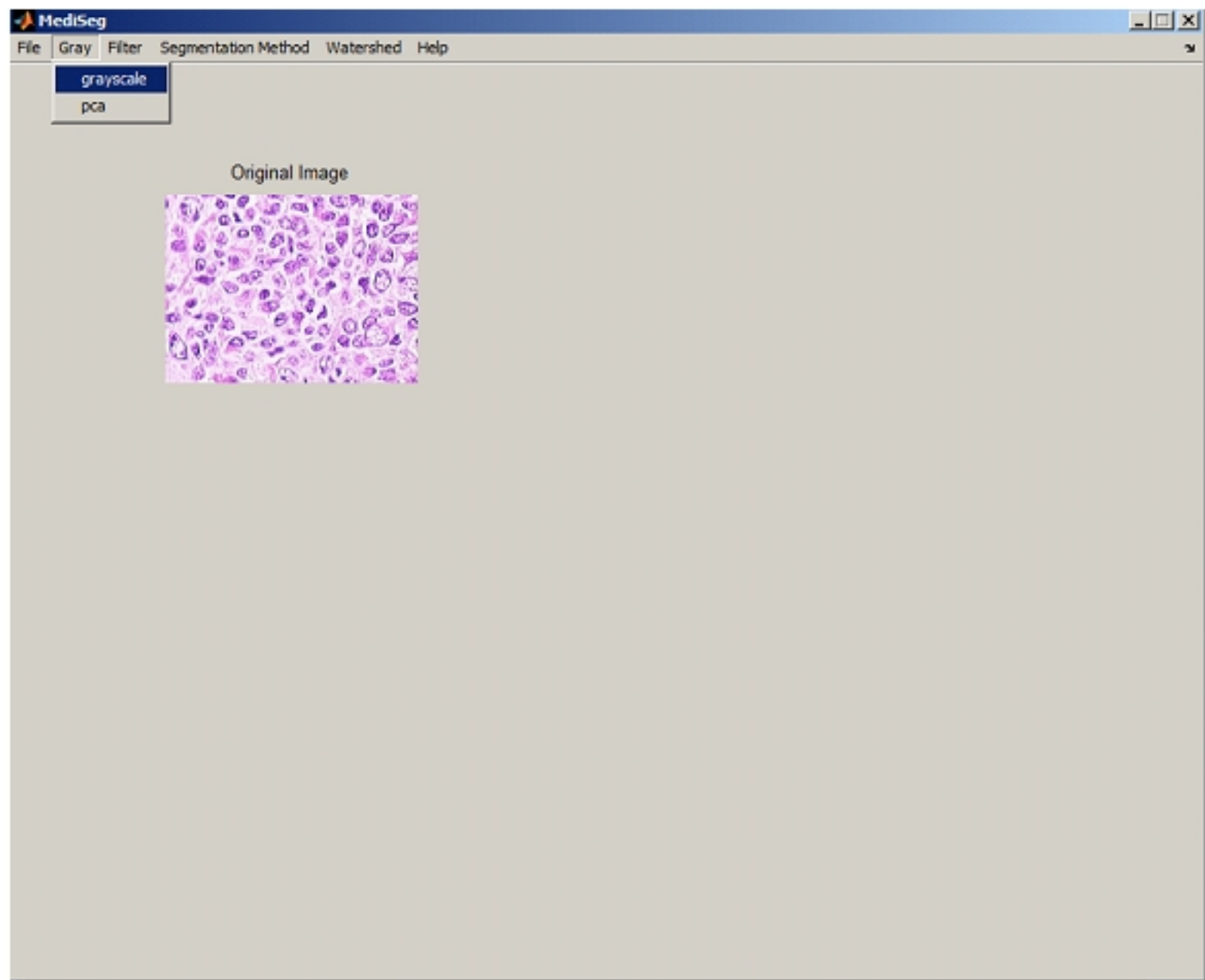
7.9. Ανάπτυξη Γραφικής Διεπιφάνειας Χρήστη (GUI)

Παράλληλα αναπτύχθηκε ένα γραφικό περιβάλλον για το χρήστη. Η αρχική μορφή είναι παρακάτω



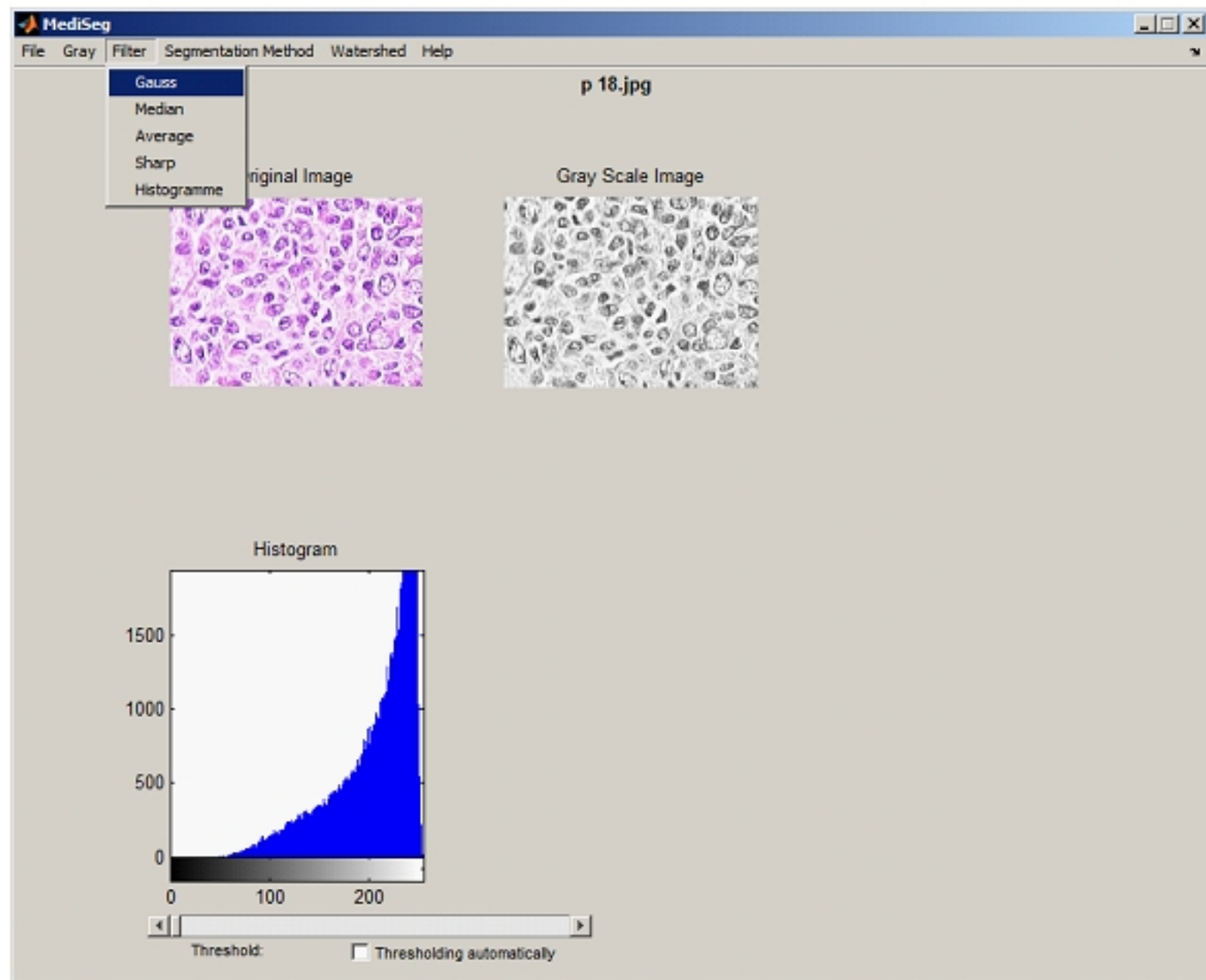
Εικόνα 40: αρχικό παράθυρο

Πατώντας την επιλογή HELP εμφανίζονται οδηγίες χρήσης της εφαρμογής.
1.επιλογή εικόνας από FILE

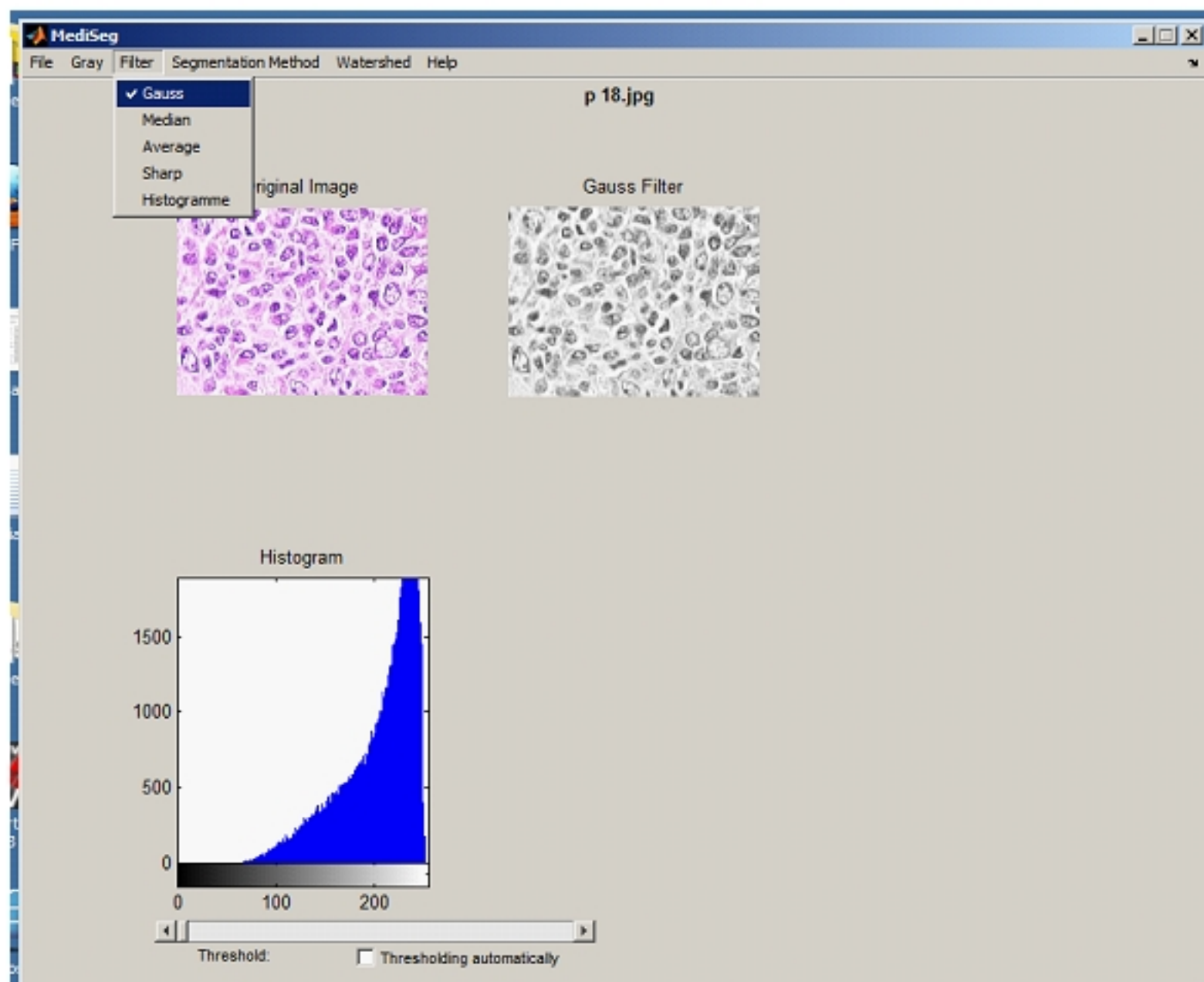


Εικόνα 41: Επιλογή εικόνας

Έπειτα μπορεί ο χρήστης να επιλέξει τον τρόπο με τον οποίο θα γίνει η εικόνα γκριζα. Με Grayscale Matlab ή με PCA.

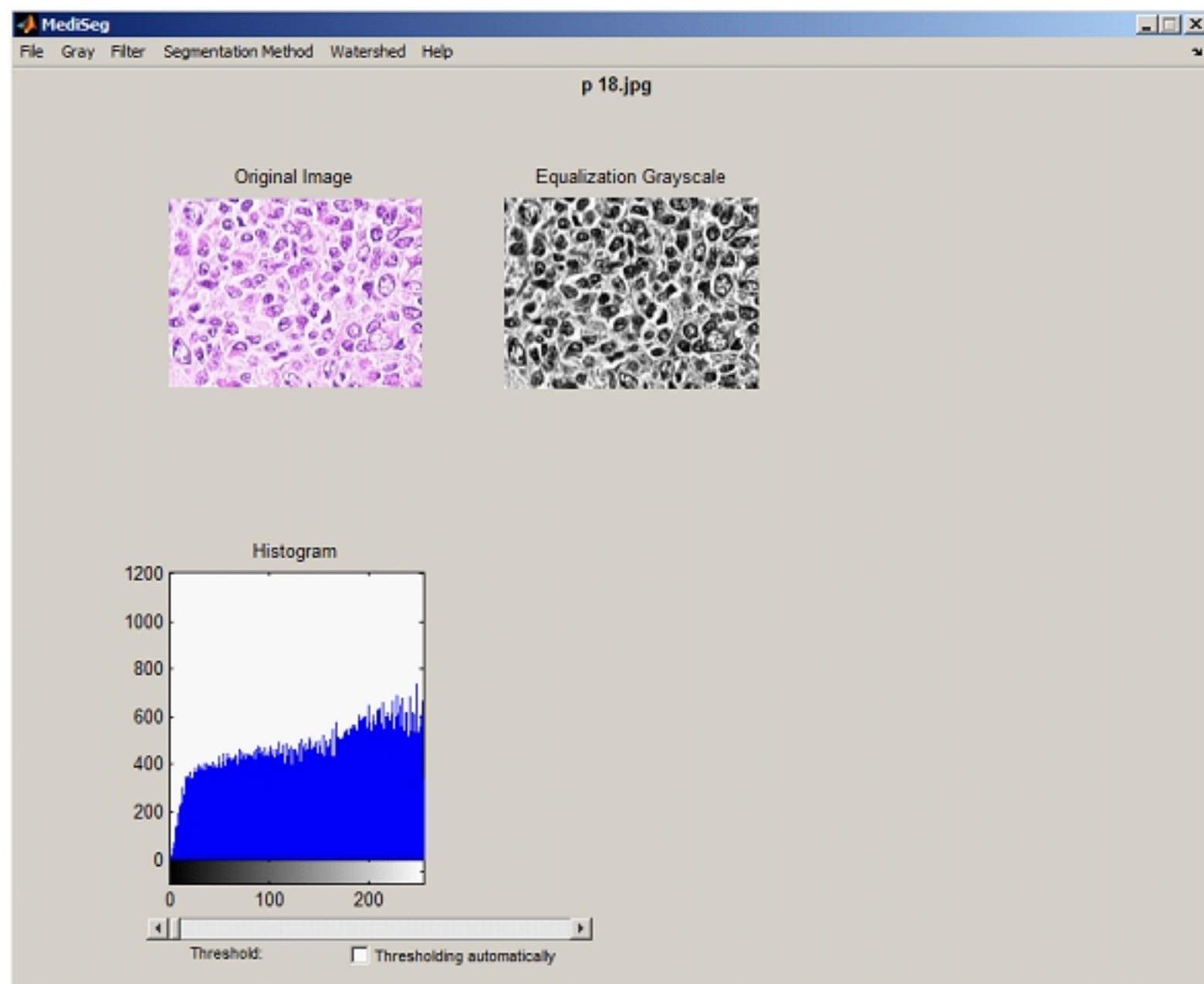


Εικόνα 42: Επιλογή Grayscale



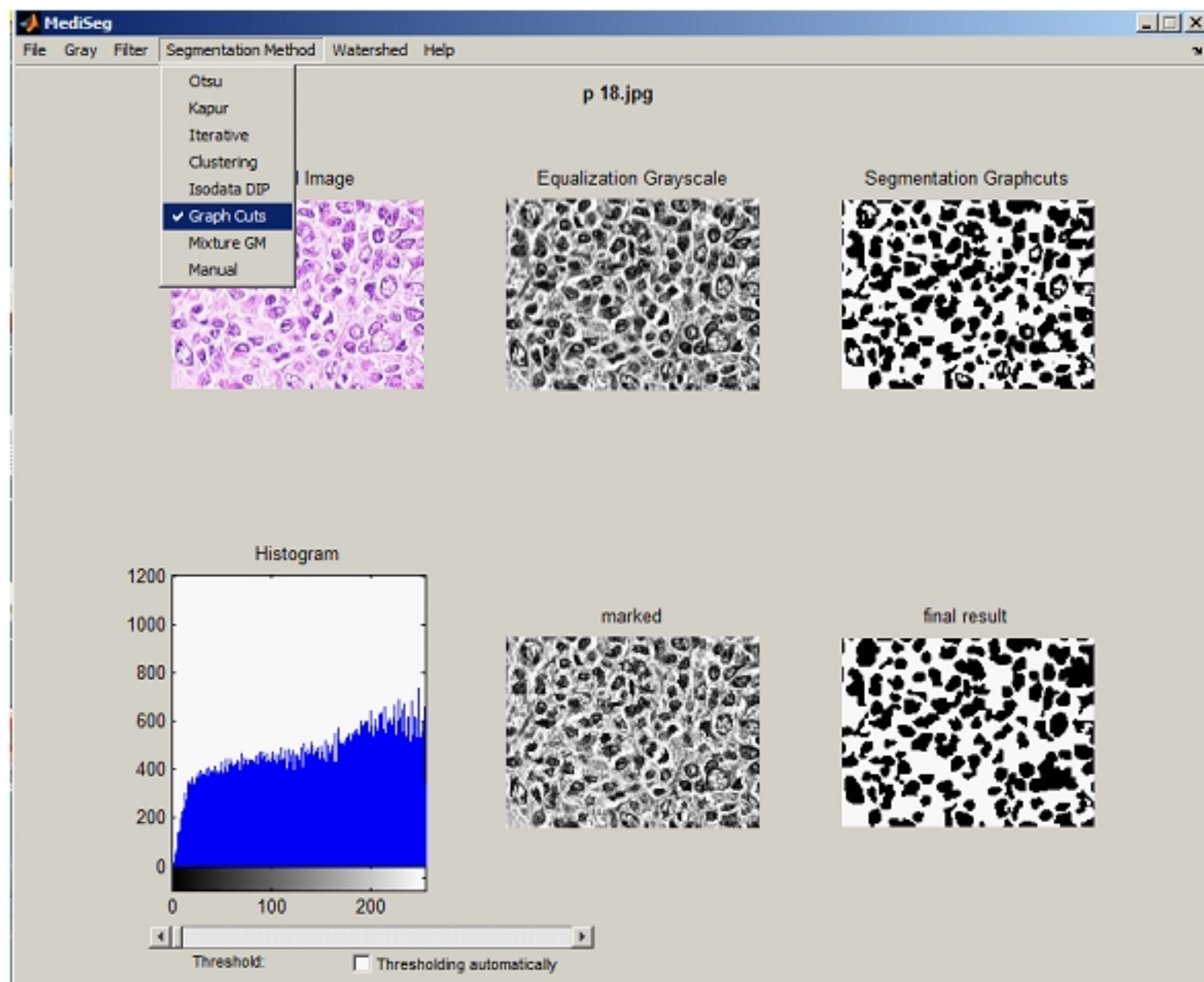
Εικόνα 43: Εισαγωγή Φίλτρου Gauss

Μετά την επιλογή του φίλτρου Gauss, δίνεται η δυνατότητα ο χρήστης να επιλέξει είτε άλλο φίλτρο είτε την εξισορρόπηση Ιστογράμματος.



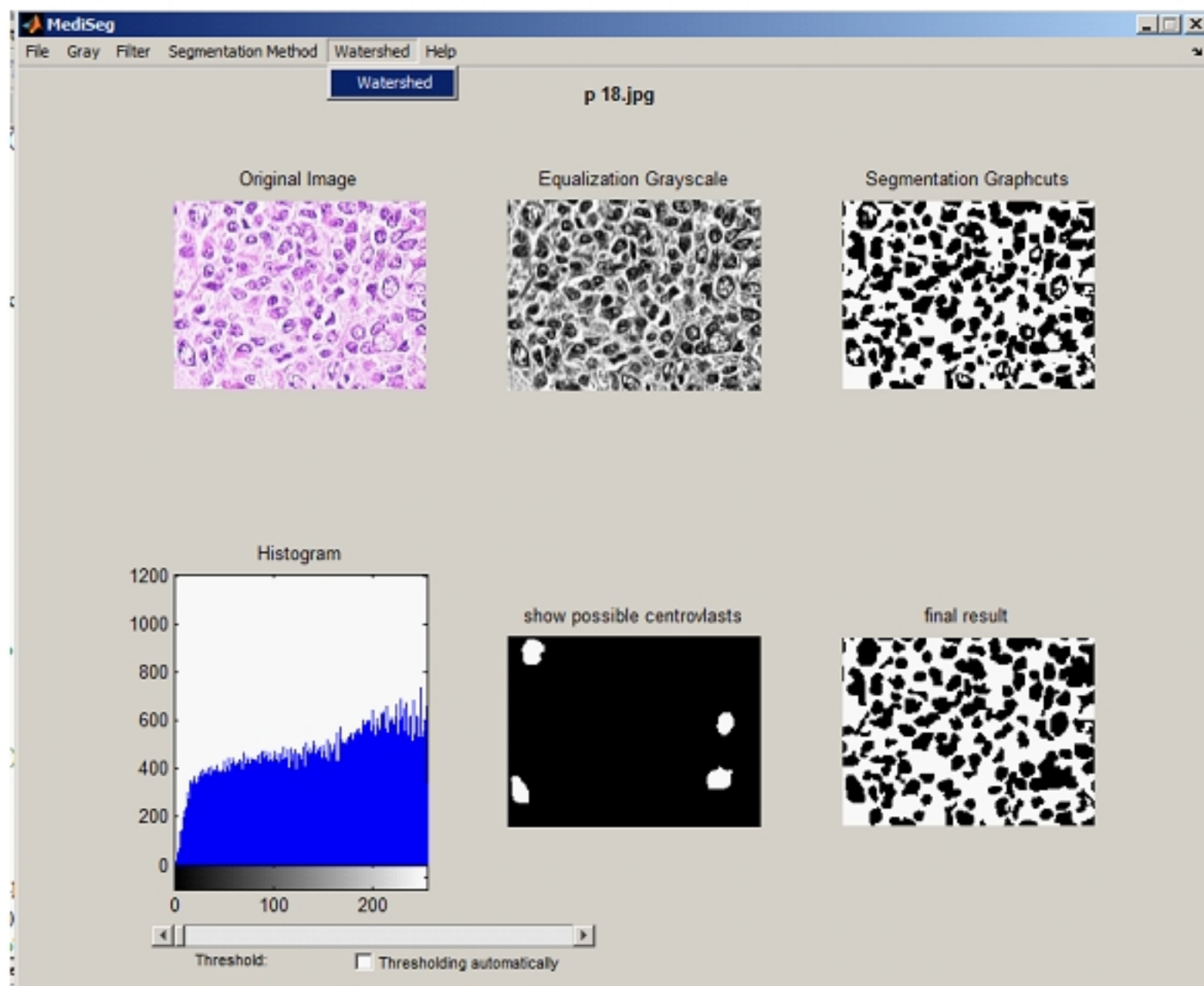
Εικόνα 44: Επιλογή εξισσοροπηση Ιστογράμματος

Η εικόνα έχει υποστεί επεξεργασία και τώρα μπορεί να τμηματοποιηθεί



Εικόνα 45: Τμηματοποίηση Graph Cuts

Και το τελικό αποτέλεσμα μας δείχνει τους πιθανούς Κεντροβλάστες



Εικόνα 46: Εύρεση πιθανών Κεντροβλαστών

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αντικείμενο της εργασίας αυτής ήταν η τμηματοποίηση ιατρικών εικόνων μικροσκοπίου. Οι τεχνικές που αναπτύχθηκαν εφαρμόστηκαν στην τμηματοποίηση εικόνων υψηλής ανάλυσης από ηλεκτρονικά μικροσκόπια με σκοπό την ανίχνευση του οζώδους λευκώματος. Παρουσιάστηκαν τεχνικές απόλυτης κατωφλίωσης και τεχνικές πολυκατωφλίωσης. Στα συγκεκριμένα δείγματα φάνηκε η μέθοδος Otsu και τα Graph Cuts να δίνουν καλύτερα αποτελέσματα από τους υπόλοιπους. Αν ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι η μέθοδος Otsu είναι μέθοδος απόλυτης κατωφλίωσης και στα συγκεκριμένα δείγματα να έδωσε καλά αποτελέσματα, τότε τίθεται το ερώτημα τι θα γίνει αν υπάρχουν δείγματα λίγο διαφορετικά όπως για παράδειγμα εάν το φόντο δεν είναι πολύ διαφορετικό από τα αντικείμενα. Τη λύση σε αυτό το λεπτό σημείο πιθανόν να την δώσουν τα Graph cuts. Όπως φαίνεται από τον αλγόριθμο η τελική κατωφλίωση δεν εξαρτάται από ένα παράγοντα αλλά από πολλούς.

Όταν υπάρχουν διαφορετικής φύσης δειγμάτων εικόνων αξίζει να μελετηθεί ο Graph Cuts αλγόριθμος ως μέθοδος τμηματοποίησης. Μπορεί δημιουργηθεί ένα φάσμα πιθανόν καλύτερων κατωφλίων και από εκεί να επιλεγεί το καλύτερο αλλάζοντας τις παραμέτρους. Έτσι με αυτόν τον τρόπο θα επιτευχθεί το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Nobuyuki Otsu (1979). "A threshold selection method from gray-level histograms". IEEE Trans. Sys., Man., Cyber. 9 (1): 62–66. doi:10.1109/TSMC.1979.4310076
- [2] Handbook of Medical of Medical Image Processing and Analysis, Isaak H.Bankman
- [3] Kapur, J. N., Sahoo, P. K. and Wong, A. K. C. «A New Method for Gray-Level Picture Thresholding Using the Entropy of the Histogram.» Computer Vision, Graphics and Image Processing 29 (1985) 273-285.
- [4] J. N. Kapur. Maximum entropy models in science and engineering. Wiley Eastern, New Delhi, 1989
- [5] Ψηφιακή Επεξεργασία & Ανάλυση Εικόνας Νικόλαος Παπαμάρκος
- [6] Ειδική Ερευνητική Εργασία Τμηματοποίηση Εικόνων Υφής με Χρήση Πολυφασματικής Ανάλυσης και Ελάττωσης Διαστάσεων ΘΕΟΔΩΡΑΚΟΠΟΥΛΟΣ ΗΛΙΑΣ Πατρα 2009
- [7] Bezdec, J.C., Pattern Recognition with Fuzzy Objective Function Algorithms, Plenum Press, New York, 1981.
- [8] Shapiro, Linda G. & Stockman, George C. (2002). "Computer Vision". Prentice Hall. ISBN 0-13-030796-3
- [9] S. Beucher and C. Lantuejoul. "Use of watersheds in contour detection". Proc. Int. Workshop on image processing, Rennes (France)
- [10] S. Beucher and F. Meyer. "The morphological approach to segmentation: the watershed transformation". Mathematical morphology in image processing, pages 433–481, 1993.
- [11] Image Segmentation using Gaussian Mixture Models , Rahman Farnoosh, Gholamhossein Yari and Behnam Zarpak.
- [12] A System for Automatic Cell Segmentation of Bacterial Microscopy Images Eric Battenberg and Ilka Bischofs-Pfeifer
- [13] Cell Segmentation With Median Filter and Mathematical Morphology Operation ,Dwi Anoraganingrum
- [14] Live Cell Segmentation, Kenong Wu, David Gauthier, Martin D. Levine.
- [15] Automated segmentation, classification, and tracking of cancer cell nuclei in time-lapse microscopy. Xiaowei Chen, Xiaobo Zhou and Stephen T.C. Wong.

- [17] Image Processing Principles and Applications ,Tinku Acharya and Ajoy K Ray
- [18] Digital Image Processing Part one Huiyu Zsou, Jianguo Zhang and Ventus Publishing Abs ISBN: 978-87-7681-542-4
- [19] Digital Image Processing Part two ,Huiyu Zsou, Jianguo Zhang and Ventus Publishing Abs ISBN: 978-87-7681-541-7
- [20] Digital Image Processing using Matlab ,Rafael C.Gonzales, Richard E. Wood, Steven L. Eddins
- [21] Principal component analysis in image processing, M. Mudrova, A. Prochazka. Institute of Chemical Technology, Prague Department of Computing and Control Engineering.
- [22] Computer and Robot Vision ,R. Haralick and L. Shapiro 1993
- [23] Graph Cuts in Vision and Graphics: Theories and Applications Yuri Boykov and Olga Veksler

ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

- [24] http://en.wikipedia.org/wiki/Precision_and_recall
- [25] <http://www.onflu.gr/portal/eipf/greece/portal/patient/lymphoma>
- [26] <http://www.mayoclinic.com/health/lymphoma/AN01209>
- [27] <http://www.lymphomation.org/grade.htm>
- [28] <http://users.sch.gr/minopetros/Laboratory/org%20microscope.pdf>
- [29] <http://www.aua.gr/fasseas/electron%20microscopes.htm>
- [30] <http://www.microscope-microscope.org/basic/microscope-parts.htm>
- [31] http://en.wikipedia.org/wiki/Otsu's_method
- [32] http://en.wikipedia.org/wiki/Cluster_analysis
- [33] http://en.wikipedia.org/wiki/Fuzzy_clustering
- [34] [http://en.wikipedia.org/wiki/Thresholding_\(image_processing\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Thresholding_(image_processing))
- [35] <http://expectus.hubpages.com/hub/Ford-Fulkerson-Maximum-Flow-Minimum-Cut-Algorithm>
- [36] <http://www.eecs.wsu.edu/~holder/courses/CptS223/spr09/slides/netflow.pdf>
- [37] www.mathworks.com
- [38] www.diplib.org
- [39] <http://www.autonlab.org/tutorials/gmm.html>
- [40] MANITSARIS S. (2011). «**Vision par ordinateur pour la reconnaissance des gestes musicaux des doigts**», *Revue Francophone d'Informatique Musicale*, [En ligne] mis à jour le : 23/09/2011, URL : <http://revues.mshparisnord.org/rfim/index.php?id=107>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κώδικας προγράμματος Γραφικού περιβάλλοντος χρήστη

```
function varargout = MediSeg(varargin)
%
%
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',    mfilename, ...
    'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
    'gui_OpeningFcn', @MediSeg_OpeningFcn, ...
    'gui_OutputFcn',  @MediSeg_OutputFcn, ...
    'gui_LayoutFcn',  [], ...
    'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end

if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% End initialization code - DO NOT EDIT

% --- Executes just before MediSeg is made visible.
function MediSeg_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
handles.output = hObject;

% Update handles structure
guidata(hObject, handles);

%=====
%=====

% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = MediSeg_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
% Get default command line output from handles structure
varargout{1} = handles.output;

% -----
function FileMenu_Callback(hObject, eventdata, handles)

% -----
function OpenMenuItem_Callback(hObject, eventdata, handles)
global Input InputName
```

```

set(handles.Save,'enable','off')
set(handles.Method,'enable','off')
set(handles.cellgray,'enable','off')
set(handles.Filter,'enable','off')
set(handles.water,'enable','off')

[InputName,Path] = uigetfile({'*.jpg;*.tif;*.gif;*.bmp;*.png;'});
if ~isequal(InputName, 0)
    Input=[Path,InputName];
    LoadIm(handles)
    set(handles.Save,'enable','on')
    set(handles.Method,'enable','on')
    set(handles.Manually,'checked','on')
    set(handles.cellgray,'enable','on')
    set(handles.Filter,'enable','on')
set(handles.water,'enable','on')

end

% -----
function Save_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
global Export
if isempty(Export)==1,msgbox('Doesn''t exist an image');return,end
[filename,pathname] = uiputfile({'*.jpg'; '*.tif'; '*.gif'; '*.bmp'; '*.png'; ...
    '*.hdf'; '*.pcx'; '*.xwd'; '*.ico'; '*.cur'; '*.ras'; ...
    '*.pbm'; '*.pgm'; '*.ppm'},'Save file name');
if isequal(filename,0) | isequal(pathname,0)
    errorlg('Saving canceled','Threshold GUI'); error('Saving canceled')
else
    try
        imwrite(Export,[pathname,filename]);
    catch
        errorlg('Error during saving','Threshold GUI'); error('Error during saving')
    end %try
end %if

% -----
function CloseMenuItem_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
selection = questdlg(['Close ' get(handles.figure1,'Name') '?'],...
    ['Close ' get(handles.figure1,'Name') '...'],...
    'Yes','No','Yes');
if strcmp(selection,'No')
    return;
end
delete(handles.figure1)

```

```

% ----συνάρτηση OTSU-----
function graythresh_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
global Grisa
NoChecked(handles)
set(handles.graythresh,'checked','on')
Thresh = graythresh(Grisa)*255;
ThreshHist(Thresh,handles,'all')

% ----- συνάρτηση Kapur -----
function kapur_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
global Grisa
NoChecked(handles)
set(handles.kapur,'checked','on')
Thresh = Kapur1(Grisa)*255;
ThreshHist(Thresh,handles,'all')

% -----συνάρτηση Iterative-----
function iterativo_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
global Grisa
NoChecked(handles)
set(handles.iterativo,'checked','on')
Thresh = Iterativo1(Grisa)*255;
ThreshHist(Thresh,handles,'all')

% -----χειροκίνητος τρόπος-----
function Manually_Callback(hObject, eventdata, handles)
% -----
NoChecked(handles)
set(handles.Manually,'checked','on')
if get(handles.Auto,'value')==1

end %if

%-----
function slider1_Callback(hObject, eventdata, handles)
%-----
set(handles.Intensidad,'visible','on')
Thresh=get(hObject,'value');
Histogram(Thresh,handles)
if get(handles.Auto,'value')==1
    GrThresh(Thresh,handles);
end %if
NoChecked(handles);set(handles.Manually,'checked','on')

% --- Executes during object creation, after setting all properties.

```

```

%-----
function slider1_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
%-----
usewhitebg = 1;
if usewhitebg
    set(hObject,'BackgroundColor',[.9 .9 .9]);
else
    set(hObject,'BackgroundColor',get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'));
end
set(hObject,'SliderStep',[1/255 1/255]);%

% --- Executes on button press in Auto.
%-----
function Auto_Callback(hObject, eventdata, handles)

NoChecked(handles);set(handles.Manually,'checked','on')

%-----
function Method_Callback(hObject, eventdata, handles)

%=====
function LoadIm(handles)
%=====

global Input InputName Grisa Gtd Binary

subplot(231);img=imread(Input);imshow(img);title('Original Image');axis off

[name value name2] = strread(InputName, '%s %d %s ,')
    s='s'
    jpg='.jpg'
    enosi = num2str(value)
    image=strcat(s,enosi, jpg)
    Gtd = imread(image);

%=====επιλογή εικόνας groundTruth=====

%=====
function GrThresh(Thresh,handles)
%=====

global Grisa Export Binary InputName f3
imgThresh=im2bw(Grisa,Thresh/255);

```



```

subplot(233);
imshow(imgThresh)
title(['Image segmented in threshold = ',int2str(Thresh)])
Export=imgThresh;
BW=imgThresh;
%Thresh=level;
P=3000;
small = bwareaopen(BW,P,8);           %gemizei tis tryfes
small=1-small;                       %antistrofi gia na afereso ta mikra ob
cc = bwconncomp(small);
stats = regionprops(cc, 'Area');
idx = find([stats.Area] > 200);      %endeiktiki timi megalyteri tou 200
fb = ismember(labelmatrix(cc), idx); %8a parei megala kommati
se=strel('disk',2,0);
fo=imopen(fb,se);
se1=strel('line',1,90);
se2=strel('line',1,90);
f2=imdilate(fo,se1);
f2=imdilate(f2,se2);
f3=imfill(f2,'holes');
f3=1-f3;
subplot(234);
imhist(Grisa);
title('Histogram')
subplot(236);
imshow(f3);
title('Final Result')
fper=bwperim(f3);
fmarked=Grisa;
fmarked(fper)=255;                  %xñuíaôßæù ôçí ðãñßiáôññi iã Üóðññi ÷ñþiá
subplot(235);
imshow(fmarked);
title('Perimeter')
small=f3;
blackpix=sum(~small(:))
blackpixim=sum(~Binary(:))
overlapping=sum(~small(:).*~Binary(:))
whiteoverlapping=sum(small(:).*Binary(:)) %
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
tp=overlapping;
fp=blackpix-tp;
tn=whiteoverlapping;
fn=120000-tp-fp-tn;
%sens=tp/(tp+fn)*100
%spec=tn/(tn+fp)*100
prec=tp/(tp+fp);
reca=tp/(tp+fn);
F=2*prec*reca/(prec+reca);
% open the file with write permission
fid = fopen('result.txt', 'w' );

```

```

fprintf(fid, ' .....');
fprintf(fid, ' Apotelesmata gia tin eikona %s 1200x900 pixel \t', InputName);
fprintf(fid, ' precision = %4.2f \t\t\t\t', prec);
fprintf(fid, ' recall = %4.2f \t\t\t\t', reca);
fprintf(fid, ' F = %4.2f \t\t\t\t', F);
command = sprintf ( 'notepad %s', 'C:\Users\pantelis\Documents\MATLAB\result.txt'
);
system ( command )
fclose(fid);

```

```

%=====
function Histogram(Thresh,handles)
%=====
global Grisa
persistent H
set(handles.Intensidad,'String',Thresh)
subplot(223);imhist(Grisa);title('Histogram')
Escala=axis;
if ishandle(H)==1,delete(H),end%if
H=line([Thresh Thresh],[Escala(3:4)],'color','r');

```

```

%=====
function ThreshHist(Thresh,handles,Tipo)
%=====
Histogram(Thresh,handles)
GrThresh(Thresh,handles)
set(handles.slider1,'value',Thresh)
switch Tipo
case 'all'
set(handles.Auto,'value',0)
case 'trian'
set(handles.Auto,'value',0)
end %switch

```

```

%=====
function NoChecked(handles)
%=====
set(handles.graythresh,'checked','off')
set(handles.kapur,'checked','off')
set(handles.clustering,'checked','off')

```

```

set(handles.graphcuts,'checked','off')
set(handles.iterativo,'checked','off')
set(handles.mixture,'checked','off')
set(handles.Manually,'checked','off')

```

```

%=====
function Thresh = Kapur1(Imag)
%=====

```

```

if ~Esgray(Imag)
    uiwait(msgbox('H eikona den einai grisa','Error','modal'))
    Thresh = 0;
else
    [fil col] = size(Imag);
    Pixeles = fil * col;
    h1 = imhist(Imag);
    Pi = h1/Pixeles;
    Pt = zeros(256,1);
    Pt(1) = Pi(1);
    for i = 2:256
        Pt(i)=Pt(i-1)+Pi(i);
    end

    Hb = zeros(1,256);
    Hw = zeros(1,256);
    for i = 1:256
        if Pt(i) > 0
            for j = 1 : i
                if Pi(j) > 0
                    Hb(i) = Hb(i) + ((Pi(j) / Pt(i)) * log(Pi(j) / Pt(i)));
                end
            end
        end
    end

    for i = 1:256
        if (1-Pt(i)) > 0
            for j = i + 1 : 256
                if Pi(j) > 0
                    Hw(i) = Hw(i) + ((Pi(j) / (1-Pt(i))) * log(Pi(j) / (1-Pt(i))));
                end
            end
        end
    end

    Hb = -Hb;
    Hw = -Hw;

```

```

    H = Hb + Hw;
    [a, b] = max(H(:));
    Thresh = b-1;
    Thresh = Thresh/255;
end

%=====
function Thresh = Iterativo1(Imag)
%=====

if ~Esgray(Imag)
    uitwait(msgbox('H eikona den einai grisa','Error','modal'))
    Thresh = 0;
else
    Histograma = imhist(Imag);
    Grises = find(Histograma);
    Maxim = max(Grises);
    Minim = min(Grises);
    Thresh = Minim + (Maxim - Minim) / 2;
    Threshp = 0;
    while (abs(Thresh - Threshp) > 1)
        Megista = find(Imag > Thresh);
        Elaxista = find(Imag <= Thresh);
        m1 = mean(Imag(Megista));
        m2 = mean(Imag(Elaxista));
        Threshp = Thresh;
        Thresh = round((m1+m2)/2);
    end
    Thresh = Thresh/255;
end

%=====
function y = Esgray(x)
%=====

y = ndims(x) == 2 && ~isempty(x);

if islogical(x)
    y = false;
elseif ~isa(x, 'uint8') && ~isa(x, 'uint16') && y
    %
    [m,n] = size(x);
    chunk = x(1:min(m,10),1:min(n,10));
    y = min(chunk(:)) >= 0 && max(chunk(:)) <= 1;
    %
    if y
        y = min(x(:)) >= 0 && max(x(:)) <= 1;
    end
end

```

```
end
end
```

```
% -----
function cellgray_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to cellgray (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)

% -----
function grayscale_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to grayscale (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Input InputName Grisa ImageHist Gtd Binary Flg
set(handles.grayscale,'checked','on')
set(handles.pca,'checked','off')
img=imread(Input);
Flg=0;
try
    if Esgray(img)==0
        subplot(231);
        imshow(Input);
        title('Original Image')
        imggris=rgb2gray(img);
        subplot(232);
        imshow(imggris);
        title('Gray Scale Image')
        I2 = Gtd;
        level=0.4;
        Binary = im2bw(I2, level);
        else
            %edo emfanizei tin grayscale dipla
            stin original
            imggris=img;
            subplot(231);
            imshow(Input);
            title('Original Image')
            subplot(232);
            imshow(imggris);
            title('Gray Scale Image')
            I2 = Gtd;
            level=0.4;
            Binary = im2bw(I2, level);
        end %if
catch
    errordlg('Error during image processing','MediSeg GUI');error('Error during image
processing')
```

```

end %try
subplot(234);imhist(imggris);title('Histogram')
Grisa=imggris;
Min=0;Max=255;
set(handles.slider1,'visible','on')
set(handles.slider1,'Min',Min)
set(handles.slider1,'Max',Max)
set(handles.slider1,'value',Min)
set(handles.Auto,'visible','on')
set(handles.text2,'visible','on')
set(handles.Intensidad,'string',int2str(Min))
set(handles.Input,'visible','on')
set(handles.Input,'string',InputName)
%GrThresh(Min,handles)

% -----
function pca_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to pca (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Input InputName Grisa ImageHist Gtd Binary Flg
NoChecked(handles)
set(handles.grayscale,'checked','off')
set(handles.pca,'checked','on')
Flg=1;
% PCA *****
I=imread(Input);
A=double(I);
X=im2col(A(:,:,1),[size(A,1),size(A,2)]);
Y=im2col(A(:,:,2),[size(A,1),size(A,2)]);
Z=im2col(A(:,:,3),[size(A,1),size(A,2)]);
I=cat(2,X,Y,Z);
[coefs,scores,variances,t2] = princomp(I);
s=1*scores(:,1);
m=min(s);
ma=max(s);
t=255*(s-min(s))/(max(s)-min(s));
t=uint8(t);
PCA_im=col2im(t,[size(A,1),size(A,2)],[size(A,1),size(A,2)],'distinct');
subplot(232);
imshow(PCA_im);
title('PCA');
subplot(234);imhist(PCA_im);
title('Histogram')
Grisa=PCA_im;
I2 = Gtd;
level=0.4;
Binary = im2bw(I2, level);
Min=0;Max=255;

```

```

set(handles.slider1,'visible','on')
set(handles.slider1,'Min',Min)
set(handles.slider1,'Max',Max)
set(handles.slider1,'value',Min)
set(handles.Auto,'visible','on')
set(handles.text2,'visible','on')
set(handles.Intensidad,'string',int2str(Min))
set(handles.Input,'visible','on')
set(handles.Input,'string',InputName)
%GrThresh(Min,handles)

% -----
function Filter_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to Filter (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)

% -----
function gaussian_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to gaussian (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa Input InputName ImageHist Gtd Binary Flg
set(handles.median,'checked','off')
set(handles.average,'checked','off')
set(handles.sharp,'checked','off')
set(handles.gaussian,'checked','on')
G = fspecial('gaussian',[3 3],2);
Ig = imfilter(Grisa,G);
Grisa=Ig;
subplot(232); imshow(Ig); %GAUSS
title('Gauss Filter')
subplot(234); imhist(Ig);title('Histogram')
%Gaussflag=0;

% -----
function median_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to median (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa
set(handles.median,'checked','on')
set(handles.gaussian,'checked','off')
set(handles.average,'checked','off')
set(handles.sharp,'checked','off')
K = medfilt2(Grisa, [5 5]);
Grisa=K;
subplot(232); imshow(K); %M|Edian

```

```

title('Median Filter')
subplot(234);imhist(K);title('Histogram')

% -----
function average_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to average (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa
set(handles.median,'checked','off')
set(handles.gaussian,'checked','off')
set(handles.average,'checked','on')
set(handles.sharp,'checked','off')
H = fspecial('average');
H = imfilter(Grisa,H);
Grisa=H;
subplot(232); imshow(H); %Mean
title('Average Filter')
subplot(234);imhist(H);title('Histogram')

% -----
function sharp_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to sharp (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa
set(handles.median,'checked','off')
set(handles.gaussian,'checked','off')
set(handles.average,'checked','off')
set(handles.sharp,'checked','on')
U = fspecial('unsharp');
U = imfilter(Grisa,U);
Grisa=U;
subplot(232); imshow(U); %Unsharp
title('Unsharp')
subplot(234);imhist(U);title('Histogram')

% -----
function Hist_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to Hist (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa Flg
if (Flg)
fg=Grisa;
wr= adapthisteq(fg);

```



```

Grisa=wr;
subplot(232); imshow(Grisa);
title('Equalization PCA')
subplot(234); imhist(Grisa); title('Histogram')
end
fg=Grisa;
wr= adapthisteq(fg);          %exisoropisi istogrammatos
Grisa=wr;
subplot(232); imshow(Grisa);
title('Equalization Grayscale')
subplot(234); imhist(Grisa); title('Histogram')

% -----
function clustering_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to clustering (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa
NoChecked(handles)
set(handles.clustering, 'checked', 'on')
Thresh = cluster1(Grisa)*255;
ThreshHist(Thresh, handles, 'all')

function Thresh = cluster1(Imag)
% hObject handle to cluster (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
if ~Esgray(Imag)
    uiwait(msgbox('I eikona den einai griza, Error', 'modal'))
    Thresh = 0;
else
    im=Imag;
    fim=mat2gray(im);
    level=graythresh(fim);
    bw fim=im2bw(fim, level);
    [bw fim0, level0]=fcmthresh(fim, 0);
    BW=level0;
    Thresh=BW;
end

% -----
function isodata_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to isodata (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa
NoChecked(handles)

```

```

set(handles.isodata,'checked','on')
Thresh = Isodata1(Grisa)*255;
ThreshHist(Thresh,handles,'all')

function Thresh = Isodata1(Imag)% -----
-----
global Archive
if ~Esgray(Imag)
    uiwait(msgbox('the image is not Grayscale','Error','modal'))
    Thresh = 0;
else
    PCA_im=Imag;
run('C:\Program Files\DIPimage 2.3\dipstart.m'); % enarxi DIP
gauss_im = gaussf(PCA_im,2);
gauss_im=uint8(gauss_im);
[seg_im,thres] = threshold(gauss_im,'isodata',Inf);
Thresh=thres/255

end

% -----
function graphcut_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to graphcut (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global Grisa Binary InputName f3
NoChecked(handles)
set(handles.graphcut,'checked','on')
im1 = im2double(Grisa);
sz = size(im1);
% tmhmatoposi se 2 kmeans
k =2;
% color space distance
distance = 'sqEuclidean';

data =reshape(im1, [prod(sz(1:2)) 1]);
[idx c] = kmeans(data, k);
ff=reshape(idx, size(im1));
ff=uint8(100*ff);
%ypologise to data cost gia ka8e kentiki omada
Dc = zeros([sz(1:2) k],'single');
for ci=1:k
    % -xrisimopose pinaka symetablitotitas gia ka8e omada
    v = (cov(data(idx==ci,:)));
    icv=inv(v);
    dif = data - repmat(c(ci,:), [size(data,1) 1]);

    Dc(:,ci) = reshape(sum((dif*icv).*dif./2,2),sz(1:2));
end

```

```

% exomalinsi
% %%%
Sc = ones(k) - eye(k);
% %%%
[Hc Vc] = SpatialCues(im1);
gch = GraphCut('open', Dc, 5*Sc, exp(-Vc*0), exp(-Hc*0));
[gch se de] = GraphCut('energy', gch);
e=se+de %%%energeia 1
[gch L] = GraphCut('expand',gch);
[gch se de] = GraphCut('energy', gch);
gch = GraphCut('close', gch);
e1=se+de %%%energeia 2
newim=uint8(L)*255;
bw2=im2bw(newim,0);
BW=1-bw2;
subplot(233);
imshow(BW);
title('Segmentation Graphcuts')
P=3000;
small = bwareaopen(BW,P,8); %arxiko filling
small=1-small; %antistrofi gia na bgalo ta mikra
cc = bwconncomp(small);
stats = regionprops(cc, 'Area');
idx = find([stats.Area] > 200); %%%find mikra antikeimena
region=ismember(labelmatrix(cc), idx);
subplot(236);
imshow(1-region);
title('final');
%%MORPHOLOGY
diskos=strel('disk',2,0);
after_strel=imopen(region,diskos);
dis1=strel('line',1,90);
dis2=strel('line',1,90);
dil=imdilate(after_strel,dis1);
dil=imdilate(dil,dis2);
uber=imfill(dil,'holes');
subplot(236);
imshow(1-uber);
title('final result');
bord=imclearborder(uber);
perim=bwperim(bord);
fmarked=Grisa;
fmarked(perim)=255;
subplot(235);
imshow(fmarked);
title('marked');

small=1-uber;
blackpix=sum(~small(:))
blackpixim=sum(~Binary(:))

```

```

overlapping=sum(~small(:).*~Binary(:))
whiteoverlapping=sum(small(:).*Binary(:)) %
%%%%%%%%%%
tp=overlapping;
fp=blackpix-tp;
tn=whiteoverlapping;
fn=120000-tp-fp-tn;
prec=tp/(tp+fp);
reca=tp/(tp+fn);
F=2*prec*reca/(prec+reca);
% open the file with write permission
fid = fopen('result.txt', 'w' );
fprintf(fid, ' .....');
fprintf(fid, ' Apotelesmata gia tin eikona %s 1200x900 pixel \t', InputName);
fprintf(fid, ' precision = %4.2f \t\t\t\t\t', prec);
fprintf(fid, ' recall = %4.2f \t\t\t\t\t', reca);
fprintf(fid, ' F = %4.2f \t\t\t\t\t', F);
command = sprintf ( 'notepad %s', 'C:\Users\pantelis\Documents\MATLAB\result.txt'
);
system ( command )
fclose(fid);

```

```

% -----
function mixture_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to mixture (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)

```

```

global Grisa Binary InputName Input f3

```

```

A=double(Grisa);

```

```

subplot(234);
imhist(Grisa);
[probs,x]=imhist(Grisa);
title('Histogramm');
i = cumsum([ 1 probs]);
k = zeros(1, i(end)-1);
k(i(1:end-1)) = 1;
values = x(cumsum(k));
C=2;
[mu_est, sigma_est, w_est, counter, difference] = gaussian_mixture_model(values', C,
1.0e-3);
mu_est'
sigma_est'
w_est'

```

```

% sigkrine empeirika ta dedomena gia ton ypologimso dianomis

```

```

p1_est = w_est(1) * norm_density(x, mu_est(1), sigma_est(1));
p2_est = w_est(2) * norm_density(x, mu_est(2), sigma_est(2));
hold off
hold on
plot2 = plot(x, p1_est+p2_est, 'r--', 'linewidth', 2);
plot3 = plot(x, p1_est, 'b-', 'linewidth', 2);
plot(x, p2_est, 'g-', 'linewidth', 2);
set(gca, 'linewidth', 2, 'fontsize', 16)
set(gcf, 'PaperPosition', [0 0 5 3]);

```

```

%Posterior Probability

```

```

for i=1:size(A,1)
    for j=1:size(A,2)
        B(i,j)=p1_est(A(i,j))/(p1_est(A(i,j))+p2_est(A(i,j)));
    end
end
B1=uint8(255*B);

```

```

%sigmoid parameters

```

```

a=-50*(mu_est(2)-mu_est(1));
be=mu_est(1)+ 2*sigma_est(1);
B=double(B);

```

```

%sigmoid results & Cellular-Likelihood images

```

```

CL=zeros(size(A,1),size(A,2));
for i=1:size(A,1)
    for j=1:size(A,2)
        r=A(i,j)-be;
        temp=a*(-1)*r;
        t=double(exp(temp));
        t2=(1/(1+t));
        sigmoid(i,j)=t2; %Sigmoid
        if(t2==1)
            CL(i,j)=double(B(i,j)); % Cellular-Likelihood
        end
    end
end
end

```

```

%Adaptive threshold

```

```

Mask = (1/225)*ones(15);
thress = double(imfilter(CL, Mask));

```

```

%Binary Mask

```

```

M=zeros(size(A,1),size(A,2));
for i=1:size(A,1)
    for j=1:size(A,2)
        %if( CL(i,j)>thress(i,j)*1.2 )
        if( CL(i,j)>0.3)
            M(i,j)=255;
        end
    end
end

```

```

    end
    end
end

    BW = M < max(M(:));
    subplot(233);
    imshow(BW);
    title('Segmentation GMM')
P=3000;
small = bwareaopen(BW,P,8); %gemizei tis trytes
small=1-small;           %antistrofi gia na bgalo ta mikra
cc = bwconncomp(small);
stats = regionprops(cc, 'Area');
idx = find([stats.Area] > 200);
region=ismember(labelmatrix(cc), idx);
subplot(236);
imshow(1-region);
title('final');
diskos=strel('disk',2,0);
after_strel=imopen(region,diskos);
dis1=strel('line',1,90);
dis2=strel('line',1,90);
dil=imdilate(after_strel,dis1);
dil=imdilate(dil,dis2);
uber=imfill(dil,'holes');
f3=uber;
subplot(236);
imshow(1-uber);
title('Final')
bord=imclearborder(uber);
perim=bwperim(bord);
fmarked=Grisa;
fmarked(perim)=255;
%×ñùíáôβæù ôçí ðãñβíáôñí íá Ûóðñí ÷ñþíá
subplot(235);
imshow(fmarked);
title('marked');
%[L, numcells ]=bwlabel(fper);

small=1-region;
blackpix=sum(~small(:))
blackpixim=sum(~Binary(:))
overlapping=sum(~small(:).*~Binary(:))
whiteoverlapping=sum(small(:).*Binary(:)) %
%%%%%%%%%%%%%%
tp=overlapping;
fp=blackpix-tp;
tn=whiteoverlapping;
fn=120000-tp-fp-tn;

```

```

%sens=tp/(tp+fn)*100
%spec=tn/(tn+fp)*100
prec=tp/(tp+fp);
reca=tp/(tp+fn);
F=2*prec*reca/(prec+reca);
% open the file with write permission
fid = fopen('result.txt', 'w' );
fprintf(fid, ' .....');
fprintf(fid, ' Apotelesmata gia tin eikona %s 400x300 pixel \t',InputName);
fprintf(fid, ' precision = %4.2f \t\t\t\t\t',prec);
fprintf(fid, ' recall = %4.2f \t\t\t\t\t',reca);
fprintf(fid, ' F = %4.2f \t\t\t\t\t',F);
command = sprintf ( 'notepad %s','C:\Users\pantelis\Documents\MATLAB\result.txt'
);
system ( command )
fclose(fid);

```

```

% -----
function water_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to water (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)

```

```

% -----
function watershed_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject handle to watershed (see GCBO)
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)
global f3

```

```

f3=1-f3;
%apo edo pame gia centroblasts
cc1 = bwconncomp(f3);
stats = regionprops(cc1, 'Area');
idx1 = find([stats.Area] > 700);
bigstay = ismember(labelmatrix(cc1), idx1);
D = bw dist(~bigstay,'quasi-euclidean');
D = -D;
D(~bigstay) = -Inf;
LL = watershed(D);
%objects=max(max(LL))
rgb = label2rgb(LL,'gray',[0 0 0]);
bw2=im2bw(rgb,0);
cc2 = bwconncomp(bw2);
stats = regionprops(cc2, 'Area');
idx2 = find([stats.Area] > 700);
%small = ismember(labelmatrix(cc), idx);
%small=1-small; %antistrofi gia na to kano opos itan
last = ismember(labelmatrix(cc2), idx2);

```

```
subplot(235);  
imshow(last);  
title('show possible centrolasts');
```

```
% -----  
function help_Callback(hObject, eventdata, handles)  
% hObject handle to help (see GCBO)  
% eventdata reserved - to be defined in a future version of MATLAB  
% handles structure with handles and user data (see GUIDATA)  
  
fid = fopen('help.txt', 'w');  
fprintf(fid, '.....');  
fprintf(fid, ' 1.epelexe tin Eikona apo File -Open \t\t\t\t');  
fprintf(fid, ' 2.epelexe Grayscale h PCA \t\t\t\t\t');  
fprintf(fid, ' 3.epelexe Filtro\t\t\t\t\t\t\t');  
fprintf(fid, ' 4.epelexe tmhmatopoishsh\t\t\t\t\t\t');  
fprintf(fid, ' 5.epelexe Watershed');  
command = sprintf('notepad %s', 'C:\Users\pantelis\Documents\MATLAB\help.txt');  
system(command)
```