



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ

**Ταξινόμηση ιστοπαθολογικών εικόνων
μικροσκοπίας σε κατηγορίες
κακοήθειας**

ΟΝΤΑΤΣΙΟΥΚ ΚΛΑΟΥΝΤΙΟΥ

Αριθμός Μητρώου: 13072

**Επιβλέπων Καθηγητής
Δημήτριος Γκλώτσος, Καθηγητής**

**Αθήνα,
2024**

Αθήνα 11/10/2024

Η Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ο Επιβλέπων Καθηγητής

Δημήτριος Γκλώτσος
Καθηγητής

Παντελεήμων Ασβεστάς
Καθηγητής

Σπυρίδων Κωστόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο υπογράφων Οντατσιούκ Κλαούντιου του Ντορέλ-Κρίστια, με αριθμό μητρώου 13072 φοιτητής του Τμήματος Μηχανικών Βιοϊατρικής της Σχολής Μηχανικών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του διπλώματός μου».

Ημερομηνία

11/10/2024

Ο Δηλών



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ταξινόμηση ιστοπαθολογικών εικόνων μικροσκοπίας σε κατηγορίες κακοήθειας αποτελεί κρίσιμη διαδικασία για την ανίχνευση και την πρόβλεψη των νόσων. Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται την επεξεργασία και ανάλυση ιστοπαθολογικών εικόνων καρκίνου εγκεφάλου με σκοπό την ταξινόμηση των όγκων σε βαθμό κακοήθειας μέσω ενός συστήματος ταξινόμησης που αναπτύχθηκε σε περιβάλλον Matlab. Τα δεδομένα (43 εικόνες χαμηλής κακοήθειας και 44 εικόνες υψηλής κακοήθειας) αποκτήθηκαν από το εργαστήριο Medical Image & Signal Processing του τμήματος Μηχανικών Βιοϊατρικής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής [1]. Πρώτα έγινε επεξεργασία των εικόνων με διάφορα φίλτρα για την ενίσχυση της αντίθεσης και την ομαλοποίηση των εικόνων έτσι ώστε να γίνει εστίαση στα σημεία ενδιαφέροντος, τους πυρήνες των κυττάρων. Έπειτα πραγματοποιήθηκε τμηματοποίηση των πυρήνων και εξαγωγή μορφολογικών χαρακτηριστικών και χαρακτηριστικών υφής. Αφού έγινε η εξαγωγή των χαρακτηριστικών, χρησιμοποιήθηκαν δύο ταξινομητές, ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης (Minimum Distance Classifier) και ο Bayesian ταξινομητής. Και οι δύο ταξινομητές δοκιμάστηκαν με δύο διαφορετικές μεθόδους εκπαίδευσης, την leave-one-out και την k-fold cross validation με $k=5$. Επίσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της εξαντλητικής αναζήτησης (exhaustive search) για την εύρεση του καλύτερου συνδυασμού χαρακτηριστικών μέχρι και ανά 12. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα και οι δύο ταξινομητές αποδείχθηκαν αρκετά αποδοτικοί στην σωστή ταξινόμηση των εικόνων. Ο Bayesian ταξινομητής με τη μέθοδο leave-one-out έφτασε σε ένα ποσοστό ακρίβειας της τάξης του 77% στην γενίκεση σε άγνωστα δεδομένα, ενώ ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης κατάφερε ένα 76% με την ίδια μέθοδο εκπαίδευσης. Με τη μέθοδο k-fold cross validation ($k=5$) ο Bayesian ταξινομητής έφτασε το ποσοστό του 77% στην ακρίβεια ταξινόμησης όσο και ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης. Και στις δύο περιπτώσεις ο Bayesian ταξινομητής παρουσίασε υψηλότερη σταθερότητα λόγω της μικρότερης απόκλισης από τη μέση τιμή της ακρίβειας. Τα αποτελέσματα αυτά δίνουν ένα αρκετά ικανοποιητικό ποσοστό στην γενίκευση των συστημάτων σε άγνωστα δεδομένα, ωστόσο υπάρχει περιθώριο βελτίωσης με την επίτευξη καλύτερης τμηματοποίησης των πυρήνων και τη χρήση περισσότερων εικόνων και χαρακτηριστικών για την εκπαίδευση των ταξινομητών.

Λέξεις Κλειδιά: Μικροσκοπία, Ιστοπαθολογία, Όγκος Εγκεφάλου, Συστήματα Υποστήριξης Απόφασης, Matlab

ABSTRACT

The classification of histopathological microscopy images into malignancy categories is a critical process for disease detection and prediction. This thesis addresses the processing and analysis of brain cancer histopathological images, aiming to classify tumors by their malignancy grade using a classification system developed in Matlab. The data (43 low malignancy images and 44 high malignancy images) were obtained from the Medical Image & Signal Processing Laboratory of the Biomedical Engineering Department at the University of West Attica [1]. Initially, the images were processed using various filters to enhance contrast and normalize the images to focus on the regions of interest, the cell nuclei. Next, nuclei segmentation was performed, followed by the extraction of morphological and texture features. After feature extraction, two classifiers were used: the Minimum Distance Classifier and the Bayesian Classifier. Both classifiers were tested with two different training methods, leave-one-out and k-fold cross-validation with $k=5$. Additionally, the exhaustive search method was used to find the best feature combination, up to sets of twelve features. According to the results, both classifiers proved to be quite effective in correctly classifying the images. The Bayesian classifier with the leave-one-out method achieved an accuracy rate of 77% in generalizing to unknown data, while the Minimum Distance Classifier reached 76% with the same training method. With the k-fold cross-validation method ($k=5$), the Bayesian classifier reached an accuracy rate of 77%, as did the Minimum Distance Classifier. In both cases, the Bayesian classifier demonstrated higher stability due to smaller deviation from the mean accuracy. These results provide a satisfactory generalization rate for the systems on unknown data; however, there is room for improvement through better nucleus segmentation and the use of more images and features for classifier training.

Keywords: Microscopy, Histopathology, Brain Tumor, Decision Support Systems (DSS), Matlab

Ευχαριστίες:

Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς τη στήριξη, την καθοδήγηση και τη εγγύτητα κάποιων ανθρώπων που υπήρξαν δίπλα μου κατά το διάστημα της συγγραφής. Πρώτα θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής μου εργασίας, Δημήτριο Γκλώτσο, ο οποίος με υπομονή και κατανόηση μου προσέφερε όλα τα αναγκαία εφόδια για την διεκπεραίωση της παρούσας διπλωματικής. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους/τις φίλους/ες μου Σ.Δ., Ν.Γ., Α.Α., για την συμπαράσταση και τις συμβουλές που μου προσέφεραν τις δύσκολες στιγμές.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1. Θεωρητικό Υπόβαθρο.....	10
1.1 Εργαλεία Μικροσκοπίας.....	11
1.1.1 Μικροσκοπία.....	11
1.1.2 Οργανολογία.....	12
1.1.2.1 Προσοφθάλμιοι φακοί.....	13
1.1.2.2 Αντικειμενικοί φακοί.....	14
1.1.2.3 Οπτικός Σωλήνας.....	16
1.1.2.4 Βραχίονας.....	16
1.1.2.5 Αντικειμενοφόρος Τράπεζα.....	16
1.1.2.6 Συμπυκνωτής.....	17
1.1.2.7 Διάφραγμα.....	17
1.1.2.8 Κοιλίες.....	17
1.1.2.9 Πηγή Φωτός.....	18
1.1.3 Είδη Μικροσκοπίου.....	18
1.1.3.1 Μικροσκοπία φωτεινού πεδίου.....	18
1.1.3.2 Μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου.....	19
1.1.3.3 Μικροσκοπία Φθορισμού.....	21
1.1.3.4 Συνεστιακά μικροσκόπια.....	22
1.1.3.5 Ηλεκτρονικά μικροσκόπια.....	23
1.2 Ιστοπαθολογία.....	25
1.3 Καρκίνος.....	26
1.3.1 Ορισμός και Αίτια.....	26
1.3.2 Τύποι Καρκίνου.....	27
1.4 Καρκίνος του Εγκεφάλου.....	27
1.4.1 Ορισμός Καρκίνου Εγκεφάλου.....	27
1.4.2 Αίτια.....	28
1.4.3 Συμπτώματα-Διάγνωση.....	29
1.4.4 Τύποι Καρκίνου Εγκεφάλου.....	30
1.4.5 Αντιμετώπιση/Θεραπείες.....	33
1.5 Συστήματα Υποστήριξης Αποφάσεων.....	35
1.5.1 Ορισμός και Χρήση.....	35
1.5.2 Ανάλυση και επεξεργασία ιατρικών εικόνων.....	35
1.6 Παρόμοια Έργα.....	40
2. Μεθοδολογία.....	43
2.1 Υλικό / Λογισμικό.....	43
2.1.1 Matlab.....	43
2.1.2 Αλγόριθμος.....	43
2.2 Συγκριτική Ανάλυση.....	43
2.3 Προσέγγιση.....	44
3. Αποτελέσματα.....	56
4. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	60

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην ιστορία της ανθρωπότητας, αλλά και κάθε είδους, η επιβίωση κατέχει έναν σημαντικό ρόλο στην καθημερινότητα κάθε οργανισμού. Η δημιουργία κοινωνικών ομάδων και η διατήρηση μίας υγιούς καθημερινότητας είναι απαραίτητη για την εξέλιξη. Η υγεία, λοιπόν, διακατέχει εξέχων ρόλο στη ζωή και ειδικότερα η ανθρωπότητα έχει εκτελέσει πολλαπλές κινήσεις προς τη βελτίωση και αντίληψη των μηχανισμών της. Είναι εμφανές ότι στη σύγχρονη εποχή, η τεχνολογική πρόοδος έχει επιφέρει σημαντικές βελτιώσεις στη διάγνωση και θεραπεία νόσων στον τομέα της ιατρικής επιστήμης, εκτελώντας τις απαραίτητες προσπάθειες για την εξάλειψη αυτών. Ένας από τους κλάδους που εκμεταλλεύεται την τεχνολογική αυτή εξέλιξη για την υποστήριξη της ιατρικής είναι η βιοϊατρική τεχνολογία.

Η βιοϊατρική τεχνολογία αναλαμβάνει το σημαντικό έργο του σχεδιασμού και της ανάπτυξης διαγνωστικών εργαλείων και ιατρικού εξοπλισμού. Από την ασφαλή χρήση έως τη συντήρηση αυτού του εξοπλισμού, η βιοϊατρική τεχνολογία επιφέρει σημαντικές καινοτομίες που ενισχύουν την ποιότητα της παροχής υγειονομικής περίθαλψης. Αυτός ο τομέας αποτελεί καίριο παράγοντα για την αποτελεσματική διάγνωση, θεραπεία και παρακολούθηση των ασθενών, συμβάλλοντας έτσι στη βελτίωση της υγειονομικής φροντίδας και της ασφάλειας των ασθενών [2].

Η βιοϊατρική τεχνολογία εξαπλώνεται σε διάφορους τομείς και βρίσκει χρήση συνδέοντας πολλές επιστήμες, όπως η βιολογία, η χημεία και η φυσική, με πολλά πεδία της μηχανικής, όπως η βιοχημεία, η βιομηχανική και η μηχανική υπολογιστών. Αυτή η διασύνδεση επικεντρώνεται στην επεξεργασία και ανάλυση της ιατρικής εικόνας, προσφέροντας καινοτόμες λύσεις για την κατανόηση και την αντιμετώπιση των ιατρικών προκλήσεων [3].

Μία από τις σύγχρονες μεθόδους διάγνωσης ασθενειών αποτελούν οι τεχνικές απεικόνισης ιατρικών εικόνων. Ο ασθενής υπόκειται σε μία σειρά από εξετάσεις, οι οποίες συμπεριλαμβάνουν την λήψη εικόνων με διάφορες μεθόδους, όπως ακτινογραφίες ή μαγνητικές σαρώσεις με σκοπό την αναλυτική απεικόνιση της κατάστασης του ασθενούς. Όσο πιο αναλυτική και καθαρή η εικόνα, τόσο πιο δυνατή είναι η σωστή και έγκαιρη διάγνωση [4].

Ένας κλάδος στον οποίο βρίσκει χρήση η τεχνική αυτή αφορά τη διάγνωση καρκίνου, μία από τις πιο θανατηφόρες ασθένειες της σύγχρονης εποχής. Ο καρκίνος αποτελεί ένα από τα πλέον σημαντικά προβλήματα υγείας παγκοσμίως. Σύμφωνα με έρευνα του 2020, καταγράφηκαν 19 εκατομμύρια νέα περιστατικά καρκίνου και 10 εκατομμύρια θάνατοι λόγω καρκίνου. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει ένας κίνδυνος 20% να διαγνωστεί κάποιος με καρκίνο μία φορά στη ζωή του και 10% να πεθάνει από αυτήν την ασθένεια. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πιο συχνό καρκίνο, ενώ ακολουθεί ο καρκίνος του πνεύμονα. Ωστόσο, η πιο θανατηφόρα μορφή καρκίνου είναι ο καρκίνος του πνεύμονα, ενώ ακολουθούν οι καρκίνοι του ήπατος και του στομάχου [5].

Ο καρκίνος του εγκεφάλου αποτελεί έναν από τους πιο επιθετικούς όγκους. Αν και δεν ανήκει στους πιο συχνούς τύπους καρκίνου, είναι υπεύθυνος για το 29.5% των θανάτων που σχετίζονται με αυτήν την ασθένεια. Ο καρκίνος αυτός επηρεάζει σημαντικές περιοχές και λειτουργίες του εγκεφάλου και του κεντρικού νευρικού συστήματος. Οι όγκοι στον εγκέφαλο χωρίζονται σε πρωτογενείς και σε μεταστατικούς. Οι πρωτογενείς όγκοι αναπτύσσονται απευθείας στον εγκέφαλο ενώ οι μεταστατικοί προέρχονται συνήθως από καρκίνους που έχουν αναπτυχθεί σε άλλα μέρη του σώματος και έχουν μετακινηθεί στον εγκέφαλο μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ή του λεμφικού συστήματος [6].

Ένα από τα κύρια προβλήματα που αντιμετωπίζει η ιατρική κοινότητα είναι η ανθρώπινη υποκειμενικότητα και η αβεβαιότητα στην ερμηνεία των ιατρικών εικόνων. Η έλλειψη συνοχής και αντικειμενικότητας στη διάγνωση μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές δυσκολίες στην αντιμετώπιση των ασθενών. Στην προσπάθεια αντιμετώπισης αυτών των προκλήσεων, η εφαρμογή συστημάτων υποστήριξης απόφασης και η χρήση προηγμένων τεχνικών επεξεργασίας εικόνας αναδεικνύεται ως αναγκαία. Τέτοιες προσεγγίσεις επιτρέπουν την αντιμετώπιση της υποκειμενικότητας και την αύξηση της ακρίβειας και της συνέπειας στη διάγνωση και θεραπεία των ασθενειών [7].

Η διπλωματική αυτή θα επικεντρωθεί στην πρόκληση της επεξεργασίας και ανάλυσης ιατρικών εικόνων, η οποία αποτελεί ένα κρίσιμο θέμα στον τομέα της ιατρικής, με έμφαση στην χρήση ιστολογικών εικόνων για κακοήθειες εγκεφάλου. Η διπλωματική αυτή, εφόσον αναφερθεί σε σχετικές εργασίες από άλλους φορείς στον χώρο, αναφέροντας τεχνικές και μεθόδους προσέγγισης, στην συνέχεια αναφέρεται στην συγκριτική ανάλυση αυτών και την επιλογή της βέλτιστης τακτικής. Η τακτική αυτή θα υλοποιηθεί στα πλαίσια της παρούσας εργασίας με σχετικές πειραματικές μελέτες.

Συγκεκριμένα, η διπλωματική αυτή αποτελείται από την ακόλουθη δομή: Στην αρχή αναφέρεται το θεωρητικό υπόβαθρο που πρέπει να κατέχει ο αναγνώστης, αναλύοντας τα εργαλεία μικροσκοπίας, τον ορισμό του καρκίνου και τις διάφορες μορφές του, εστιάζοντας στον καρκίνο εγκεφάλου καθώς επίσης αναλύει τα συστήματα υποστήριξης απόφασης που χρησιμοποιούνται για την διάγνωση. Στη συνέχεια αναφέρεται η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε κατά την υλοποίηση αυτής της διπλωματικής, την επιλογή των υλικών και λογισμικών καθώς και των αλγορίθμων για την εκτέλεση των πειραμάτων. Έπειτα αναφέρει τις πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, ενώ αναλύονται και τα αποτελέσματα αυτών. Τέλος έχουμε την σχετική συζήτηση περί των αποτελεσμάτων, μελλοντικές επεκτάσεις και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την έρευνα, αντιστοίχως.

1. Θεωρητικό Υπόβαθρο

Αυτή η διπλωματική συνδυάζει τρεις θεμελιώδεις τομείς: τη μικροσκοπία, την ιστοπαθολογία και τα συστήματα υποστήριξης απόφασης. Η μικροσκοπία βρίσκεται ευρεία εφαρμογή σε πολλούς τομείς, όπως η βιολογία, η βιοχημεία, η βιοϊατρική, η επιστήμη των υλικών και πολλούς άλλους [8], [9]. Ειδικότερα, στη βιολογία η χρήση μικροσκοπίων είναι ιδιαίτερα απαραίτητη για την εξέταση κυτταρικών δομών, την αποσαφήνιση των μοριακών μηχανισμών και τη μελέτη της ανάπτυξης των κυτταρικών οργανισμών [10]. Μια περιοχή ενδιαφέροντος στη βιολογία είναι η ανάλυση και η ταξινόμηση των καρκινικών όγκων. Ένα ισχυρό εργαλείο σε αυτή την κατεύθυνση είναι το μικροσκόπιο, με το οποίο μπορούμε να απεικονίσουμε τον καρκινικό ιστό σε κυτταρικό επίπεδο, προσφέροντάς μας έτσι τη δυνατότητα να παρατηρήσουμε δομικές ανωμαλίες, μορφολογικά χαρακτηριστικά, κυτταρικές αλληλεπιδράσεις και παθολογικές αλλαγές.

Εκτός από τη χρήση των μικροσκοπίων στην απεικόνιση δειγμάτων καρκινικών όγκων, η ιστοπαθολογία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διάγνωση και την ανάλυση του δείγματος. Η ιστοπαθολογία περιλαμβάνει τη μικροσκοπική εξέταση δειγμάτων ιστού για την ανίχνευση κυτταρικών ανωμαλιών και την καθοδήγηση της θεραπευτικής μεθόδου. Ιστοπαθολογικές τεχνικές όπως η χρώση ιστών, η ανοσοϊστοχημεία και η μοριακή ανάλυση χρησιμοποιούνται σε διάφορους τομείς όπως η ογκολογία, παθολογία και η μοριακή βιολογία. Συγκεκριμένα, στη μελέτη όγκων, χρησιμοποιούνται ιστοπαθολογικές μέθοδοι για την ανάλυση της αρχιτεκτονικής των ιστών, την αξιολόγηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την ανίχνευση γενετικών αλλαγών και τον προσδιορισμό του υποτύπου και του βαθμού του όγκου [11].

Τα Συστήματα Υποστήριξης Αποφάσεων παίζουν έναν κρίσιμο ρόλο στην επεξεργασία και την ανάλυση των δεδομένων που προκύπτουν από την ιστοπαθολογία. Μέσω αυτών των συστημάτων, οι ιατροί μπορούν να λάβουν πιο ενημερωμένες αποφάσεις σχετικά με τη διάγνωση, την αντιμετώπιση και τη διαχείριση των νοσημάτων. Με τη χρήση προηγμένων αλγορίθμων και τεχνικών επεξεργασίας δεδομένων, αυτά τα συστήματα μπορούν να προσφέρουν προσωποποιημένες προτάσεις θεραπείας βασισμένες στα ευρήματα της ιστοπαθολογίας για κάθε ασθενή. Επίσης, βοηθούν στην παρακολούθηση της προόδου της θεραπείας και την πρόβλεψη των αποτελεσμάτων, ενισχύοντας έτσι την αποτελεσματικότητα και την επιτυχία της ιατρικής πρακτικής.

Με τη συνδυασμένη χρήση αυτών των τριών τομέων - μικροσκοπίας, ιστοπαθολογίας και συστημάτων υποστήριξης αποφάσεων - η έρευνα και η κλινική πράξη ενισχύονται δραματικά. Αυτή η διασταύρωση τεχνολογιών και εξειδικευμένων γνώσεων διαμορφώνει μια πιο ολοκληρωμένη και αποτελεσματική προσέγγιση στην αντιμετώπιση των νόσων, επιτρέποντας στους ιατρούς να παρέχουν καλύτερη φροντίδα στους ασθενείς και να προωθούν την πρόοδο στον τομέα της ιατρικής. Οι επομένως υποενότητες αναλύουν και παρουσιάζουν τα αντίστοιχα εργαλεία.

1.1 Εργαλεία Μικροσκοπίας

Τα εργαλεία μικροσκοπίας αποτελούν το βασικό εξοπλισμό που χρησιμοποιείται στον κλάδο της μικροσκοπίας για την παρατήρηση και τη μελέτη των δομών και των διεργασιών σε μικρές κλίμακες. Αυτά τα εργαλεία περιλαμβάνουν διάφορους τύπους μικροσκοπίων, όπως οπτικά, ηλεκτρονικά και φθοριστικά μικροσκόπια, καθώς και τον αντίστοιχο εξοπλισμό για την προετοιμασία δειγμάτων. Αυτά τα εργαλεία είναι κρίσιμα για την κατανόηση της δομής και της λειτουργίας των οργάνων, των κυττάρων και των ιστών, καθώς και για τη διάγνωση παθήσεων όπως ο καρκίνος. Η μικροσκοπία παρέχει τη δυνατότητα να δούμε τον κόσμο σε επίπεδα λεπτομέρειας που δεν είναι δυνατόν με γυμνό μάτι.

1.1.1 Μικροσκοπία

Πολλών ειδών μικροσκόπια έχουν αναπτυχθεί για την απεικόνιση καρκινικών όγκων, με το καθένα να συμβάλει στην καλύτερη απεικόνιση και εξέταση του δείγματος. Μερικά από αυτά είναι τα οπτικά μικροσκόπια, τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια, τα συνεστιακά μικροσκόπια και τα μικροσκόπια υπερανάλυσης [12], [13]. Τα οπτικά μικροσκόπια έχουν τη δυνατότητα απεικόνισης κυτταρικής μορφολογίας και αρχιτεκτονικής του ιστού ενώ τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια προσφέρουν υψηλής ανάλυσης απεικόνιση σε νανοκλίμακα των υποκυτταρικών δομών. Τα συνεστιακά μικροσκόπια προσφέρουν το πλεονέκτημα της οπτικής τομής του υπό εξέταση δείγματος με αποτέλεσμα τη δυνατότητα της 3-διάστατης απεικόνισης ενώ τα μικροσκόπια υπερανάλυσης μπορούν να εξετάσουν ιδιότητες της επιφάνειας του δείγματος και τις μοριακές αλληλεπιδράσεις σε νανοκλίμακα [14].

Έχουν περάσει πάνω από 300 χρόνια από την κορυφαία ανακάλυψη, η οποία κατά γενικό κανόνα αποδίδεται σε δύο Ολλανδούς κατασκευαστές γυαλιών τον Zaccharias Janssen και τον γιό του Hans Janssen τον 16^ο αιώνα, και την αρχική εφαρμογή του οπτικού μικροσκοπίου για την παρατήρηση ζωντανών κυττάρων [15]. Σημαντικοί πρωτοπόροι στην εφαρμογή της μικροσκοπίας για τη μελέτη των έμβιων όντων σε κυτταρικό επίπεδο και την εδραίωση αυτού του εργαλείου στη βιολογία και την ιατρική είναι οι Antonie van Leeuwenhoek και Robert Hooke.

Ο Antonie van Leeuwenhoek, ένας Ολλανδός έμπορος και επιστήμονας του 17ου αιώνα σχεδίασε πάνω από 500 μικροσκόπια μονού φακού με τα οποία παρατήρησε και περιέγραψε πολλούς μικροοργανισμούς για πρώτη φορά, από τους μικροσκοπικούς οργανισμούς του νερού έως τα πρωτόζωα και τα σπερματοζώαρια. Οι παρατηρήσεις του ήταν επαναστατικές για την εποχή του και επέτρεψαν στον κόσμο να αντιληφθεί την ποικιλομορφία της μικροβιακής ζωής [16].

Από την άλλη ο Hooke εισήγαγε ένα σύνθετο μικροσκόπιο με αρκετά όμοια δομή με αυτή που γνωρίζουμε σήμερα, αποτελούμενο από τρεις φακούς, μια τράπεζα για την σταθεροποίηση του δείγματος και μια φωτεινή πηγή [16].

Από τότε μέχρι και σήμερα έχουν γίνει σημαντικές ανακαλύψεις στον τομέα της μικροσκοπίας. Πολλές καινούριες τεχνικές μικροσκοπίας έχουν προκύψει με σκοπό την καλύτερη κατανόηση της μορφολογίας και λειτουργίας των κυττάρων.

Τον 19^ο αιώνα έχουμε την ανάπτυξη σύνθετων μικροσκοπίων και τεχνικών χρώσης τα οποία βελτίωσαν την ανάλυση των εικόνων και τη διαφοροποίηση των κυτταρικών τύπων και δομών. Συνεχίζοντας στον 20^ο αιώνα έχουμε την εφεύρεση της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας η οποία επέφερε τεράστιες αλλαγές στην απεικόνιση προσφέροντας πολύ πιο λεπτομερή εικόνα των κυτταρικών δομών ενώ στη σημερινή εποχή η μικροσκοπία φθορισμού, όπως η συνεστιακή και η πολυφωτονική μικροσκοπία αλλά και η μικροσκοπία υπερανάλυσης όπως τα μικροσκόπια δομημένου φωτός (Structured Illumination Microscopy - SIM) και η στοχαστική οπτική μικροσκοπία ανακατασκευής (Stochastic Optical Reconstruction Microscopy - STORM) προσφέρουν ακόμη μεγαλύτερη ανάλυση και ευαισθησία στην εικόνα των κυτταρικών δομών [17].

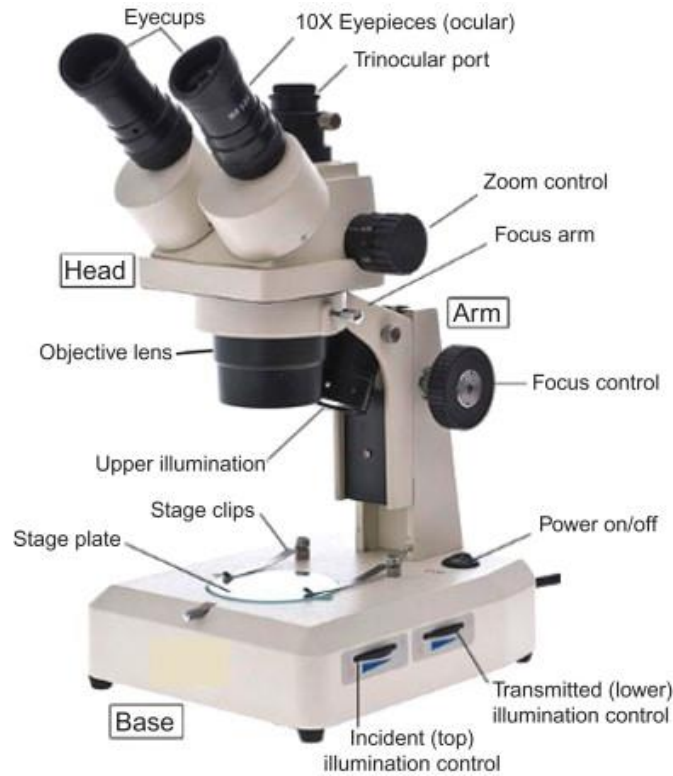
Το ανθρώπινο μάτι, υπό ιδανικές συνθήκες μπορεί να ανιχνεύσει αντικείμενα μέχρι 0.1mm. Τα μικροσκόπια μας δίνουν τη δυνατότητα να παρατηρήσουμε αντικείμενα σε πολύ μικρότερη κλίμακα καθώς μπορούν να μεγεθύνουν μια εικόνα από 40 έως 1.000.000 φορές. Συνεπώς μπορούμε να δούμε αντικείμενα της τάξης των 200nm με ένα οπτικό μικροσκόπιο ενώ έχουμε τη δυνατότητα να φτάσουμε στο μέγεθος των 0.1nm με ένα μικροσκόπιο σάρωσης σήραγγας [18]. Έτσι μας δίνεται η δυνατότητα να παρατηρήσουμε μικροοργανισμούς, βακτήρια, ιούς, υποκυτταρικές δομές και άλλα.

Μπορούμε να χωρίσουμε τα μικροσκόπια σε δύο κατηγορίες: τα απλά και τα σύνθετα. Τα απλά μικροσκόπια αποτελούνται από έναν μονό φακό ή από μια σειρά φακών σε συνδυασμό. Ένα παράδειγμα απλού μικροσκοπίου είναι ο κοινός μεγεθυντικός φακός. Από την άλλη, τα σύνθετα μικροσκόπια είναι πιο περίπλοκα οπτικά συστήματα, και παρόλο που διαφοροποιούνται ανάλογα με τα φυσικά φαινόμενα που χρησιμοποιούν και τη μεγέθυνση που προσφέρουν, έχουν σχεδόν όμοια δομή που περιλαμβάνει τους προσοφθάλμιους φακούς, τους αντικειμενικούς φακούς, την αντικειμενοφόρο τράπεζα, το συμπυκνωτή, τη φωτεινή πηγή και τον μηχανισμό εστίασης. Αυτά τα μέρη δουλεύουν μαζί για να προσφέρουν υψηλή μεγέθυνση και διακριτική ικανότητα.

Καθώς τα οπτικά μικροσκόπια έφτασαν σε ένα όριο ως προς τη μεγέθυνση και τη διακριτική ικανότητα, τροποποιήθηκαν ή αναπτύχθηκαν νέες τεχνολογίες μικροσκοπίας όπως για παράδειγμα τα μικροσκόπια φθορισμού και τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια, με τα Ηλεκτρονικά Μικροσκόπια Σάρωσης (ΗΜΣ, Scanning Electron Microscopes, SEM) και τα Ηλεκτρονικά Μικροσκόπια Διέλευσης (ΗΜΔ, Transmission Electron Microscopes, TEM) να προσφέρουν τη δυνατότητα απεικόνισης σε μοριακό αλλά και ατομικό επίπεδο.

1.1.2 Οργανολογία

Το μικροσκόπιο αποτελείται από πολλαπλά μέρη. Κάθε μέρος είναι απαραίτητο για την σωστή του λειτουργία και επιλέγεται ξεχωριστά βάση των αναγκών που τίθενται σε κάθε εξέταση. Η ακόλουθη εικόνα (Εικόνα 1.1.) παρουσιάζει τα μέρη αυτά, καθώς και την αντίστοιχη τοποθέτησή τους στο μικροσκόπιο.



Εικόνα 1.1. Οπτικό Μικροσκόπιο [πηγή:
<https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/optical-microscope>]

1.1.2.1 Προσοφθάλμιοι φακοί

Οι προσοφθάλμιοι φακοί (Εικόνα 1.2.) αναλαμβάνουν το σημαντικό έργο της τελικής μεγέθυνσης και εστίασης της εικόνας που παράγεται από τους αντικειμενικούς φακούς. Αυτοί οι φακοί τοποθετούνται κοντά στον οφθαλμό του παρατηρητή και προβάλλουν την μεγεθυμένη εικόνα στον οφθαλμό του.

Η λειτουργία των προσοφθάλμιων φακών δεν περιορίζεται μόνο στη μεγέθυνση της εικόνας, αλλά επίσης στην εστίαση και τη διόρθωση οπτικών παραμορφώσεων. Αυτός ο φακός είναι υπεύθυνος για την προσαρμογή της εικόνας έτσι ώστε να είναι σαφής και ευκρινής για τον παρατηρητή, επιτρέποντας την ακριβή ανάλυση των λεπτομερειών του δείγματος.

Η επιλογή των προσοφθάλμιων φακών εξαρτάται από τις απαιτήσεις της εφαρμογής και τις προτιμήσεις του παρατηρητή. Υπάρχουν προσοφθάλμιοι φακοί με διαφορετικές μεγεθύνσεις και οπτικά χαρακτηριστικά που επιτρέπουν την προσαρμογή στις διαφορετικές ανάγκες παρατήρησης και εξέτασης.

Συνολικά, οι προσοφθάλμιοι φακοί είναι κρίσιμοι για την ακριβή παρατήρηση και ανάλυση των δειγμάτων υπό μικροσκόπιο, καθιστώντας την εικόνα ευδιάκριτη και επιτρέποντας στον παρατηρητή να εξάγει συμπεράσματα με ακρίβεια και εμπιστοσύνη [19]



Εικόνα 1.2. Προσοφθάλμιοι Φακοί [πηγή: <https://www.firstlightoptics.com/astro-essentials-eyepieces/astro-essentials-super-plossl-eyepiece.html>]

1.1.2.2 Αντικειμενικοί φακοί

Οι αντικειμενικοί φακοί (Εικόνα 1.3.) θεωρούνται το πιο σημαντικό τμήμα του μικροσκοπίου. Η κύρια λειτουργία τους είναι να συγκεντρώσει το φως που διαπερνά το υπό εξέταση δείγμα και να προβάλλει μια μεγεθυμένη ανεστραμμένη εικόνα του ειδώλου στο εσωτερικό του μικροσκοπίου.



Εικόνα 1.3. Αντικειμενικοί Φακοί [πηγή:
<https://micro.magnet.fsu.edu/primer/anatomy/specifications.html>]

Πιο συγκεκριμένα, η σύσταση τους αποτελείται από μια σειρά φακών που έχουν σχεδιαστεί για να συγκεντρώνουν το φως που πέφτει πάνω στο δείγμα που εξετάζουμε. Αυτό το φως, ανακλώμενο από το δείγμα ή διαπερνώντας μέσα από αυτό, προσανατολίζεται στους αντικειμενικούς φακούς προκειμένου να δημιουργήσει μια μεγεθυμένη, ανεστραμμένη εικόνα του δείγματος στον ενδιάμεσο του μικροσκοπίου.

Η επιλογή του κατάλληλου αντικειμενικού φακού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η φωτεινότητα του δείγματος, η ανάλυση που επιθυμούμε να επιτύχουμε, και η μεγέθυνση που χρειαζόμαστε. Συνήθως, τα μικροσκόπια έχουν περισσότερους από έναν αντικειμενικούς φακούς που μπορούν να αλλάζουν εύκολα ανάλογα με τις απαιτήσεις της εξέτασης, με την χρήση ενός απλού μοχλού [20].

Υπάρχουν διάφορα είδη αντικειμενικών φακών όπως οι αχρωματικοί, οι φθοριτικοί ή ημιαχρωματικοί και οι αποχρωματικοί. **Οι αχρωματικοί** είναι οι πιο κοινοί και οικονομικά φθηνότεροι και χρησιμοποιούνται ευρέως σε περιπτώσεις που δεν είναι αναγκαία η υψηλή ακρίβεια στην εικόνα καθώς δεν μπορούν να συμπεριλάβουν πολλά μήκη κύματος του ορατού φωτός στην διόρθωση χρωματικών και σφαιρικών εκτροπών. **Οι φθοριτικοί** φτιάχνονται από γυαλί που η σύνθεσή του περιέχει φθορίτη ή σύγχρονα συνθετικά υποκατάστατα. Διορθώνουν σημαντικές χρωματικές και σφαιρικές εκτροπές συμπεριλαμβάνοντας περισσότερα μήκη κύματος και συνεπώς προσφέρουν υψηλότερη φωτεινότητα και ανάλυση εικόνας. **Οι αποχρωματικοί** φακοί αν και είναι πιο ακριβοί προσφέρουν ωστόσο σημαντικά πλεονεκτήματα στην ανάλυση της εικόνας καθώς υπερτερούν στη διόρθωση χρωματικών και σφαιρικών εκτροπών σε όλα τα μήκη κύματος του ορατού φωτός [21].

Οι αντικειμενικοί φακοί διορθώνουν διάφορες οπτικές εκτροπές όπως οι σφαιρικές και οι χρωματικές εκτροπές, τον αστιγματισμό και την καμπυλότητα του οπτικού πεδίου. Η χρήση εξελιγμένων υπολογιστικών συστημάτων όπως το CAD (computer-aided design) και ειδικών υλικών για την παρασκευή των φακών με ακριβή δείκτη διάθλασης έχουν εξελίξει πολύ τους σημερινούς προσοφθάλμιους φακούς ενός

μικροσκοπίου προσφέροντας εικόνες με υψηλή φωτεινότητα, καθαρότητα και σαφήνεια [21].

1.1.2.3 Οπτικός Σωλήνας

Ο οπτικός σωλήνας αποτελεί ένα βασικό συστατικό σε οποιοδήποτε μικροσκόπιο και αποτελεί το μέσο μέσω του οποίου ο παρατηρητής παρακολουθεί την εικόνα του δείγματος. Ο οπτικός σωλήνας είναι η απόσταση που συνδέει τους αντικειμενικούς και τους προσοφθάλμιους φακούς, επιτρέποντας στο φως που περνά από το δείγμα να φτάσει στον οφθαλμό του παρατηρητή. Αυτή η απόσταση έχει καθοριστεί από το Royal Microscopical Society στα 160mm. Αν και υπάρχουν παλιότερα μικροσκόπια με διαφορετικό μήκος οπτικού σωλήνα, ωστόσο ο κανόνας που επικρατεί είναι τα 160mm και οι αντικειμενικοί φακοί κατασκευάζονται για αυτό το μήκος οπτικού σωλήνα. Απόκλιση από αυτό τον κανόνα όπως για παράδειγμα η χρήση αντικειμενικών φακών σε μικροσκόπιο με διαφορετικό μήκος οπτικού σωλήνα μπορεί να προκαλέσει υποβάθμιση της ανάλυσης της εικόνας [22].

1.1.2.4 Βραχίονας

Ο βραχίονας στο μικροσκόπιο αποτελεί το μέρος του οπτικού συστήματος που στηρίζει και επιτρέπει την κίνηση των φακών και του δείγματος. Ο βραχίονας παρέχει σταθερή στήριξη στα στοιχεία του μικροσκοπίου, ενώ επιτρέπει την εύκολη προσαρμογή και κίνηση τους για εστίαση και παρατήρηση. Ο σχεδιασμός του βραχίονα εξαρτάται από τον τύπο του μικροσκοπίου και τις λειτουργικές απαιτήσεις του. Συχνά περιλαμβάνει διάφορα μέρη που μπορούν να ρυθμιστούν, όπως ελεγχόμενοι μηχανισμοί για την ανύψωση, την κλίση και την περιστροφή των φακών και της τράπεζας, προσφέροντας έτσι μεγάλη ευελιξία κατά την παρατήρηση. Ο βραχίονας είναι ουσιώδης για τη σταθερότητα και την ακρίβεια του μικροσκοπίου κατά τη διάρκεια της παρατήρησης. Ένας καλά σχεδιασμένος βραχίονας επιτρέπει τη γρήγορη και ακριβή μετάβαση μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων και τον ακριβή έλεγχο των κινούμενων μερών του μικροσκοπίου.

1.1.2.5 Αντικειμενοφόρος Τράπεζα

Η τράπεζα στο μικροσκόπιο αποτελεί την πλατφόρμα όπου τοποθετείται το δείγμα για παρατήρηση. Με τη βοήθεια ενός πλακιδίου, το δείγμα σταθεροποιείται πάνω στην τράπεζα για την εξέταση. Ένας σημαντικός χαρακτηριστικός είναι η δυνατότητα μετακίνησης του δείγματος μπροστά/πίσω και αριστερά/δεξιά με τη χρήση ενός συστήματος χειρισμού X-Y. Αυτό επιτρέπει στον παρατηρητή να επιλέξει συγκεκριμένες περιοχές του δείγματος για παρατήρηση και ανάλυση. Επιπλέον, για τη διέλευση του φωτός προς το δείγμα, υπάρχει μια σχισμή στην τράπεζα που επιτρέπει την ακριβή και στοχευμένη καθοδήγηση του φωτός πάνω στο δείγμα. Αυτή η σχισμή εξασφαλίζει ότι η φωτεινή δέσμη είναι κατευθυνόμενη και συγκεντρωμένη στην περιοχή του δείγματος που παρατηρείται, βοηθώντας έτσι στην εξασφάλιση της καλύτερης δυνατής εικόνας [23].

1.1.2.6 Συμπυκνωτής

Ο συμπυκνωτής αποτελεί ένα κρίσιμο στοιχείο στη λειτουργία του μικροσκοπίου, με κύριο ρόλο τη συγκέντρωση της οπτικής ακτινοβολίας από την πηγή φωτός και τη διανομή της σε παράλληλες δέσμες προς το δείγμα. Η λειτουργία του συμπυκνωτή επιτρέπει την αποτελεσματική χρήση της διαθέσιμης φωτεινότητας, καθώς συγκεντρώνει το φως από την πηγή και το οδηγεί προς το δείγμα με μεγάλη ακρίβεια και επικέντρωση. Αυτό διευκολύνει την δημιουργία ενός ορισμένου και έντονου φωτισμού πάνω στο δείγμα, βελτιώνοντας την ποιότητα και την ευκρίνεια της εικόνας που αποκτά ο παρατηρητής.

Η δομή του συμπυκνωτή επιτρέπει την προσαρμογή του φωτισμού σύμφωνα με τις απαιτήσεις της εξέτασης. Μέσω ρυθμίσεων των αντίστοιχων κοχλίων για ρύθμιση μήκους και ύψους, ο χρήστης μπορεί να προσαρμόσει τον συμπυκνωτή για να επιτύχει τον επιθυμητό φωτισμό και την ανάλυση [24].

1.1.2.7 Διάφραγμα

Το διάφραγμα στο μικροσκόπιο, ειδικά το διάφραγμα του συμπυκνωτή, αποτελεί ένα από τα κλειδιά για τον έλεγχο της ποσότητας του φωτός που διαπερνά το δείγμα και συμβάλλει στην αντίθεση της εικόνας. Με τη ρύθμιση του διαφράγματος, ο χρήστης μπορεί να προσαρμόσει την ποσότητα φωτός που φτάνει στο δείγμα, επηρεάζοντας έτσι τη φωτεινότητα και την ευκρίνεια της εικόνας.

Με την αύξηση του διαφράγματος, μειώνεται η ποσότητα του φωτός που περνά μέσα από το δείγμα. Αυτό μπορεί να βελτιώσει την αντίθεση της εικόνας και να μειώσει το φαινόμενο της διάχυσης του φωτός, επιτρέποντας στον παρατηρητή να διακρίνει καλύτερα τις λεπτομέρειες του δείγματος. Αντίστοιχα, η μείωση του διαφράγματος αυξάνει την ποσότητα του φωτός, αλλά μπορεί να μειώσει την αντίθεση και να οδηγήσει σε απώλεια λεπτομερειών. Η σωστή ρύθμιση του διαφράγματος είναι κρίσιμη για την επίτευξη υψηλής ποιότητας εικόνας και για τη μείωση των παρασίτων στην εικόνα. Με τη σωστή ρύθμιση, μπορεί να επιτευχθεί βέλτιστη ανάλυση και ευκρίνεια, εξασφαλίζοντας ότι η παρατήρηση του δείγματος είναι ακριβής και αξιόπιστη [25]. (Davidson and Abramowitz, 2002).

1.1.2.8 Κοχλίες

Δύο είναι οι βασικοί κοχλίες του μικροσκοπίου, ο Μακρομετρικός και ο Μικρομετρικός κοχλίας.

Ο μακρομετρικός κοχλίας αποτελεί ένα σημαντικό μέρος του μικροσκοπίου και χρησιμοποιείται για την ακριβή κίνηση του βραχίονα και του οπτικού συστήματος πάνω στον άξονα Z, δηλαδή για τον προσδιορισμό του εστιακού βάθους του δείγματος. Ο μικρομετρικός κοχλίας επιτρέπει στον χρήστη να ρυθμίσει το εστιακό επίπεδο του δείγματος, επιτρέποντας έτσι την εστίαση και την απόκτηση ευκρινών εικόνων. Συχνά ο μικρομετρικός κοχλίας είναι σχεδιασμένος με μεγάλη ακρίβεια και ανάλυση, επιτρέποντας στον χρήστη να κάνει μικρές ή μεγάλες κινήσεις στο βραχίονα με ακρίβεια και ευκολία. Η κίνηση αυτή είναι ουσιώδης για την προσαρμογή του εστιακού βάθους στις απαιτήσεις της παρατήρησης και της

ανάλυσης του δείγματος. Ο μακρομετρικός κοχλίας αποτελεί κρίσιμο εργαλείο στη μικροσκοπική ανάλυση, παρέχοντας τη δυνατότητα ακριβούς ρύθμισης του εστιακού επιπέδου και εξασφαλίζοντας την απόκτηση ευκρινών εικόνων για την ανάλυση των δειγμάτων.

Ο μικρομετρικός κοχλίας είναι ένα σημαντικό μέρος του μικροσκοπίου που χρησιμοποιείται για την ακριβή ρύθμιση του εστιακού επιπέδου και την εστίαση των φακών πάνω στο δείγμα. Ο μικρομετρικός κοχλίας επιτρέπει στον χρήστη να κάνει πολύ μικρές, ακριβείς και ελεγχόμενες κινήσεις στον βραχίονα του μικροσκοπίου. Με τη χρήση του μικρομετρικού κοχλία, ο χρήστης μπορεί να προσαρμόσει το εστιακό επίπεδο του δείγματος με ακρίβεια και ευκολία, εξασφαλίζοντας την απόκτηση ευκρινών και ακριβών εικόνων. Ο μικρομετρικός κοχλίας είναι σχεδιασμένος για να παρέχει σταθερότητα και ακρίβεια στις κινήσεις του βραχίονα, επιτρέποντας έτσι στον χρήστη να εστιάσει με ακρίβεια και να προσαρμόσει το εστιακό επίπεδο σύμφωνα με τις ανάγκες της παρατήρησης.

1.1.2.9 Πηγή Φωτός

Η πηγή φωτός (ή φωτιστικό) αποτελεί ένα βασικό στοιχείο κάθε μικροσκοπίου, καθώς παρέχει το φως που απαιτείται για τον φωτισμό του δείγματος και την παραγωγή της εικόνας. Η επιλογή της κατάλληλης πηγής φωτός είναι κρίσιμη για την ποιότητα και την ακρίβεια των παρατηρούμενων εικόνων. Οι σύγχρονες πηγές φωτός μπορεί να περιλαμβάνουν μια ποικιλία τεχνολογιών, ανάλογα με τον τύπο της μικροσκοπίας και τις απαιτήσεις της εφαρμογής. Μερικές από τις συνηθέστερες πηγές φωτός περιλαμβάνουν λάμπες αλογόνου, που προσφέρουν ένα φωτεινό και σταθερό φως, LED που παρέχουν χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και μεγάλη διάρκεια ζωής, καθώς και λέιζερ που προσφέρουν έντονο και συγκεντρωμένο φως για ειδικές εφαρμογές.

Η κατάλληλη πηγή φωτός επιλέγεται με βάση τις απαιτήσεις της εφαρμογής, τον τύπο του δείγματος και τις προδιαγραφές του μικροσκοπίου. Η σωστή επιλογή εξασφαλίζει όχι μόνο την κατάλληλη φωτιστική ισχύ και φωτεινότητα, αλλά και την εξασφάλιση ομοιόμορφου και ακριβούς φωτισμού του δείγματος, βελτιώνοντας έτσι την ποιότητα και την ευκρίνεια των παρατηρούμενων εικόνων.

1.1.3 Είδη Μικροσκοπίου

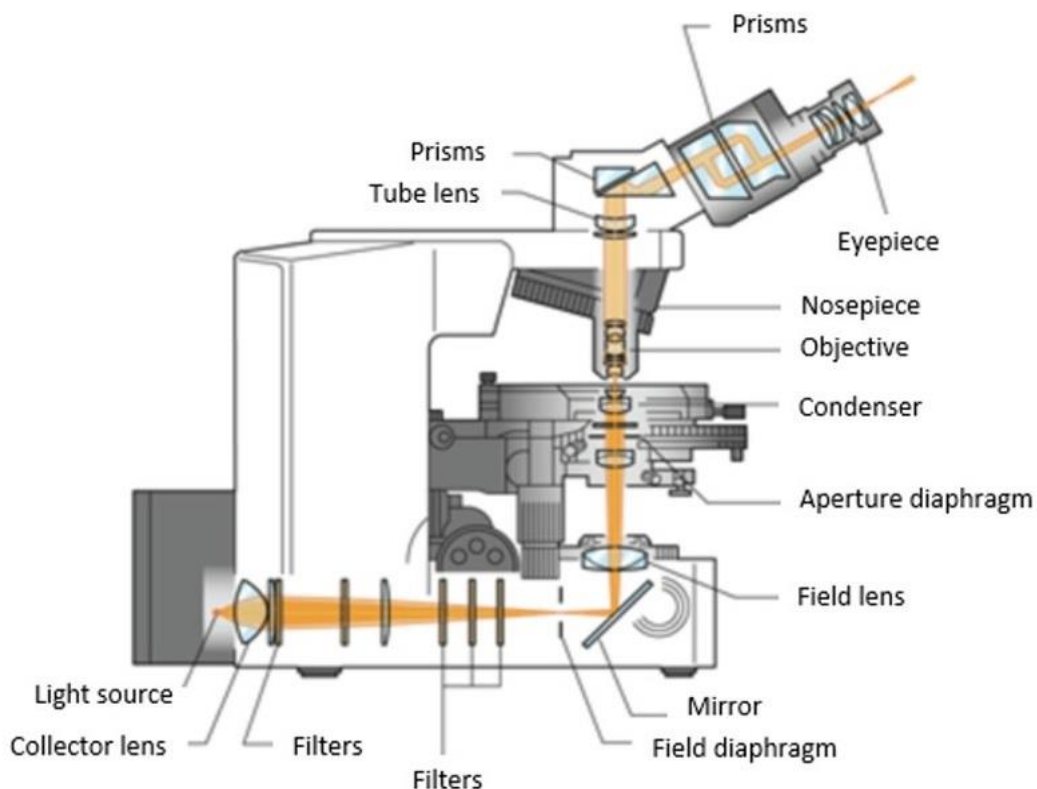
1.1.3.1 Μικροσκοπία φωτεινού πεδίου

Η μικροσκοπία φωτεινού πεδίου (Εικόνα 1.4.) είναι μια απλή και δημοφιλής τεχνική που χρησιμοποιείται για τον φωτισμό δειγμάτων στην οπτική μικροσκοπία. Περιλαμβάνει τη μετάδοση λευκού φωτός μέσω ενός δείγματος, με την αντίθεση που προκαλείται από την απορρόφηση του φωτός σε πυκνές περιοχές του δείγματος, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται το δείγμα σκοτεινό έναντι ενός φωτεινού φόντου. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται ευρέως στη βιολογία και την ιατρική λόγω της απλότητάς της και της πολυχρηστικότητάς της. Η μικροσκοπία φωτεινού πεδίου απαιτεί βασικά εξαρτήματα όπως πηγή φωτός, φακό συμπίκνωσης, αντικειμενικούς φακούς και οπτικά ή κάμερα για την παρακολούθηση της εικόνας του δείγματος.

Τα πλεονεκτήματα της μικροσκοπίας φωτεινού πεδίου περιλαμβάνουν την απλότητά της, την προσιτή τιμή και τη δυνατότητα παρατήρησης ζωντανών κυττάρων χωρίς ειδική προετοιμασία. Ωστόσο, έχει περιορισμούς όπως η χαμηλή αντίθεση με τα περισσότερα βιολογικά δείγματα, η δυσκολία στην οπτικοποίηση διάφανων δειγμάτων και ένα πρακτικό όριο μεγέθυνσης περίπου 1300X.

Για να βελτιωθεί η μικροσκοπία φωτεινού πεδίου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τεχνικές όπως μέθοδοι αποχρωμάτισης, χρήση λαδιού εμβάπτισης με αντικειμενικό φακό εμβάπτισης λαδιού και χρήση χρωματισμένων ή πολωτικών φίλτρων στην πηγή φωτός.

Συνολικά, η μικροσκοπία φωτεινού πεδίου αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο απεικόνισης που χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορους τομείς λόγω της ευκολίας χρήσης, της προσιτής τιμής και της ευκολίας πρόσβασης.



Εικόνα 1.4. Μέρη Μικροσκοπίου [πηγή: <https://www.olympus-lifescience.com/en/discovery/what-is-brightfield-microscopy/>]

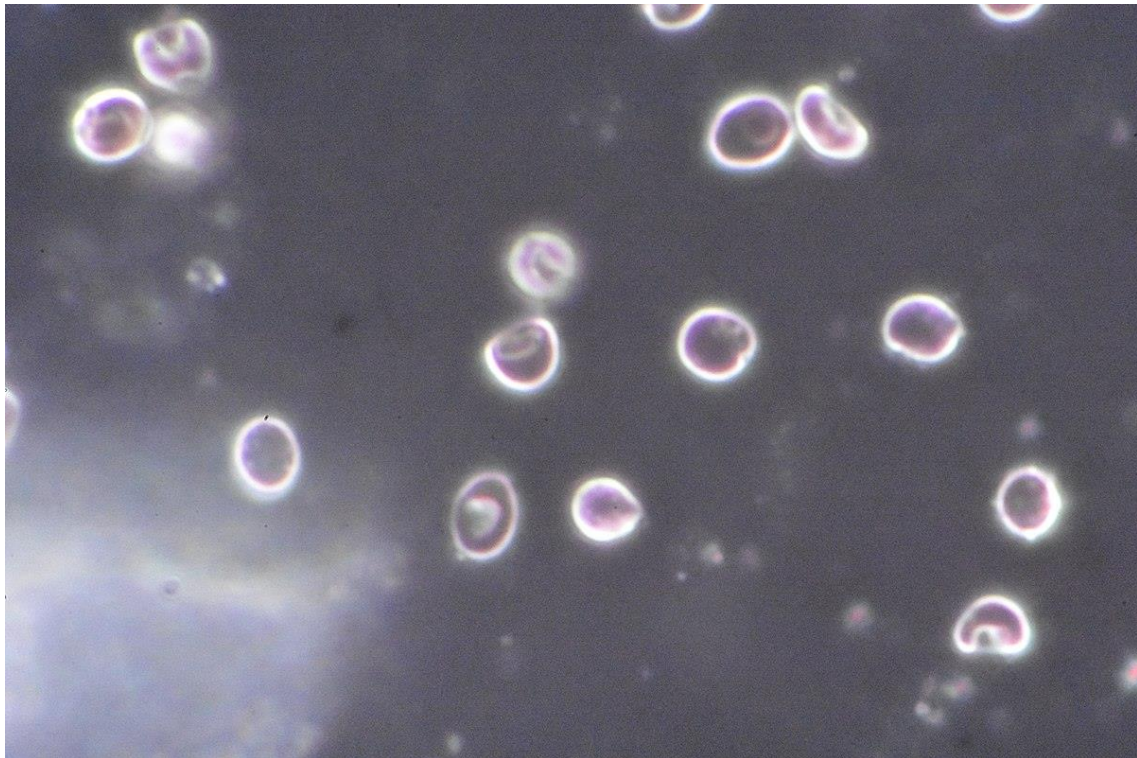
1.1.3.2 Μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου

Η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου, επίσης γνωστή ως μικροσκοπία σκοτεινού φόντου, είναι μια τεχνική που αποκλείει το διασκορπισμένο φως από την εικόνα, με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα σκοτεινό πεδίο γύρω από το δείγμα, έναντι του

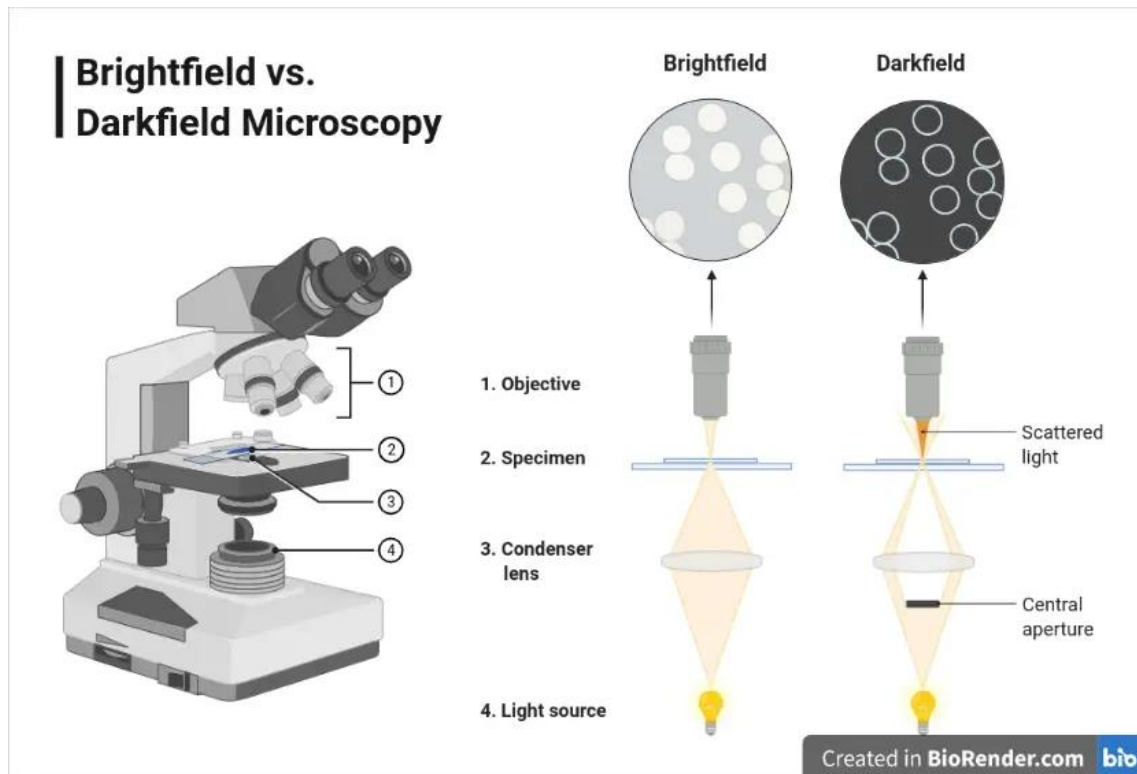
οποίου το δείγμα εμφανίζεται φωτεινό. Αυτή η μέθοδος ενισχύει την αντίθεση σε διαφανή δείγματα, τα οποία δεν μπορούν να βαφούν, φωτίζοντάς τα με φως που δεν συγκεντρώνεται από τον αντικειμενικό φακό, δημιουργώντας ένα φωτεινό δείγμα μέσα σε ένα σκοτεινό φόντο (Εικόνα 1.5.) [26].

Η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για ζωντανά και μη χρωματισμένα δείγματα, όπως κυτταρικούς ιστούς ή μονοκύτταρους οργανισμούς, προσφέροντας εντυπωσιακή ποιότητα εικόνας με ένα απλό σύστημα. Βασικό στοιχείο για τη μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου το οποίο το διαχωρίζει από την φωτεινού πεδίου, αποτελεί ένα κεντρικό άνοιγμα (central aperture) που κατευθύνει το άμεσο φως μακριά από τον αντικειμενικό φακό και επιτρέπει μόνο στο σκεδαζόμενο φως να φτάσει σε αυτό (Εικόνα 1.6.) [27].

Αυτή η τεχνική είναι ιδανική για δείγματα με λείες ανακλαστικές επιφάνειες ή δείγματα με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης από το περιβάλλον τους, επιτρέποντας την ανίχνευση σωματιδίων μικρότερων από το όριο ανάλυσης των κανονικών οπτικών μικροσκοπίων [28].



Εικόνα 1.5. Εικόνα Σκοτεινού Πεδίου [πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Dark-field_microscopy]



Εικόνα 1.6. Σύγκριση Μικροσκοπιών Φωτεινού Πεδίου και Σκοτεινού Πεδίου [πηγή: <https://microbeonline.com/dark-field-microscopy/>]

1.1.3.3 Μικροσκοπία Φθορισμού

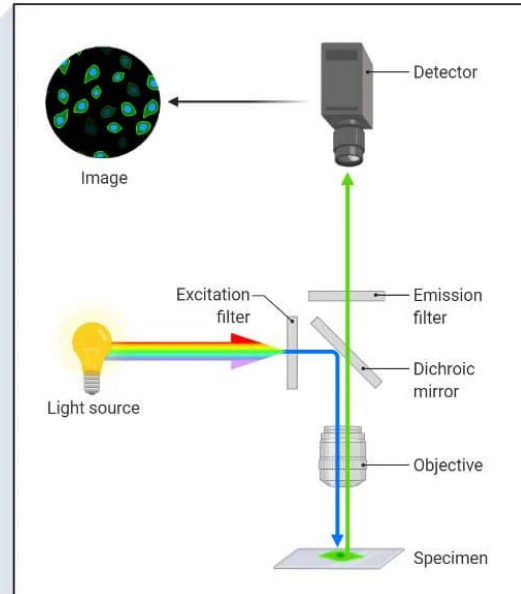
Τα μικροσκόπια φθορισμού αποτελούν μια τεχνική που χρησιμοποιεί το φαινόμενο του φθορισμού για τη μελέτη των ιδιοτήτων οργανικών ή ανόργανων ουσιών. Αυτή η τεχνική ενεργοποιείται όταν ένα δείγμα φωτίζεται με φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, το οποίο απορροφάται από τους φθοροφόρους, προκαλώντας την εκπομπή φωτός υψηλότερου μήκους κύματος. Η ακτινοβολία εκπομπής φθορισμού διαχωρίζεται από το φως διέγερσης μέσω της χρήσης ενός φίλτρου φασματικής εκπομπής (Εικόνα 1.7.) [29] [30].

Τα μικροσκόπια φθορισμού ευρέως χρησιμοποιούνται στη βιολογία και την ιατρική για την παρακολούθηση της φυσιολογίας των κυττάρων και τη μελέτη διαφόρων κυτταρικών διεργασιών. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για την οπτικοποίηση συγκεκριμένων δομών ή μορίων εντός ενός δείγματος χρησιμοποιώντας φθοροφόρους, χρωστικές, αντισώματα ή πρωτεΐνες που δένουν στον στόχο ενδιαφέροντος [31].

Υπάρχουν διάφοροι τύποι μικροσκοπίας φθορισμού, συμπεριλαμβανομένης της μικροσκοπίας ευρέου πεδίου, της μικροσκοπίας σάρωσης με λέιζερ, της διφωτονικής μικροσκοπίας, της μικροσκοπίας σάρωσης δίσκου, της τοπικής εσωτερικής ανάκλασης και της μικροσκοπίας υπερανάλυσης. Κάθε τύπος έχει τα πλεονεκτήματά του και τους περιορισμούς του, και η επιλογή της τεχνικής εξαρτάται από το συγκεκριμένο ερευνητικό ερώτημα και τα χαρακτηριστικά του δείγματος [31]

Η μικροσκοπία φθορισμού υπόκειται σε πρακτικούς φυσικούς περιορισμούς, όπως η ανάλυση, η οποία καθορίζεται από την αντίθεση της εικόνας και τη διάθλαση του φωτός εντός οπτικών συστημάτων. Ωστόσο, πρόσφατες προόδους στη μικροσκοπία φθορισμού έχουν στοχεύσει στη βελτίωση της ποιότητας της εικόνας διευθετώντας αυτούς τους θεμελιώδεις περιορισμούς.

Fluorescence Microscopy

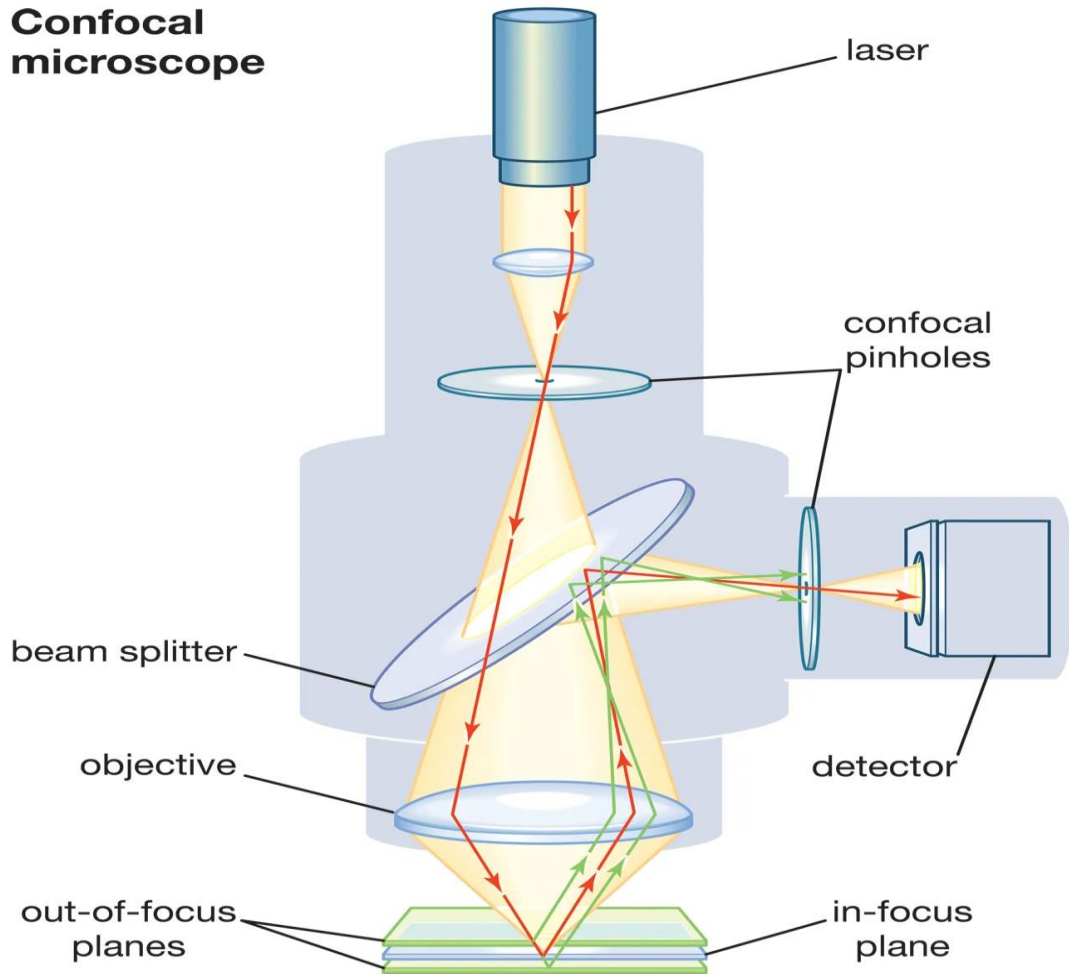


Εικόνα 1.7. Μικροσκόπιο Φθορισμού [πηγή: <https://microbenotes.com/types-of-microscopes/#4-fluorescence-microscope>]

1.1.3.4 Συνεστιακά μικροσκόπια

Τα συνεστιακά μικροσκόπια αποτελούν μια εξέλιξη των μικροσκοπίων φθορισμού προσφέροντας τη δυνατότητα λεπτομερούς τρισδιάστατης απεικόνισης των δειγμάτων. Η αρχή λειτουργίας τους βασίζεται στη χρήση ενός συνεστιακού διαφράγματος που τοποθετείται στο εστιακό επίπεδο του δείγματος, με σκοπό την εξάλειψη του φωτός που δεν εστιάζεται ακριβώς σε αυτό το επίπεδο (Εικόνα 1.8.). Αυτό επιτυγχάνεται διεγείροντας το δείγμα με φως σε ένα συγκεκριμένο σημείο, προκαλώντας μια οπτική "τομή" του δείγματος. Με τη συνεχή σάρωση και επανάληψη της διαδικασίας σε διάφορα σημεία και βάθη, δημιουργείται μια πλήρης τρισδιάστατη εικόνα του δείγματος. Αυτή η τεχνική μειώνει σημαντικά τον θόρυβο υποβάθρου και τις ανεπιθύμητες αλλοιώσεις όπως η φωτολεύκανση και η σκέδαση του φωτός, προσφέροντας έτσι εξαιρετικά καθαρές και λεπτομερείς εικόνες [30]

Confocal microscope



© 2012 Encyclopædia Britannica, Inc.

Εικόνα 1.8. Σχεδιάγραμμα Συνεστιακού Μικροσκοπίου [πηγή:
<https://www.britannica.com/technology/microscope/Confocal-microscopes>]

1.1.3.5 Ηλεκτρονικά μικροσκόπια

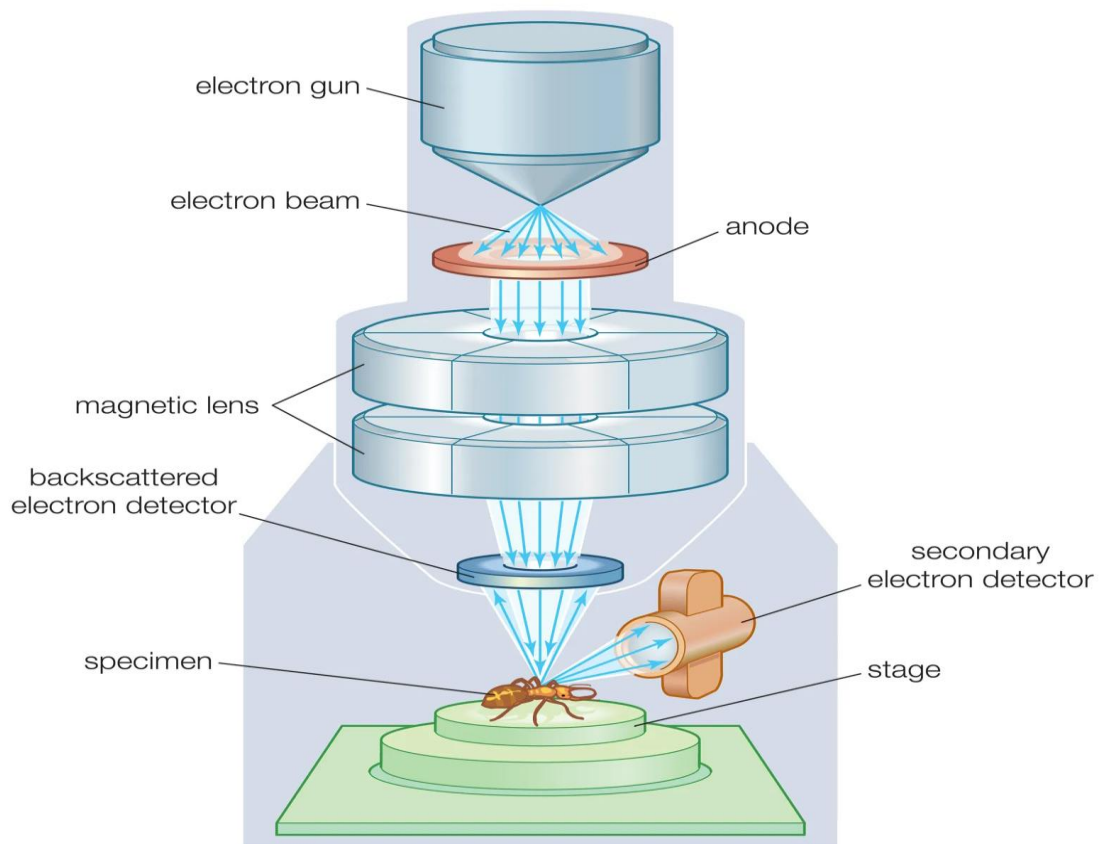
Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια προσφέρουν πολύ μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα λόγω του ότι χρησιμοποιείται δέσμη ηλεκτρονίων ως πηγή φωτός. Δύο είναι τα βασικά ηλεκτρονικά μικροσκόπια, το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης και το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης [32].

Στα ηλεκτρονικά μικροσκόπια διέλευσης (ΗΜΔ), η απεικόνιση των δειγμάτων είναι εφικτή μόνο όταν τα δείγματα είναι αρκετά λεπτά δηλαδή της τάξης λίγων νανομέτρων, ώστε μια σημαντική ποσότητα της προσπίπτουσας δέσμης ηλεκτρονίων να διαπερνά το δείγμα. Τα ηλεκτρόνια που διαπερνούν το δείγμα στη συνέχεια προσπίπτουν σε μια φθορίζουσα οθόνη, δημιουργώντας έτσι την εικόνα. Η διαδικασία εστίασης της δέσμης ηλεκτρονίων επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης συγκεντρωτικών μαγνητικών φακών, οι οποίοι λειτουργούν με την αρχή της ηλεκτρομαγνητικής απόκλισης για να ελέγξουν και να εστιάσουν τη δέσμη στην επιθυμητή περιοχή του δείγματος (Εικόνα 1.9.). Η πηγή των ηλεκτρονίων στα ΗΜΔ μπορεί να είναι είτε ένα θερμαινόμενο νήμα βολφραμίου, όπου η θερμοϊονική εκπομπή ηλεκτρονίων λαμβάνει χώρα λόγω της υψηλής θερμοκρασίας, είτε μια λεπτή

μεταλλική ακίδα, όπου η εκπομπή πεδίου ηλεκτρονίων ενεργοποιείται από ένα ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο [33].

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (ΗΜΣ) βοηθάει στην ανάλυση της επιφάνειας των δειγμάτων, προσφέροντάς μας σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη μορφολογία και την υφή. Σε αντίθεση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (ΗΜΔ), το ΗΜΣ προσφέρει κατώτερη διακριτική ικανότητα και μεγέθυνση, αλλά είναι απαραίτητο για τη λεπτομερή μελέτη επιφανειακών δομών. Στα ΗΜΣ γίνεται χρήση μιας εξαιρετικά λεπτής δέσμης ηλεκτρονίων, η οποία μετά τη διέλευσή της μέσα από ένα σύστημα φακών και διαφραγμάτων, καταλήγει σε μια διάμετρο μεταξύ 2-10nm. Η δέσμη αυτή, με την βοήθεια ενός πηνίου, σαρώνει συστηματικά την επιφάνεια του δείγματος, κάτι που επιτρέπει την λεπτομερή εξέταση της. Η αλληλεπίδραση της δέσμης ηλεκτρονίων με την επιφάνεια του δείγματος προκαλεί την εκπομπή δευτερογενών ηλεκτρονίων καθώς και ηλεκτρονίων λόγω ελαστικής σκέδασης ή χαμηλής απώλειας ενέργειας. Αυτά τα σήματα σχηματίζουν μια νέα δέσμη ηλεκτρονίων, η οποία προσπίπτει σε μια φθορίζουσα οθόνη [33].

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια είναι κρίσιμα σε διάφορους τομείς όπως η επιστήμη των υλικών, η βιοιατρική έρευνα και η μελέτη των αστρουλικών υλικών, λόγω της δυνατότητάς τους να παρέχουν λεπτομερείς εικόνες σε επίπεδο νανομετρικών, καθώς και της εξαιρετικής ανάλυσης και σαφήνειας που προσφέρουν.



© 2012 Encyclopædia Britannica, Inc.

**Εικόνα 1.9. Σχεδιάγραμμα Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου [πηγή:
<https://www.britannica.com/technology/scanning-electron-microscope>]**

1.2 Ιστοπαθολογία

Η ιστοπαθολογία αποτελεί έναν κρίσιμο κλάδο της ιατρικής που εστιάζει στην εξέταση των μικροσκοπικών δομών των ιστών και των κυττάρων, προσφέροντας σημαντική συμβολή στη διάγνωση και τη θεραπεία των νοσημάτων. Στον τομέα της ογκολογίας, η ιστοπαθολογία διερευνά τις δομικές και κυτταρολογικές αλλαγές που συνοδεύουν την ανάπτυξη του καρκίνου, βοηθώντας στον προσδιορισμό του τύπου και του σταδίου του [1]. Επιπλέον, η εφαρμογή νέων τεχνολογιών και μεθόδων επιτρέπει την πιο λεπτομερή κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την καρκινογένεση και την ανάπτυξη του όγκου.

Εκτός από την ογκολογία, η ιστοπαθολογία έχει εφαρμογές και σε άλλους τομείς της ιατρικής. Ερευνητές χρησιμοποιούν ιστολογικές τεχνικές για τη μελέτη της βιολογίας άλλων νοσημάτων, όπως ο διαβήτης και οι παθήσεις του ήπατος, προκειμένου να κατανοήσουν καλύτερα τις αλλαγές που συμβαίνουν στους ιστούς και τα κύτταρα κατά τη διάρκεια αυτών των νόσων [11]. Επιπλέον, η ανίχνευση και η κατανόηση γενετικών διαταραχών και κληρονομικών νοσημάτων αποτελούν επίσης σημαντικό πεδίο έρευνας και εφαρμογής της ιστοπαθολογίας, με τους ιστοπαθολόγους να διερευνούν τις δομικές και κυτταρικές αλλαγές που σχετίζονται με αυτές τις παθήσεις.

Η προετοιμασία των δειγμάτων διέρχεται από μία σειρά βημάτων για την επίτευξη των επιθυμητών αποτελεσμάτων κατά τις σχετικές μελέτες και την ελαχιστοποίηση λαθών. Συγκεκριμένα τα βήματα αυτά αναφέρονται στα [34]:

- **Χρώση**
Λόγω του ότι τα περισσότερα δείγματα των ιστών είναι διαφανή πρέπει να ακολουθηθεί μια διαδικασία επεξεργασίας χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές χρώσης ώστε να μπορέσουμε να κάνουμε ορατές χρήσιμες πληροφορίες μέσω την μικροσκοπικής ανάλυσης. Η αιματοξυλίνη-ηωσίνη είναι η πιο κοινή τεχνική στην ιστολογία για τη μελέτη του δείγματος με ένα οπτικό μικροσκόπιο. Η αιματοξυλίνη χρωματίζει τους πυρήνες των κυττάρων με μπλέ χρώμα ενώ η ηωσίνη χρωματίζει τα στοιχεία του κυτταροπλάσματος με ροζ αυξάνοντας με αυτό το τρόπο την αντίθεση με αποτέλεσμα την απεικόνιση σημαντικών χαρακτηριστικών του ιστού.
- **Μονιμοποίηση**
Προλαμβάνει την αποσύνθεση των ιστών με τη σταθεροποίηση των πρωτεϊνών και των κυτταρικών συστατικών τους. Αυτή η διαδικασία είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της δομής και την πρόληψη της υποβάθμισης των δειγμάτων ιστού καθώς και για την σκλήρυνση του δείγματος ώστε να επιτευχθεί η μικροτόμησή του. Η μονιμοποίηση συνήθως γίνεται με ουδέτερη ρυθμισμένη φορμόλη η οποία σταθεροποιεί τα αμινοξέα των πρωτεϊνών και συντηρεί την δομή των ιστών και των κυττάρων.
- **Αφυδάτωση**
Με την αφυδάτωση ο σκοπός είναι η αφαίρεση των υγρών μέσα από τον ιστό

με σκοπό την καλύτερη στερεοποίησή του. Το δείγμα εμποτίζεται με αιθανόλη για την αφαίρεση των υγρών και στη συνέχεια με ξυλόλη για την αφαίρεση της αλκοόλης.

- **Εμποτισμός**
Αφού ο ιστός στερεοποιηθεί τοποθετείται μέσα σε ένα χώρο με κερί παραφίνης. Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο για την ακριβή εξέταση της αρχιτεκτονικής των ιστών. Επειδή το κερί παραφίνης μπορεί να προκαλέσει σημαντική αύξηση της θερμοκρασίας των δειγμάτων, συνεπώς και την αλλοίωση της μορφολογίας του, είναι σημαντικό μετά τον εμποτισμό το δείγμα να ψυχθεί.
- **Τμηματοποίηση**
Τμηματοποίηση είναι η διαδικασία κοπής του ιστού σε λεπτές φέτες (τμήματα) με τη χρήση μικροτόμου. Αυτά τα τμήματα έχουν συνήθως πάχος λίγων μικρομέτρων για να μπορέσουν να εξεταστούν στο μικροσκόπιο.

Η ιστοπαθολογία επίσης συμβάλλει στην κατανόηση και διερεύνηση των μεταβολικών νοσημάτων, όπως ο διαβήτης και οι παθήσεις του ήπατος. Μελετώντας τις αλλαγές στην ιστολογία των ιστών, οι ιστοπαθολόγοι μπορούν να προσδιορίσουν τα χαρακτηριστικά των παθολογικών διεργασιών που σχετίζονται με αυτές τις παθήσεις, καθώς και να βοηθήσουν στην αξιολόγηση της σοβαρότητας της νόσου και την επιλογή κατάλληλης θεραπείας.

Τέλος, η ιστοπαθολογία αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την κατανόηση και την ανίχνευση γενετικών διαταραχών και κληρονομικών νοσημάτων. Αναλύοντας τη δομή και την οργάνωση των ιστών σε μικρό επίπεδο, οι ιστοπαθολόγοι μπορούν να ανιχνεύσουν αλλαγές που σχετίζονται με γενετικές ανωμαλίες, προσφέροντας κρίσιμες πληροφορίες για τη διάγνωση και τη διαχείριση των γενετικών νοσημάτων.

1.3 Καρκίνος

1.3.1 Ορισμός και Αίτια

Η εμφάνιση του καρκίνου σχετίζεται με τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κάποιων κυττάρων στο σώμα, τα οποία υπό κάποιες συνθήκες μπορούν να μεταναστεύσουν και σε άλλα σημεία του σώματος μέσω του λεμφικού συστήματος ή του αίματος και να προκαλέσουν μεταστάσεις. Το ανθρώπινο σώμα έχει το μηχανισμό να ελέγξει την κυτταρική διαίρεση και ανάπτυξη έτσι ώστε τα παλιά και ελατωματικά κύτταρα να αντικατασταθούν από νέα. Όταν αυτός ο μηχανισμός για κάποιο λόγο αποτύχει τότε τα ελατωματικά κύτταρα μεγαλώνουν και πολλαπλασιάζονται σε μεγάλο βαθμό με αποτέλεσμα να προκαλούν όγκους στους ιστούς οι οποίοι μπορεί να είναι καλοήθεις ή κακοήθεις. Οι καλοήθεις όγκοι δεν προκαλούν μετάσταση όπως οι κακοήθεις και συνήθως μετά τη χειρουργική αφαίρεσή τους δεν επανεμφανίζονται. Ωστόσο μπορούν να προκαλέσουν πολλά συμπτώματα και σε κάποιες περιπτώσεις, όπως στον εγκέφαλο, μπορούν να είναι θανατηφόροι[35].

Υπάρχουν διάφορες αιτίες οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν την ανάπτυξη καρκινικών όγκων. Από τον τρόπο ζωής μέχρι τη γενετική προδιάθεση και το περιβάλλον. Μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν καρκινογόνες ουσίες οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο και σχετίζονται με το κάπνισμα, η έκθεση στον

ήλιο και η διατροφή (για παράδειγμα ο καρκίνος του ήπατος ευθύνεται στην αφλατοξίνη, ένα είδος μούχλας που αναπτύσσεται σε διάφορες αγροτικές καλλιέργειες). Ειδικότερα οι καρκινογόνες ουσίες που βρίσκονται στα τσιγάρα είναι επί το πλείστον οι πιο συχνές αιτίες για την εμφάνιση καρκίνου στους πνεύμονες στο 80% των περιπτώσεων [36].

1.3.2. Τύποι Καρκίνου

Υπάρχουν πάνω από 200 τύπους καρκίνου και συνήθως χωρίζονται ανάλογα με το σημείο του σώματος που πρωτοεμφανίστηκαν όπως για παράδειγμα ο καρκίνος του δέρματος, ο καρκίνος του θυροειδή κλπ.

Ωστόσο μπορούν να χωριστούν και ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων μέσω των οποίων αναπτύχθηκαν. Οι περισσότεροι καρκινικοί όγκοι μπορούν να χωριστούν σε πέντε κατηγορίες: [37]

- **Τα καρκινώματα:** αποτελούν το 90% των καρκίνων και αναπτύσσονται στους επιθηλιακούς ιστούς προκαλώντας τους καρκίνους του μαστού, των πνευμόνων, του εντέρου και του προστάτη.
- **Τα σαρκώματα:** είναι σπάνιες περιπτώσεις και εμφανίζονται στους συνδετικούς ιστούς όπως τα κόκαλα, τους χόνδρους, τους τένοντες και τον ινώδη ιστό που στηρίζει τα όργανα.
- **Οι λευχαιμίες:** είναι καρκίνοι των λευκών αιμοσφαιρίων και δημιουργούνται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό ελλατοματικών λευκών αιμοσφαιρίων στον μυελό των οστών. Αν και είναι αρκετά σπάνιες περιπτώσεις, αποτελούν την πιο συχνή αιτία καρκίνου στα παιδιά.
- **Λεμφώματα και μυελώματα:** αποτελούν το 7% των περιπτώσεων καρκίνου και οφείλονται στο λεμφικό σύστημα.
- **Καρκίνοι εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού:** Οι πιο συχνοί όγκοι στον εγκέφαλο είναι τα γλοιώματα τα οποία προκαλούνται από τα νευρογλοιακά κύτταρα.

1.4 Καρκίνος του Εγκεφάλου

1.4.1 Ορισμός Καρκίνου Εγκεφάλου

Ο καρκίνος εγκεφάλου αποτελεί έναν από τους πιο επικίνδυνους και θανατηφόρους καρκίνους τόσο για τα παιδιά όσο και για τους ενήλικες. Η έγκαιρη ανίχνευση και ταξινόμηση του καρκίνου είναι καταλυτική για την πορεία και την θεραπεία του ασθενούς. Ο καρκίνος εγκεφάλου αποτελεί το 1.35% των νεοπλασμάτων και το 29.5% των θανάτων που σχετίζονται με τον καρκίνο. Οι όγκοι εγκεφάλου και του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) περιλαμβάνουν τους όγκους στον εγκέφαλο, στα κρανιακά και νωτιαία νεύρα, τον νωτιαίο μυελό και τους μήνιγγες [6].

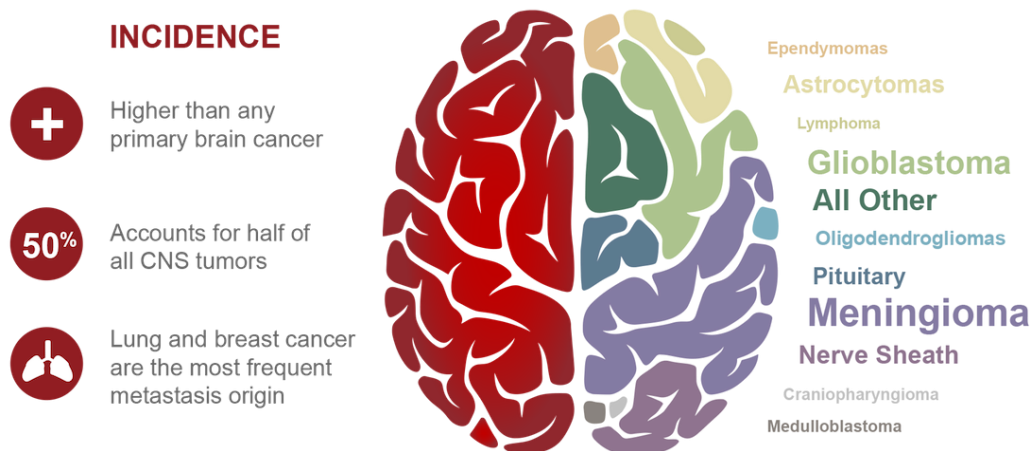
Οι όγκοι εγκεφάλου σχηματίζονται εξαιτίας ακανόνιστης αύξησης των κυττάρων μέσα στον εγκέφαλο ή το κρανίο και μπορούν να είναι είτε καλοήθεις είτε κακοήθεις.

Οι όγκοι οι οποίοι σχηματίζονται πρωταρχικά στον εγκέφαλο αποκαλούνται πρωτογενείς, ενώ αυτοί που σχηματίζονται αρχικά σε άλλο σημείο του σώματος και επεκτείνεται και στον εγκέφαλο ονομάζονται μεταστατικοί ή δευτερογενείς. Οι μη καρκινικοί ή καλοήθεις όγκοι αναπτύσσονται αργά και έχουν διακριτά όρια, ωστόσο

μπορούν να φανούν επικίνδυνοι ανάλογα με το σημείο του εγκεφάλου που αναπτύσσονται. Από την άλλη οι καρκινικοί ή κακοήθεις όγκοι αναπτύσσονται με μεγάλη ταχύτητα, δεν έχουν διακριτά όρια και μπορούν να επεκταθούν και σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου. Είναι σημαντικό να γίνει κατανοητή η διαφορά ανάμεσα στους κακοήθεις και μεταστατικούς όγκους του εγκεφάλου (Εικόνα 1.10.). Οι μεταστατικοί όγκοι προκαλούνται στον εγκέφαλο από μετάσταση από κάποιο άλλο όργανο του σώματος και γι'αυτό ονομάζονται και δευτερογενείς. Αντίθετα οι πρωτογενείς όγκοι στον εγκέφαλο δεν κάνουν μετάσταση εκτός του εγκεφάλου αλλά μπορούν να κάνουν μετάσταση σε άλλα σημεία του εγκεφάλου και του κεντρικού νευρικού συστήματος [38].

metastatic vs primary

BRAIN CANCER



Εικόνα 1.10. Μεταστατικοί VS Πρωτογενείς Καρκίνοι Εγκεφάλου [πηγή:
<https://www.linbioscience.com/Pipeline/LBS002>]

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει ορίσει ένα πρότυπο για την ταξινόμηση και βαθμονόμηση του καρκίνου εγκεφάλου και ορίζεται ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων και το βαθμό κακοήθειας. Για παράδειγμα οι όγκοι που αναπτύσσονται στα γλοιακά κύτταρα ονομάζονται γλοιώματα και αποτελούν σχεδόν το μισό των περιπτώσεων πρωτογενών όγκων. Η βαθμονόμηση των όγκων γίνεται με την αξιολόγηση της επιθετικότητας και της διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων από τα φυσιολογικά κύτταρα [38].

1.4.2 Αίτια

Αν και δεν υπάρχουν σαφείς αιτίες για τις περισσότερες περιπτώσεις όγκων του εγκεφάλου και του ΚΝΣ υπάρχουν ωστόσο έρευνες που έχουν δείξει ότι διαταραχές κάποιων γονιδίων μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη όγκων. Για παράδειγμα το ογκογονίδιο είναι υπεύθυνο για την ανάπτυξη, διαίρεση και την επιβίωση των κυττάρων ενώ το ογκοκατασταλτικό γονίδιο βοηθάει στον έλεγχο της κυτταρικής διαίρεσης, τη διόρθωση βλαβών του DNA και τη θανάτωση των προβληματικών κυττάρων. Όταν λοιπόν προκύπτουν αλλαγές στο DNA οι οποίες ενεργοποιούν τα ογκογονίδια ή απενεργοποιούν τα ογκοκατασταλτικά έχουμε την ανάπτυξη καρκινικών όγκων. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να προκύψουν λόγω

κληρονομικότητας, ωστόσο συνήθως εμφανίζονται στη διάρκεια της ζωής ενός ανθρώπου χωρίς να οφείλεται σε κληρονομικότητα [39].

Παρόλο που δεν έχουν αποδειχθεί συγκεκριμένες αιτίες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής και προκαλούν καρκίνο στον εγκέφαλο, υπάρχουν ωστόσο ενδείξεις που πρέπει να ανφερθούν. Η πιο σίγουρη αιτία είναι η έκθεση σε ιοντίζουσα ακτινοβολία όπως στις περισσότερες περιπτώσεις των καρκίνων. Από την άλλη και η έκθεση σε χημικά όπως φυτοφάρμακα, ζιζανιοκτόνα ή προϊόντα πετρελαίου αν και δεν υπάρχουν αρκετές ερευνητικές πηγές ίσως να αποτελεί άλλη μια αιτία. Τέλος παράγοντες όπως η ηλικία- οι περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζονται σε παιδιά και ηλικιωμένους-, το οικογενειακό ιατρικό ιστορικό –το 5% των όγκων εγκεφάλου σχετίζονται με γενετική κληρονομικότητα- και το αποδυναμωμένο ανοσοποιητικό σύστημα [40].

1.4.3 Συμπτώματα-Διάγνωση

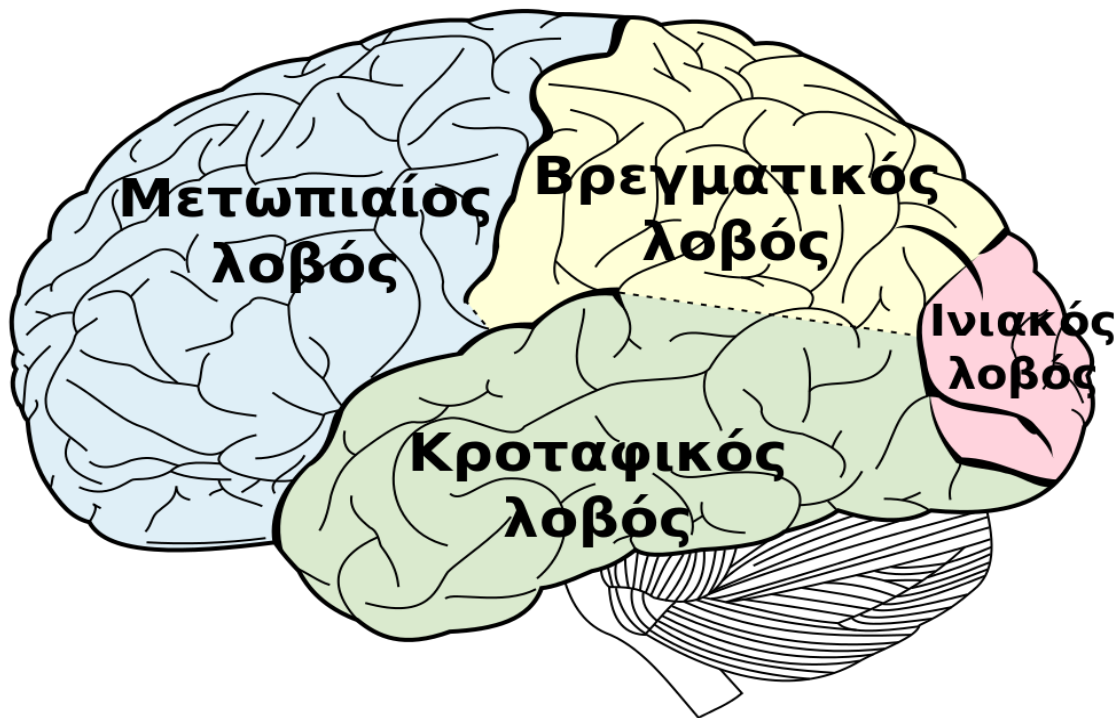
Τα συμπτώματα που προκαλεί ο όγκος στον εγκέφαλο εξαρτάται από το μέγεθός του και την περιοχή που προσβάλλει. Παρακάτω αναφέρονται ενδεικτικά κάποια συμπτώματα σχετικά με την περιοχή του εγκεφάλου που αναπτύσσεται ο όγκος [41]:

Συγκεκριμένα οι όγκοι στο μπροστινό τμήμα του εγκεφάλου, δηλαδή στο τμήμα που βρίσκονται οι μετωπιαίοι λοβοί οι οποίοι ελέγχουν την σκέψη και την κίνηση, μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στην ισορροπία και το περπάτημα ή αλλαγές στην προσωπικότητα του ατόμου.

Οι βρεγματικοί λοβοί που βρίσκονται στο άνω μεσαίο τμήμα του εγκεφάλου είναι υπεύθυνοι για τις πληροφορίες σχετικά με την αφή, τη γεύση, την οσμή, την όραση και την ακοή. Συνεπώς κάποιος όγκος σε αυτό το τμήμα του εγκεφάλου μπορεί να προκαλέσει προβλήματα σχετικά με αυτές τις αισθήσεις όπως για παράδειγμα τη δυσκολία στην όραση ή την ακοή.

Οι όγκοι που αναπτύσσονται στο πίσω μέρος του εγκεφάλου προσβάλλουν τους ινιακούς λοβούς οι οποίοι σχετίζονται με την όραση και συνεπώς μπορούν να προκαλέσουν ακόμα και τύφλωση.

Τέλος στο κάτω μέρος του εγκεφάλου υπάρχουν οι κροταφικοί λοβοί οι οποίοι σχετίζονται με τη μνήμη και τις αισθήσεις. Ο όγκος σε αυτή την περιοχή μπορεί να προκαλέσει απώλεια μνήμης ή ψευδαισθήσεις σχετικά με την όραση, τη γεύση ή την οσμή (Εικόνα 1.11.).



Εικόνα 1.11. Μέρη Ανθρώπινου Εγκεφάλου [πηγή: <https://pediatric-neurosurgery.com/anatomy>]

Άλλα συμπτώματα είναι ο πονοκέφαλος ο οποίος αποτελεί και το πιο συνηθισμένο σύμπτωμα αφού εμφανίζεται σχεδόν στα μισά περιστατικά, η ναυτία, ο εμετός, η συνεχής αίσθηση κούρασης, οι επιληπτικές κρίσεις [41].

Η διάγνωση συνήθως γίνεται με διάφορες απεικονιστικές τεχνικές όπως η αξονική τομογραφία CT ή η μαγνητική τομογραφία MRI. Άλλες μεθόδους διάγνωσης είναι η νευρολογική εξέταση όπου αξιολογούνται διάφορες παράμετροι όπως η ισορροπία, η ακοή, η όραση και τα αντανακλαστικά, η οσφυονωτιαία παρακέντηση για την ανίχνευση καρκινικών κυττάρων στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, μέτρηση της ηλεκτρικής δραστηριότητας στον εγκέφαλο με ηλεκτροκαρδιογράφημα, ενώ όπου υπάρχει πρόσβαση και μπορεί να γίνει με ασφάλεια γίνεται και βιοψία [42].

1.4.4 Τύποι Καρκίνου Εγκεφάλου

Υπάρχουν διαφορετικοί τύποι κακοήθων όγκων στον εγκέφαλο οι οποίοι ορίζονται από τη περιοχή που αναπτύσσονται, την επιθετικότητά τους και τη δυνατότητα αντιμετώπισης.

Από τους πιο συχνούς κακοήθεις όγκους στον εγκέφαλο είναι τα γλοιώματα αποτελώντας το 78% των περιπτώσεων [43]. Τα γλοιώματα προέρχονται από τα νευρογλοιακά κύτταρα, τα οποία είναι υπεύθυνα αποτελούν τον ιστό στήριξης και προστασίας των νευρώνων του εγκεφάλου [44]. Τα νευρογλοιακά κύτταρα μπορούν επίσης να κατηγοριοποιηθούν στα αστροκύτταρα, τα επενδυματικά κύτταρα και τα

ολιγοδενδροκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους χαρακτηρίζουν τα υποσύνολα των γλοιωμάτων.

Τα αστροκυτώματα εμφανίζονται με τη μεγαλύτερη συχνότητα ανάμεσα στους πρωτογενείς κακοήθεις όγκους στον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό αγγίζοντας το 50% των περιπτώσεων. Προέρχονται από τα αστροκύτταρα, κύτταρα τα οποία βρίσκονται στον ιστό στήριξης του εγκεφάλου. Ένα χαρακτηριστικό που τα ξεχωρίζει είναι η αστεροειδής μορφή τους [43]. Συνήθως αναπτύσσονται σε κάποιο σημείο των δύο ημισφαιρίων του εγκεφάλου αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε άλλα σημεία όπως την παρεγκεφαλίδα και το εγκεφαλικό στέλεχος [45]. Διαγιγνώσκεται επί το πλείστον σε άτομα μέσης ηλικίας και κυρίως άνδρες, ωστόσο μπορούν να εμφανιστούν και σε παιδιά ειδικά σε περιπτώσεις που ο όγκος αναπτύσσεται στη βάση του εγκεφάλου αν και συνήθως δεν είναι υψηλού βαθμού κακοήθειας [43].

Άλλοι τύποι γλοιωμάτων αποτελούν τα επενδυδώματα προερχόμενα από τα επενδυματικά κύτταρα, τα οποία επικαλύπτουν τις εγκεφαλικές κοιλίες και αντιπροσωπεύουν ένα σχετικά μικρό ποσοστό των όγκων στον εγκέφαλο. Άλλη περίπτωση είναι το πολύμορφο γλιοβλάστωμα (glioblastoma multiforme, GBM), το οποίο χαρακτηρίζεται από μεγάλη επιθετικότητα, γρήγορη αύξηση και δύσκολη πρόγνωση και συνήθως εμφανίζεται σε ηλικίες των 50-70 ετών. Το μυελοβλάστωμα εμφανίζεται κυρίως στην παρεγκεφαλίδα και είναι πιο συχνό στα παιδιά.

Αντιμετωπίζεται ευνοϊκά σε θεραπείες με ακτινοβολία και χημειοθεραπεία. Τέλος έχουμε τα ολιγοδενδρογλωιώματα, τα οποία προκύπτουν από τα κύτταρα που παράγουν μυελίνη, τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα κύτταρα Schwann [43].

Εκτός από τα γλωιώματα, άλλοι τύποι όγκων εγκεφάλου συμπεριλαμβάνουν τα αιμαγγειοβλαστώματα στην παρεγκεφαλίδα και τους ραβδοειδούς όγκους, οι οποίοι είναι αρκετά επιθετικοί, συχνά μεταστατικοί και συνήθως εμφανίζονται στα παιδιά [43].

Χαμηλή Κακοήθεια

Οι όγκοι χαμηλής κακοήθειας στον εγκέφαλο σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες: 1ου και 2ου βαθμού. Αυτοί οι όγκοι αναπτύσσονται αργά και είναι λιγότερο επιθετικοί σε σύγκριση με τους όγκους υψηλής κακοήθειας. Λόγω της φύσης τους, καθώς δεν εισβάλλουν στους παρακείμενους ιστούς, οι γιατροί τους αντιμετωπίζουν ως καλοήθεις ειδικότερα τους όγκους 1^{ου} βαθμού. Συνήθως έχουν σαφή όρια, γεγονός που διευκολύνει την αφαίρεσή τους μέσω χειρουργικής επέμβασης. Μετά την αφαίρεση, η πιθανότητα επανεμφάνισης του όγκου είναι χαμηλή, αλλά απαιτείται τακτική παρακολούθηση για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει υποτροπή του όγκου [46].

Παρά το ότι αυτοί οι όγκοι δεν είναι τόσο επιθετικοί όσο οι όγκοι υψηλής κακοήθειας, μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα. Ειδικά αν πιέσουν κρίσιμα σημεία του εγκεφάλου ή εμποδίσουν τη ροή του εγκεφαλονωτιαίου υγρού, μπορεί να προκαλέσουν υδροκέφαλο και άλλα νευρολογικά συμπτώματα που σχετίζονται με την ομιλία, την κίνηση ή τη μνήμη. Η κύρια θεραπεία είναι η χειρουργική αφαίρεση, η οποία συνήθως προσφέρει καλή πρόγνωση, αλλά απαιτείται παρακολούθηση για τον εντοπισμό πιθανών υποτροπών [47].

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα όγκου 1ου βαθμού είναι το πιλοκυτταρικό αστροκύτωμα, το οποίο εμφανίζεται κυρίως στην παρεγκεφαλίδα και είναι πιο συχνό σε παιδιά και εφήβους. Αυτός ο τύπος όγκου μπορεί να παραμείνει στο στάδιο 1 για πολλά χρόνια ή και δεκαετίες, χωρίς να αναπτύξει περαιτέρω επιθετικότητα [48]. Ένα άλλο παράδειγμα είναι τα μηνιγγιώματα, τα οποία σχηματίζονται από τα αραχνοειδή κύτταρα των μηνίγγων. Παρουσιάζονται κυρίως σε άτομα μέσης ηλικίας και ηλικιωμένους, με αυξημένη συχνότητα στις γυναίκες. Συνήθως είναι όγκοι 1ου βαθμού και δεν διεισδύουν στους γειτονικούς ιστούς. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, τα μηνιγγιώματα μπορούν να εξελιχθούν σε πιο επιθετικές μορφές και να φτάσουν μέχρι τον 2ο ή 3ο βαθμό κακοήθειας. Άλλοι όγκοι οι οποίοι έχουν την τάση να εξελιχθούν σε όγκους υψηλή κακοήθειας είναι τα γλοιώματα 2^{ου} βαθμού, όπως τα ολιγοδενδρογλοιώματα και τα ολιγοαστροκυτώματα [47].

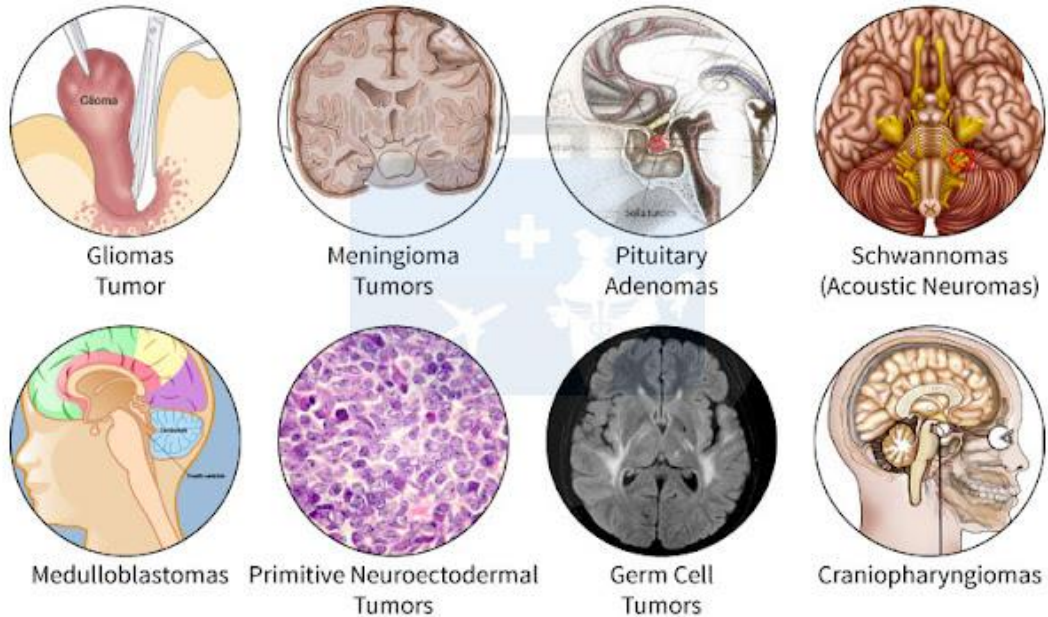
Υψηλή Κακοήθεια

Οι όγκοι υψηλής κακοήθειας είναι ιδιαίτερα επιθετικοί και έχουν την τάση να διεισδύουν στους παρακείμενους ιστούς. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, αυτοί οι όγκοι κατατάσσονται στον 3ο και 4ο βαθμό κακοήθειας. Η ταχύτητα με την οποία αναπτύσσονται και η επιθετική τους συμπεριφορά καθιστούν τη θεραπεία τους δύσκολη, και συνήθως απαιτείται συνδυασμός χειρουργικής επέμβασης, ακτινοθεραπείας και χημειοθεραπείας [48].

Το αναπλαστικό γλοιώμα είναι τυπικός όγκος 3ου βαθμού κακοήθειας και συχνά προκαλεί σημαντικές νευρολογικές επιπλοκές, λόγω της επιθετικής του φύσης και της τάσης να εξαπλώνεται σε γειτονικούς ιστούς. Η θεραπεία του περιλαμβάνει χειρουργική αφαίρεση, αλλά υπάρχει αυξημένος κίνδυνος υποτροπής. Τα γλοιοβλαστώματα, τα οποία ανήκουν στον 4ο βαθμό κακοήθειας, είναι από τις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου του εγκεφάλου και συνοδεύονται από φτωχή πρόγνωση, με τους ασθενείς να επιβιώνουν συνήθως 9 έως 11 μήνες μετά τη διάγνωση [46].

Οι όγκοι αυτοί συνήθως εμφανίζονται σε άτομα ηλικίας 45 έως 70 ετών και είναι πιο συχνοί στους άνδρες. Οι ασθενείς με αστροκυτώματα 2ου βαθμού έχουν μέση επιβίωση περίπου 7 χρόνια, ενώ όσοι έχουν αναπλαστικά αστροκυτώματα (3ου βαθμού) επιβιώνουν περίπου 3,5 χρόνια. Σε περιπτώσεις γλοιοβλαστώματος (4ου βαθμού), το προσδόκιμο ζωής είναι πολύ μικρότερο [47].

TYPES OF BRAIN TUMORS



Εικόνα 1.12. Τύποι Όγκων Εγκεφάλου [πηγή:
<https://collab.dvb.bayern/display/TUMbtt/4%29+Tumor+Types>]

Η διάκριση μεταξύ χαμηλής και υψηλής κακοήθειας στον εγκέφαλο είναι κρίσιμη, καθώς καθορίζει την πορεία της θεραπείας και την πρόγνωση για τον ασθενή. Οι όγκοι χαμηλής κακοήθειας τείνουν να αναπτύσσονται αργά και μπορεί να είναι αντιμετωπίσιμοι με συντηρητικές μεθόδους ή χειρουργική επέμβαση ενώ οι όγκοι υψηλής κακοήθειας απαιτούν άμεση και επιθετική θεραπευτική παρέμβαση λόγω της ταχείας εξέλιξής τους και της αυξημένης θνησιμότητας. Η λανθασμένη διάκριση μεταξύ χαμηλής και υψηλής κακοήθειας στον εγκέφαλο μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες για την υγεία του ασθενούς. Εάν ένας όγκος υψηλής κακοήθειας διαγνωστεί λανθασμένα ως χαμηλής κακοήθειας, ο ασθενής μπορεί να λάβει ανεπαρκή ή καθυστερημένη θεραπεία, επιτρέποντας στον όγκο να αναπτυχθεί και να εξαπλωθεί, μειώνοντας τις πιθανότητες επιβίωσης και επιβαρύνοντας την ποιότητα ζωής. Από την άλλη η διάγνωση ενός όγκου χαμηλής κακοήθειας ως υψηλής κακοήθειας μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολικά επιθετική θεραπεία, όπως άσκοπες χειρουργικές επεμβάσεις, ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία, με περιττές παρενέργειες και κινδύνους για τον ασθενή. Συνεπώς η ακριβής διάγνωση είναι απαραίτητη για να αντιμετωπιστεί βέλτιστα η κάθε περίπτωση.

1.4.5 Αντιμετώπιση/Θεραπείες

Η αντιμετώπιση των όγκων του εγκεφάλου περιλαμβάνει διαφορετικές προσεγγίσεις ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του όγκου, το είδος του, την επιθετικότητά του, την περιοχή που αναπτύσσεται καθώς επίσης και τη κατάσταση της υγείας του εκάστοτε ασθενή.

Το επίκεντρο στην αντιμετώπιση του όγκου του εγκεφάλου το κατέχει η χειρουργική επέμβαση. Με αυτή τη μέθοδο ο νευροχειρουργός προσπαθεί να αφαιρέσει όλο τον

όγκο ή όσο περισσότερο είναι εφικτό και παράλληλα να μηδενίσει τον κίνδυνο πρόκλησης ζημιάς στη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου από πιθανή επέμβαση σε παρακείμενο υγιή ιστό [49]. Η επέμβαση στον εγκέφαλο είναι εφικτή αφού πραγματοποιηθεί κρανιοτομή, δηλαδή η προσωρινή αφαίρεση ενός σημείου του κρανίου. Παρόλο που η χειρουργική επέμβαση είναι από τις πρώτες μεθόδους στην στρατηγική αντιμετώπιση των όγκων έχει αποτελεσματικότητα συνήθως μόνο σε καλοήθεις όγκους καθώς οι κακοήθεις όγκοι λόγω της ιδιότητάς τους να επεκτείνονται και σε άλλους ιστούς δεν έχουν καθορισμένα όρια για να αφαιρεθούν εξ'ολοκλήρου [50].

Η ραδιοθεραπεία αποτελεί επίσης μια από τις βασικές μεθόδους αντιμετώπισης των όγκων του εγκεφάλου. Με αυτή τη μέθοδο ακτινοβολία υψηλής ενέργειας στοχεύεται στον όγκο με σκοπό την θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Μπορεί να είναι είτε εξωτερική επέμβαση είτε εσωτερική με τη μέθοδο της βραχυθεραπείας όπου ένα ραδιοφάρμακο τοποθετείται μέσα στον όγκο. Συνήθως χρησιμοποιείται μετά τη χειρουργική επέμβαση ωστόσο μπορεί να αποτελέσει μονόδρομος εφόσον ο όγκος βρίσκεται σε σημείο το οποίο εγκυμονεί πολλούς κινδύνους για να γίνει χειρουργική αφαίρεση. Με τη ραδιοθεραπεία επιτυγχάνεται η συρρίκνωση του όγκου ενώ μπορεί να θεραπεύσει αποτελεσματικά ορισμένους όγκους χαμηλής κακοήθειας [51].

Πριν, κατά τη διάρκεια ή μετά τη ραδιοθεραπεία χορηγούνται κάποια φάρμακα για να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Αυτή η μέθοδος ονομάζεται χημειοθεραπεία και στοχεύει μέσω χημικών φαρμάκων στην εμπόδιση της κυτταρικής διαίρεσης των καρκινικών κυττάρων και τη θανάτωσή τους [52].

Μια εξέλιξη της ραδιοθεραπείας είναι η ραδιοχειρουργική. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί ακτινοβολία υψηλής ενέργειας η οποία μπορεί να διεισδύσει σε βάθος χωρίς να βλάψει φυσιολογικούς ιστούς. Αυτό συμβαίνει λόγω της χρήσης δύο τεχνικών: του gamma knife και του γραμμικού επιταχυντή. Το gamma knife χρησιμοποιεί εκατοντάδες δέσμες διαφορετικών ενεργειών, οι οποίες από μόνες τους δεν μπορούν να βλάψουν υγιή ιστό ωστόσο συνολικά δημιουργούν υψηλή ενέργεια όταν φτάνουν στο στόχο. Από την άλλη ο γραμμικός επιταχυντής χρησιμοποιεί μια μονή δέσμη υψηλής ενέργειας η οποία στοχεύεται στον καρκινικό όγκο [50].

Μια μέθοδος η οποία είναι σχετικά καινούρια στην αντιμετώπιση των όγκων των εγκεφάλων είναι η ανοσοθεραπεία. Με την ανοσοθεραπεία χορηγούνται φάρμακα τα οποία στοχεύουν στο ανοσοποιητικό για να το βοηθήσουν να καταπολεμήσει τα καρκινικά κύτταρα. Αυτή η μέθοδος βρίσκει αρκετές δυσκολίες οι οποίες έχουν να κάνουν με τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, του οποίου η λειτουργία είναι να προστατεύει τον εγκέφαλο και εμποδίζει διάφορα φάρμακα να φτάσουν στην περιοχή του όγκου αλλά και με τη χρήση διαδοσμένων αντιφλεγμονώδων φαρμάκων για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων του καρκίνου, τα κορτικοστεροειδή. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα κορτικοστεροειδή καταστέλλουν το ανοσοποιητικό και μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή των T κυττάρων τα οποία αποτελούν σημαντικό παράγοντα του ανοσοποιητικού στην αντιμετώπιση του καρκίνου [53].

1.5 Συστήματα Υποστήριξης Απόφασεων

1.5.1 Ορισμός και Χρήση

Τα Συστήματα Υποστήριξης Απόφασης αποτελούν ένα κρίσιμο εργαλείο στην ανάλυση και διαχείριση των όγκων, παρέχοντας ουσιαστική βοήθεια στους γιατρούς στη διάγνωση, το σχεδιασμό της θεραπείας και τη συνολική διαχείριση των ασθενών. Αυτά τα συστήματα συνδυάζουν κλινικά δεδομένα, ιατρικές εικόνες και ιστοπαθολογικές πληροφορίες με υπολογιστικούς αλγορίθμους, μοντέλα μηχανικής μάθησης και τεχνικές ανάλυσης δεδομένων, για να αναλύουν πολύπλοκα σύνολα δεδομένων, να αναγνωρίζουν πρότυπα και να παρέχουν εξατομικευμένες συστάσεις που προσαρμόζονται στα ατομικά χαρακτηριστικά του ασθενούς και του προφίλ της νόσου [54].

Από την πρώτη τους εμφάνιση τη δεκαετία του 1970, τα Συστήματα Υποστήριξης Απόφασης έχουν εξελιχθεί σημαντικά. Σήμερα, χρησιμοποιούν τεχνολογίες αιχμής όπως η τεχνητή νοημοσύνη, η μηχανική μάθηση και η βαθιά μάθηση, προσφέροντας στους γιατρούς τη δυνατότητα να λαμβάνουν πιο ενημερωμένες και ασφαλείς αποφάσεις. Αυτά τα συστήματα ενσωματώνουν στατιστικά μοντέλα, όπως τα μοντέλα Bayesian, τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα και τις μηχανές διανυσμάτων υποστήριξης (SVM), καθώς και μοντέλα δένδρων απόφασης [55] [54].

Εκτός από την υποστήριξη στη διάγνωση και τη διαχείριση των όγκων, τα DSS συμβάλλουν στην ασφαλή χορήγηση φαρμάκων, αποτρέποντας επικίνδυνους συνδυασμούς φαρμάκων και βελτιστοποιώντας τη δοσολογία. Επίσης, προσφέρουν υποστήριξη στην πρόληψη υπογλυκαιμικών επεισοδίων και συμβάλλουν στην καλύτερη διαχείριση των οικονομικών πόρων, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητα των ιατρικών πρακτικών και βελτιώνοντας τη συνολική ποιότητα της φροντίδας που παρέχεται στους ασθενείς [54].

1.5.2 Ανάλυση και επεξεργασία ιατρικών εικόνων

Η μηχανική μάθηση (Machine Learning) αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την ανάλυση και κατηγοριοποίηση δεδομένων, ειδικά στην επεξεργασία ιατρικών εικόνων. Η διαδικασία περιλαμβάνει διάφορα στάδια, όπως η προεπεξεργασία των εικόνων, η τμηματοποίηση των περιοχών ενδιαφέροντος, η εξαγωγή χαρακτηριστικών και η τελική ταξινόμηση. Σε αυτή την πτυχιακή, η εφαρμογή της μηχανικής μάθησης είχε στόχο την ταξινόμηση όγκων εγκεφάλου με βάση τα χαρακτηριστικά τους, αξιοποιώντας τεχνικές επεξεργασίας εικόνας και εξαγωγής χαρακτηριστικών μορφολογίας και υφής.

Προεπεξεργασία Εικόνων

Το πρώτο βήμα είναι η προεπεξεργασία των εικόνων, με σκοπό την εξάλειψη του θορύβου και την ενίσχυση της αντίθεσης. Οι εικόνες συχνά περιέχουν θόρυβο ή ανεπιθύμητες παραμορφώσεις που μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της τμηματοποίησης και της ταξινόμησης. Για την απομάκρυνση του θορύβου,

χρησιμοποιήθηκε το γκαουσιανό φίλτρο, το οποίο εφαρμόζει θόλωση στην εικόνα μέσω της εξίσωσης [56]:

$$G(x,y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} \exp\left(-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}\right) \quad (1)$$

Όπου $G(x,y)$ είναι η έξοδος του φίλτρου, x και y είναι οι συντεταγμένες των εικονοστοιχείων της εικόνας και σ είναι η τυπική απόκλιση που καθορίζει την ένταση της θόλωσης στην εικόνα.

Επιπλέον, για την ενίσχυση της αντίθεσης των εικόνων, εφαρμόστηκε η τεχνική του προσαρμοσμένου ιστόγραμματος (contrast limited adaptive histogram equalization). Αυτή η μέθοδος βελτιώνει την αντίθεση της εικόνας ανακατανέμοντας τα επίπεδα φωτεινότητας σε μικρές περιοχές της εικόνας, επιτρέποντας την ανάδειξη λεπτομερειών σε σκοτεινές ή φωτεινές περιοχές. Η βασική ιδέα αυτής της τεχνικής είναι να προσαρμόζει το ιστόγραμμα κάθε περιοχής ξεχωριστά, επιτυγχάνοντας έτσι μεγαλύτερη οπτική αντίθεση σε όλη την εικόνα και βοηθώντας στον καλύτερο διαχωρισμό των πυρήνων από το υπόβαθρο [57].

Τμηματοποίηση

Κατά την τμηματοποίηση γίνεται ο διαχωρισμός των περιοχών ενδιαφέροντος από το υπόβαθρο, έτσι ώστε να γίνει η ανάλυση και η εξαγωγή χαρακτηριστικών. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, η τμηματοποίηση των πυρήνων στις εικόνες πραγματοποιήθηκε με συνδυασμό μεθόδων προσαρμοσμένου κατωφλίου (adaptive thresholding) και μορφολογικών φίλτρων (morphological filters).

Το προσαρμοσμένο κατώφλι είναι μια τεχνική τμηματοποίησης που εφαρμόζεται σε εικόνες όπου η φωτεινότητα και η αντίθεση διαφέρουν τοπικά. Αντί για την εφαρμογή ενός σταθερού κατωφλίου για ολόκληρη την εικόνα, το προσαρμοσμένο κατώφλι υπολογίζει ξεχωριστό κατώφλι για κάθε μικρή περιοχή της εικόνας, λαμβάνοντας υπόψη τις τοπικές διακυμάνσεις φωτεινότητας. Το προσαρμοσμένο κατώφλι χρησιμοποιήθηκε με τη χρήση της έτοιμης συνάρτησης του Matlab `adaptthresh`.

Μετά την εφαρμογή του προσαρμοσμένου κατωφλίου, είναι σημαντικό να χρησιμοποιηθούν διάφορα μορφολογικά φίλτρα για την βελτίωση των ορίων μεταξύ των σημείων ενδιαφέροντος και του υποβάθρου αλλά και για την εξομάλυνση αυτών των περιοχών. Τα μορφολογικά φίλτρα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική είναι η διάνοιξη (opening) και το κλείσιμο (closing).

Η διάνοιξη εφαρμόζει πρώτα διάβρωση (erosion) για να αφαιρέσει μικρά αντικείμενα που δεν σχετίζονται με την περιοχή ενδιαφέροντος και μετά διόγκωση (dilation) για να αποκατασταθούν τα όρια των περιοχών ενδιαφέροντος.

Το κλείσιμο λειτουργεί αντίστροφα από τη διάνοιξη, καθώς πρώτα εφαρμόζεται διόγκωση και στη συνέχεια διάβρωση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να κλείσουν μικρά κενά στις περιοχές ενδιαφέροντος.

Εξαγωγή Χαρακτηριστικών

Μετά την τμηματοποίηση, ακολουθεί η εξαγωγή χαρακτηριστικών, όπου εξάγονται οι σημαντικές πληροφορίες από τις περιοχές ενδιαφέροντος. Τα χαρακτηριστικά που εξάγονται μπορεί να είναι μορφολογίας, υφής και αρχιτεκτονικής. Στην παρούσα διπλωματική εξήχθησαν μορφολογικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά υφής 1^{ης} και 2^{ης} τάξης.

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που εξήχθησαν περιλαμβάνουν την επιφάνεια, την περίμετρο, τη διάμετρο και την κυκλικότητα [58].

Επιφάνεια (Area): Ορίζεται ως το σύνολο των pixels που καταλαμβάνει η περιοχή ενδιαφέροντος.

$$a = N_m \quad (2)$$

Όπου a είναι η επιφάνεια της περιοχής ενδιαφέροντος και N ο αριθμός των pixel που ανήκουν στην περιοχή.

Περίμετρος (Perimeter): είναι το άθροισμα των εικονοστοιχείων που καθορίζουν τα όρια του πυρήνα.

$$p = N_b \quad (3)$$

Διάμετρος (Diameter): Η διάμετρος ορίζεται ως η μεγαλύτερη απόσταση μεταξύ δύο σημείων στον πυρήνα.

$$Diameter = \sqrt{\frac{4 \times Area}{\pi}} \quad (4)$$

Όπου $Area$ η επιφάνεια της περιοχής ενδιαφέροντος.

Στρογγυλότητα (Roundness): Η στρογγυλότητα παρέχει πληροφορίες για το πόσο ο πυρήνας προσεγγίζει το σχήμα του κύκλου.

$$Roundness = \frac{Perimeter^2}{4 \times \pi \times Area} \quad (5)$$

Όπου $Perimeter$ η περίμετρος του πυρήνα και $Area$ η επιφάνεια του πυρήνα

Χαρακτηριστικά υφής 1^{ης} τάξης

Τα χαρακτηριστικά υφής 1^{ης} που εξήχθησαν περιλαμβάνουν τη μέση τιμή, την τυπική απόκλιση, την κύτωση και τη λοξότητα [58].

Μέση τιμή (Mean Value): Η μέση τιμή αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο της έντασης των pixel στην περιοχή ενδιαφέροντος.

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N g_i \quad (6)$$

Όπου μ η μέση τιμή, g_i είναι οι τιμές των pixel και N ο αριθμός των pixel.

Τυπική απόκλιση (Standard Deviation): Μετρά τη διασπορά των τόνων του γκρι γύρω από τη μέση τιμή.

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (g_i - \mu)^2} \quad (7)$$

Κύτωση (Kurtosis): Εκφράζει την κατανομή των τόνων του γκρι σε σχέση με την κανονική κατανομή. Περιγράφει το σχήμα του ιστογράμματος.

$$k = \frac{\sum_{i=1}^N (g_i - \mu)^4}{(N - 1) \times \sigma^4} \quad (8)$$

Όπου g_i η εικόνα σε τόνους του γκρι, μ μέση τιμή, σ η τυπική απόκλιση και N το σύνολο των εικονοστοιχείων της εικόνας.

Λοξότητα (Skewness): Υπολογίζει την ασυμμετρία της κατανομής των δεδομένων γύρω από τη μέση τιμή.

$$s = \frac{1}{N} \frac{\sum_{i=1}^N (g_i - \mu)^3}{\sigma^3} \quad (9)$$

όπου g_i η εικόνα σε τόνους του γκρι, μ μέση τιμή, σ η τυπική απόκλιση και N το σύνολο των εικονοστοιχείων της εικόνας.

Χαρακτηριστικά υφής 2^{ης} τάξης

Τα χαρακτηριστικά υφής 2^{ης} τάξης που εξήχθησαν περιλαμβάνουν τη συσχέτιση, την αντίθεση, την ενέργεια και την ομοιογένεια [58].

Συσχέτιση (Correlation): Η συσχέτιση μετρά τον γραμμικό συσχετισμό μεταξύ γειτονικών pixel. Η συσχέτιση παίρνει τιμές από -1 ως 1, με το -1 να αντιστοιχεί σε αρνητική συσχέτιση και το 1 σε θετική.

$$Correlation = \frac{\sum_{i,j} (i - \mu_i)(j - \mu_j)P(i,j)}{\sigma_i \sigma_j} \quad (10)$$

Όπου μ_i και σ_i είναι η μέση τιμή και τυπική απόκλιση της γραμμής i , μ_j και σ_j είναι η μέση τιμή και τυπική απόκλιση της στήλης j και $P(i,j)$ είναι η πιθανότητα συνεμφάνισης των τόνων του γκρι.

Αντίθεση (Contrast): Η αντίθεση μετρά την ανομοιογένεια στην εικόνα μέσω της διαφοράς στην φωτεινότητα που έχει ένα εικονοστοιχείο με τα γειτονικά του.

$$Contrast = \sum_{i,j} (i - j)^2 P(i,j) \quad (11)$$

Ενέργεια (Energy): Μετράει την ομοιογένεια που υπάρχει στην εικόνα. Παίρνει τιμές από 0 ως 1 και είναι το άθροισμα των τετραγώνων της πιθανότητας συνεμφάνισης των τόνων του γκρι.

$$Energy = \sum_{i,j} P(i,j)^2 \quad (12)$$

Ομοιογένεια (Homogeneity): Η ομοιογένεια δείχνει την ομαλότητα της κατανομής των επιπέδων γκριζου. Παίρνει τιμές από 0 ως 1.

$$Homogeneity = \sum_{i,j} \frac{P(i,j)}{1 + |i - j|} \quad (13)$$

Όπου $p(i,j)$ το στοιχείο του πίνακα συνεμφάνισης και i, j είναι οι δείκτες για τους τόνους του γκρι.

Μέθοδοι Ταξινόμησης

Ταξινομητής Ελάχιστης Απόστασης (Nearest Neighbor Classifier): Ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης ταξινομεί τα άγνωστα δεδομένα βάσει της

ελάχιστης απόστασης από τα δεδομένα αναφοράς. Η εξίσωση για την εύρεση αυτής της απόστασης δίνεται από την παρακάτω εξίσωση [58]:

$$d_j(x) = x^T m_j - \frac{1}{2} (m_j m_j^T) \quad (14)$$

Όπου x είναι τα χαρακτηριστικά και m_j είναι η μέση τιμή της κατηγορίας j .

Ταξινομητής Bayesian: Ο ταξινομητής Bayesian βασίζεται στη θεωρία της πιθανότητας και υπολογίζει την πιθανότητα ένα δείγμα να ανήκει σε μια κλάση, χρησιμοποιώντας την εξίσωση [58]:

$$d_i(x) = \ln(P(\omega_i)) - \frac{1}{2} \ln(|C_i|) - \frac{1}{2} [x - m_i^T C_i^{-1} x - m_i] \quad (15)$$

Όπου $P(\omega_i)$ είναι η πιθανότητα για την κατηγορία i , C_i είναι η μήτρα διακύμανσης και m_i η μέση τιμή της κατηγορίας i .

1.6 Παρόμοια Έργα

Η μελέτη [59] επικεντρώνεται στην ταξινόμηση αστροκυττωμάτων χαμηλής και υψηλής κακοήθειας, καθώς και στη διάκριση μεταξύ 3ου και 4ου βαθμού κακοήθειας, χρησιμοποιώντας 150 εικόνες βιοψίας.

Για την ταξινόμηση χρησιμοποιήθηκαν Μηχανές Διανυσμάτων Υποστήριξης (SVM) και η μέθοδος χαρτογράφησης ελαχίστων τετραγώνων. Από τις εικόνες εξήχθησαν 18 μορφολογικά και 22 χαρακτηριστικά υφής. Αυτά μειώθηκαν σε 14 με τη μέθοδο διαχωρισμού κλάσεων Wilcoxon και ταξινομήθηκαν σε υποκατηγορίες με βάση τη σημαντικότητά τους. Σημαντικά χαρακτηριστικά για την ταξινόμηση περιλαμβάνουν την κυκλικότητα του πυρήνα, την ομοιογένεια, την ενέργεια και τη συσχέτιση.

Στο πρώτο επίπεδο ταξινόμησης, η διάκριση της χαμηλής από την υψηλή κακοήθεια επιτεύχθηκε με ακρίβεια 97.3% χρησιμοποιώντας SVM με πολυωνμικό πυρήνα 2ου βαθμού και χαρτογράφηση ελαχίστων τετραγώνων 3ου βαθμού. Στο δεύτερο επίπεδο, η διάκριση του 3ου από τον 4ο βαθμό κακοήθειας επιτεύχθηκε με ακρίβεια 97.8% χρησιμοποιώντας SVM με πυρήνα RBF (Συνάρτηση Ακτινικής Βάσης), 10 χαρακτηριστικά και χαρτογράφηση ελαχίστων τετραγώνων 3ου βαθμού. Η συνολική απόδοση του συστήματος ήταν 95.2%.

Η μελέτη [60] χρησιμοποιεί βαθιά μάθηση για την ταξινόμηση γλοιωμάτων, εφαρμόζοντας δύο νευρωνικά δίκτυα, το VGG19 και το ResNet50. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι ταξινόμησης: πρώτον, ταξινόμηση των γλοιωμάτων σε γλοιοβλαστώματα ή ολιγοδενδρογλοιώματα/αστροκυτώματα και έπειτα περαιτέρω διάκριση μεταξύ ολιγοδενδρογλοιωμάτων και αστροκυτωμάτων, και δεύτερον, άμεση ταξινόμηση σε τρεις κατηγορίες: γλοιοβλαστώματα, ολιγοδενδρογλοιώματα και αστροκυτώματα.

Χρησιμοποιήθηκαν 700 περιστατικά γλοιωμάτων και 133.940 εικόνες μετά από περικοπή και αναστροφή σε κάθετο και οριζόντιο επίπεδο των εικόνων. Εφαρμόστηκαν φίλτρα φόντου, σκιάς και μικρών αντικειμένων, καθώς και ο αλγόριθμος κανονικοποίησης χρώσης Macenko.

Στον πρώτο τρόπο ταξινόμησης, τα δύο μοντέλα συνδυάστηκαν για την ταξινόμηση των γλοιωμάτων, ενώ στη δεύτερη μέθοδο, τα μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν για άμεση ταξινόμηση σε τρεις κατηγορίες. Το ResNet50 πέτυχε την καλύτερη απόδοση και στις δύο περιπτώσεις, με ακρίβεια 84.7% και 86.1% αντίστοιχα.

Η μελέτη [61] επικεντρώνεται στην ταξινόμηση των εικόνων MRI όγκων εγκεφάλου σε καρκινικές και μη χρησιμοποιώντας ένα βελτιστοποιημένο υβριδικό νευρωνικό δίκτυο (Optimized Hybrid Deep Neural Network - OHDNN). Συνολικά, χρησιμοποιήθηκαν 1000 εικόνες από περιστατικά, εκ των οποίων 600 χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση και 400 για τη δοκιμή του μοντέλου.

Η προτεινόμενη τεχνική περιλαμβάνει δύο στάδια. Αρχικά, γίνεται προεπεξεργασία των εικόνων για την αφαίρεση του θορύβου με χρήση φίλτρου Gaussian. Στη συνέχεια, οι προεπεξεργασμένες εικόνες ταξινομούνται χρησιμοποιώντας το OHDNN. Το OHDNN είναι ένας συνδυασμός Συνελκτικών Νευρωνικών Δικτύων (CNN) και Δικτύων Μακράς Βραχύχρονης Μνήμης (LSTM). Τα CNN χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών από τις εικόνες, ενώ τα LSTM αναλαμβάνουν την τελική ταξινόμηση.

Για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της ταξινόμησης, χρησιμοποιείται ο αλγόριθμος Adaptive Rider Optimization (ARO) για την επιλογή των βέλτιστων παραμέτρων βαρών του LSTM. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η ακρίβεια του μοντέλου έφτασε το 97.5%, όπως προκύπτει από τον Πίνακα Σύγχυσης (Confusion Matrix).

Η μελέτη [62] εξετάζει τη χρήση του Συνελκτικού Νευρωνικού Δικτύου Google Inception V3 για την ταξινόμηση ιστολογικών εικόνων εγκεφάλου και μαστού.

Οι εφαρμογές της μεθόδου περιλαμβάνουν τέσσερις κύριες κατηγορίες. Πρώτον, την ταξινόμηση των εικόνων εγκεφάλου σε φυσιολογικές ή καρκινικές. Δεύτερον, την ταξινόμηση των εικόνων σε φυσιολογικές, χαμηλής κακοήθειας ή υψηλής κακοήθειας γλοιώματα. Τρίτον, την ταξινόμηση των εικόνων μαστού σε καρκινικές ή μη και την επανάληψη της διαδικασίας με εφαρμογή της μεταφοράς μάθησης από τον ταξινομητή εικόνων εγκεφάλου. Τέλος, την διάκριση των εικόνων καρκίνου μαστού και εγκεφάλου.

Για τις εικόνες εγκεφάλου, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της περικοπής, αυξάνοντας τον αριθμό των δεδομένων σε 3000-4000 για την εκπαίδευση και 1000 για τη δοκιμή. Για τις εικόνες μαστού, επίσης χρησιμοποιήθηκε η περικοπή με 200 εικόνες για την εκπαίδευση και 50 για τη δοκιμή. Στη δεύτερη εφαρμογή, οι εικόνες εγκεφάλου ταξινομήθηκαν αρχικά σε καρκινικές ή μη και στη συνέχεια οι καρκινικές εικόνες ταξινομήθηκαν σε χαμηλής ή υψηλής κακοήθειας. Η απόδοση του συστήματος μετρήθηκε με τους δείκτες ανάκλησης, ακρίβειας και το σκορ F1.

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το σύστημα είχε απόδοση 100% στην πρώτη εφαρμογή. Στη δεύτερη εφαρμογή, το σύστημα πέτυχε $F1=0.991$ για τη διάκριση καρκινικών από φυσιολογικές εικόνες εγκεφάλου και $F1=0.976$ για τη διάκριση χαμηλής και υψηλής κακοήθειας, με ακρίβεια 0.980 και ανάκληση 0.971. Στην τρίτη εφαρμογή, το F1 για την ταξινόμηση καρκινικών και φυσιολογικών εικόνων μαστού υπολογίστηκε στο 0.547 πριν τη μεταφορά μάθησης και έφτασε το 0.913 μετά τη μεταφορά μάθησης, με την απόδοση να αυξάνεται από 52% σε 91%.

Στην τέταρτη εφαρμογή, το σύστημα είχε απόδοση 100% στη διάκριση εικόνων καρκίνου μαστού και εγκεφάλου

Η μελέτη [63] εξετάζει τη χρήση διαφόρων τεχνικών επεξεργασίας εικόνας και μηχανικής μάθησης για την ανίχνευση και ταξινόμηση όγκων εγκεφάλου από εικόνες MRI. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 59 εικόνες MRI για την εκπαίδευση του ταξινομητή K-NN (K-Nearest Neighbors).

Αρχικά, εφαρμόστηκε το φίλτρο Gaussian για την αποκοπή του θορύβου στις εικόνες, βελτιώνοντας έτσι την ποιότητά τους. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική εξισορρόπησης ιστογράμματος για την ενίσχυση της αντίθεσης των εικόνων, διευκολύνοντας την ανίχνευση των ορίων των όγκων.

Για την εξαγωγή χαρακτηριστικών υφής, χρησιμοποιήθηκε ο Πίνακας Συνεμφάνισης Τόνων του Γκρι (Gray Level Co-Occurrence Matrix, GLCM). Μέσω αυτού, εξήχθησαν χαρακτηριστικά όπως η αντίθεση, η συσχέτιση, η ενέργεια, η ομοιογένεια και η εντροπία, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των εικόνων.

Ο ταξινομητής K-NN εκπαιδεύτηκε με τα εξαγόμενα χαρακτηριστικά και κατάφερε να επιτύχει μια επίδοση της τάξης του 96.15% στην ταξινόμηση των εικόνων MRI σε φυσιολογικές και παθολογικές.

Η μελέτη [64] χρησιμοποίησε 61 περιστατικά καρκίνου εγκεφάλου για την ταξινόμηση των όγκων σε χαμηλής και υψηλής κακοήθειας. Οι εικόνες υποβλήθηκαν σε τμηματοποίηση για την εξαγωγή χαρακτηριστικών, όπως υφή, μορφολογία και χωροταξική οργάνωση, χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Ελάχιστης Έκτασης Δέντρων (Minimal Spanning Tree, MST) και ποιοτικές αξιολογήσεις από έναν εξειδικευμένο ιστοπαθολόγο.

Το σύστημα εξήγαγε χαρακτηριστικά και βρήκε τον καλύτερο συνδυασμό τους χρησιμοποιώντας το Πιθανοτικό Νευρωνικό Δίκτυο (Probabilistic Neural Network, PNN), τη μέθοδο leave-one-out και την εξαντλητική αναζήτηση. Η γενίκευση της μεθόδου εκτιμήθηκε μέσω εξωτερικής διασταυρούμενης επικύρωσης.

Η απόδοση του συστήματος βελτιώθηκε σημαντικά όταν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ιστοπαθολόγου συνδυάστηκαν με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά, φτάνοντας σε ακρίβεια 98.4% από 93.4%. Η απόδοση του συστήματος σε άγνωστα δεδομένα επίσης βελτιώθηκε από το $80.0\% \pm 9.2\%$ σε $86.7\% \pm 5.4\%$ χρησιμοποιώντας τον παραπάνω συνδυασμό χαρακτηριστικών.

Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις κατηγορίες χαρακτηριστικών: ποιοτικές, υφής, μορφολογίας και αρχιτεκτονικής. Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με τον συνδυασμό έξι χαρακτηριστικών: μίτωση, γιγάντια κύτταρα, νέκρωση, συσχέτιση, ανομοιομορφία γκρι επιπέδων και στερεότητα, οδηγώντας σε ακρίβεια 98.4%.

2. Μεθοδολογία

2.1 Υλικό / Λογισμικό

Για την πειραματική διαδικασία στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 87 εικόνες ιστοπαθολογίας όγκου εγκεφάλου που αποκτήθηκαν με χρήση οπτικού μικροσκοπίου (LEICA DM 2500 συνδεδεμένο με μια ψηφιακή κάμερα LEICA DFC 420C, Leica Microsystems GmbH, Ernst-Leitz-Strasse, D-35578 Wetzlar, Germany) από τη βάση δεδομένων του εργαστηρίου Medical Image & Signal Processing του τμήματος Μηχανικών Βιοϊατρικής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής [1]. Οι 43 εικόνες προέρχονταν από ασθενείς με χαμηλή κακοήθεια ενώ οι υπόλοιπες 44 από ασθενείς με υψηλή κακοήθεια. Οι εικόνες αυτές πέρασαν από τα εξής στάδια: επεξεργασία, τμηματοποίηση, εξαγωγή χαρακτηριστικών και τελικά ταξινόμηση. Όλα τα παραπάνω στάδια υλοποιήθηκαν σε ένα πρόγραμμα σε περιβάλλον Matlab.

2.1.1. Matlab

Το Matlab είναι ένα λογισμικό που βρίσκει εφαρμογή στον τομέα της προεπεξεργασίας και ταξινόμησης ιατρικών εικόνων. Αποτελεί μια γλώσσα προγραμματισμού που επιτρέπει την ανάπτυξη και αξιολόγηση αλγορίθμων μηχανικής μάθησης, βαθιάς μάθησης (deep learning) και επεξεργασίας εικόνας. Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το περιβάλλον Matlab για την πραγματοποίηση ενός κώδικα εποπτευόμενης μηχανικής μάθησης (Supervised Learning).

2.1.2 Αλγόριθμος

Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

- Φόρτωση των εικόνων από τη διεύθυνση των αρχείων του υπολογιστή
- Μετατροπή της εικόνας σε τόνους του γκρι
- Προεπεξεργασία της εικόνας μέσω φίλτρων, ορισμός κατωφλίου, μορφολογική επεξεργασία και ραφινάρισμα
- Τμηματοποίηση
- Εξαγωγή μορφολογικών χαρακτηριστικών και χαρακτηριστικών υφής
- Εύρεση όλων των πιθανών συνδυασμών χαρακτηριστικών μέχρι και ανά 12
- Εκπαίδευση του ταξινομητή
- Τελική ταξινόμηση

2.2 Συγκριτική Ανάλυση

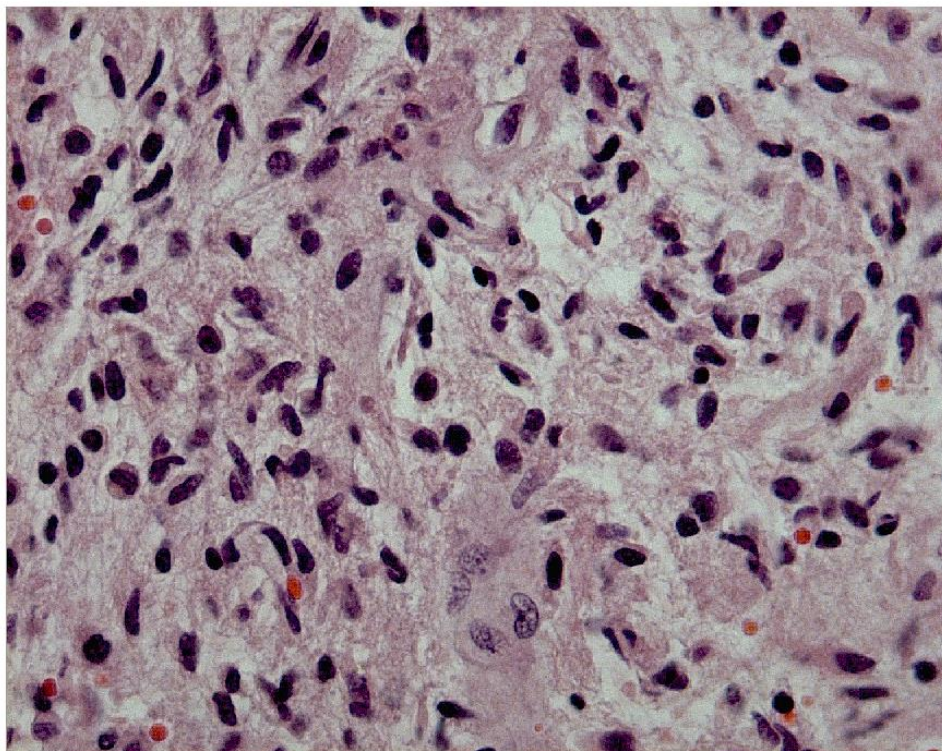
Για την ταξινόμηση των εικόνων δημιουργήθηκαν συνολικά 4 διαφορετικά προγράμματα στο περιβάλλον του Matlab. Το ένα πρόγραμμα περιλάμβανε τη χρήση των exhaustive search, leave-one-out και του ταξινομητή ελάχιστης απόστασης, το

δεύτερο περιλάμβανε τη χρήση των exhaustive search, k-fold cross validation με $k=5$ και του ταξινομητή ελάχιστης απόστασης, το τρίτο περιλάμβανε τη χρήση των exhaustive search, leave-one-out και του Bayesian ταξινομητή και το τέταρτο περιλάμβανε τη χρήση των exhaustive search, k-fold cross validation με $k=5$ και του Bayesian ταξινομητή.

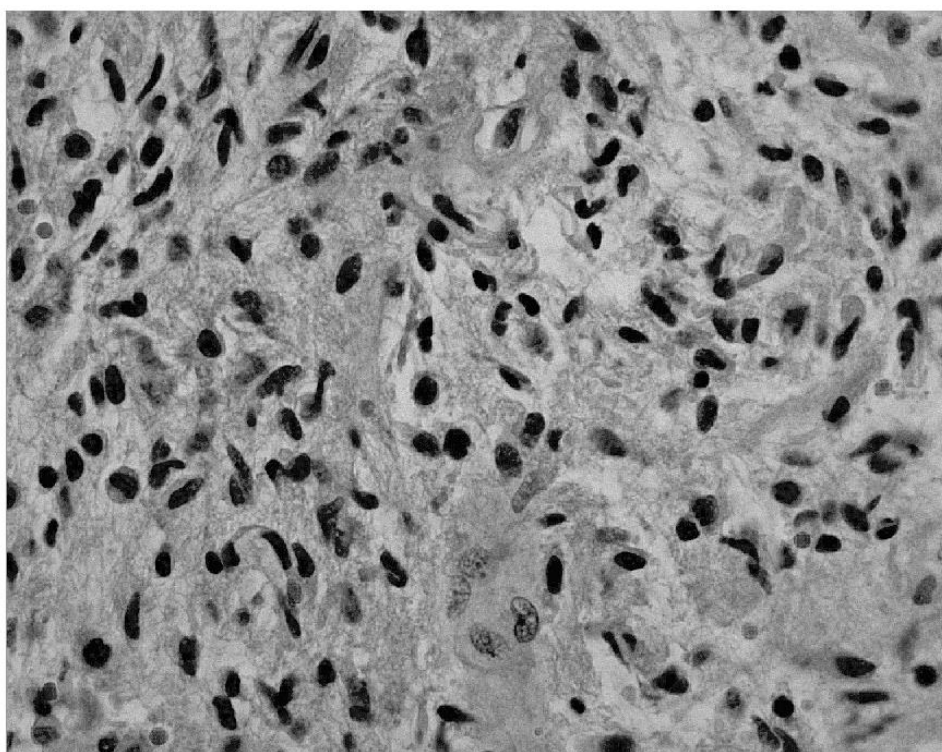
2.3 Μέθοδος

Προεπεξεργασία

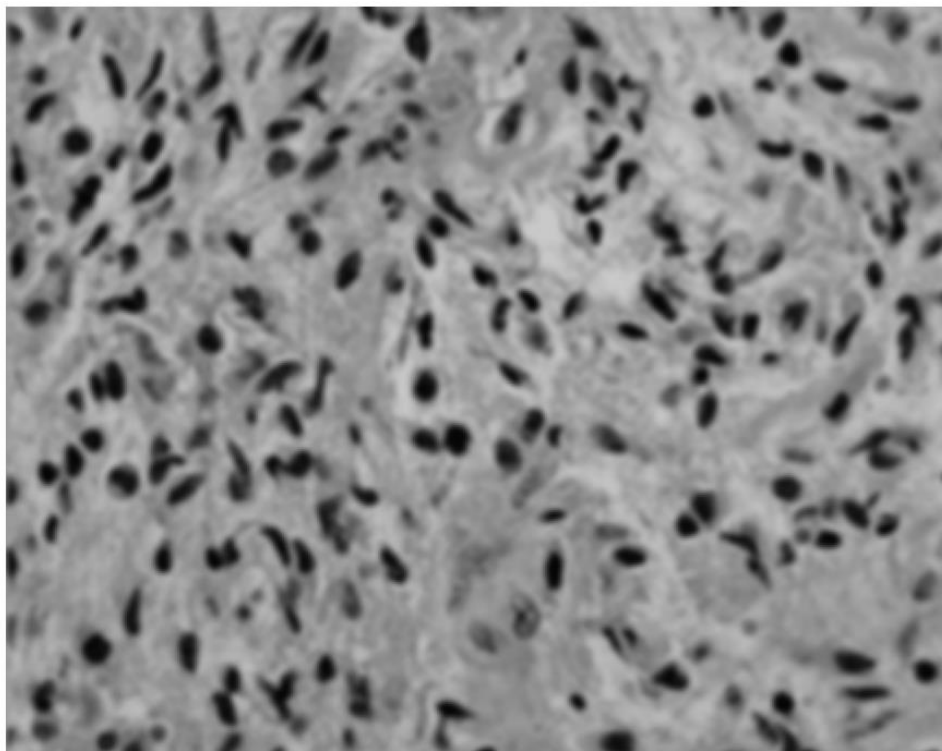
Πρώτα ορίστηκαν δύο μεταβλητές για την ανάγνωση από το directory file των εικόνων χαμηλής και υψηλής κακοήθειας. Έπειτα χρησιμοποιήθηκαν δύο for loop ένα για την κάθε κατηγορία κακοήθειας, όπου γίνεται η προεπεξεργασία των εικόνων. Εκεί αφού διαβαστεί η εικόνα (Εικόνα 2.1.), μετατρέπεται σε κλίμακα του γκρι μέσω της συνάρτησης `rgb2gray` (Εικόνα 2.2.). Στη συνέχεια εφαρμόστηκαν φίλτρα για την μείωση θορύβου, την εξομάλυνση και την ενίσχυση της αντίθεσης μέσω των συναρτήσεων `imgaussfilt` (Εικόνα 2.3.), `adapthisteq` (Εικόνα 2.4.) και `imadjust` (Εικόνα 2.5.). Αφού εφαρμοστούν τα παραπάνω φίλτρα η εικόνα επιδέχεται μαθηματικές πράξεις της αφαίρεσης και της πρόσθεσης έτσι ώστε να αφαιρεθεί το υπόβαθρο και να μείνουν μόνο τα σημεία ενδιαφέροντος. Η εικόνα A που προκύπτει από τη συνάρτηση `adapthisteq` πρώτα προσθέτεται και μετά αφαιρείται από την εικόνα B που προκύπτει από τη συνάρτηση `imadjust`. Το αποτέλεσμα αυτών των δύο πράξεων είναι οι εικόνες L (Εικόνα 2.6.) και H (Εικόνα 2.7.) οι οποίες στη συνέχεια προσθέτονται. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η εικόνα R (Εικόνα 2.8.) η οποία περιέχει επί το πλείστον μόνο τους πυρήνες των κυττάρων και μεγάλο μέρος του υποβάθρου έχει αφαιρεθεί.



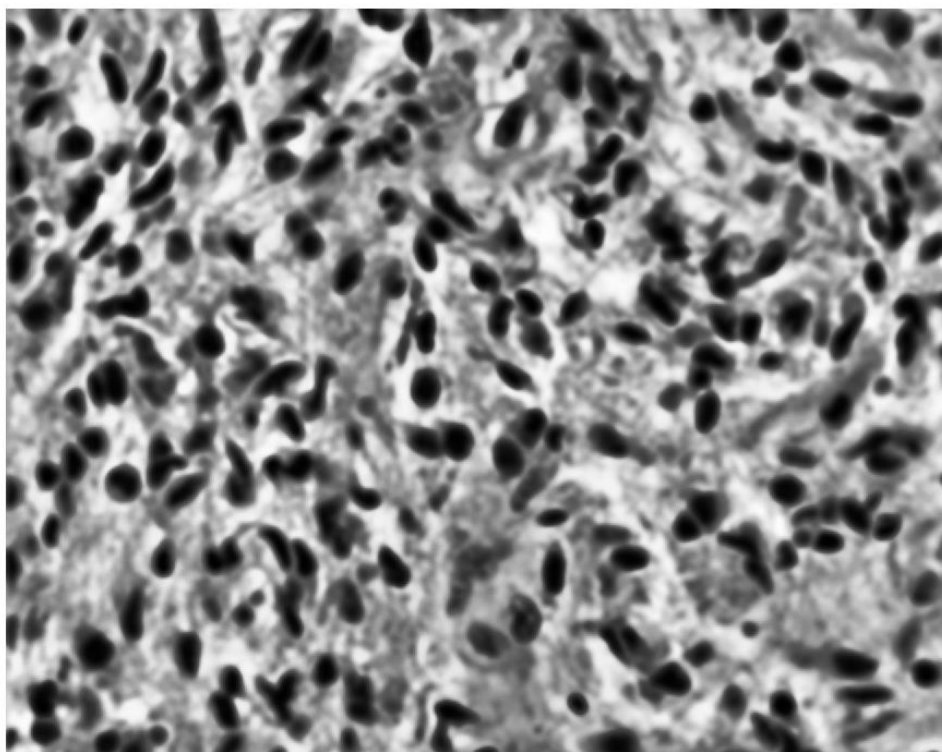
Εικόνα 2.1. Αρχική έγχρωμη εικόνα



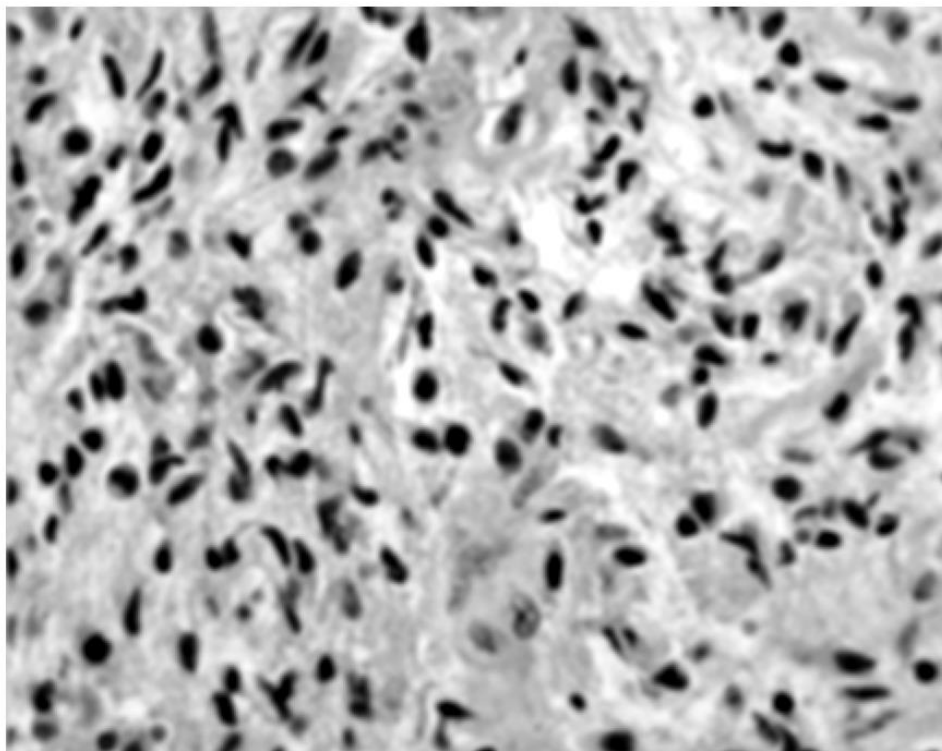
Εικόνα 2.2. Αρχική εικόνα σε τόνους του γκρι



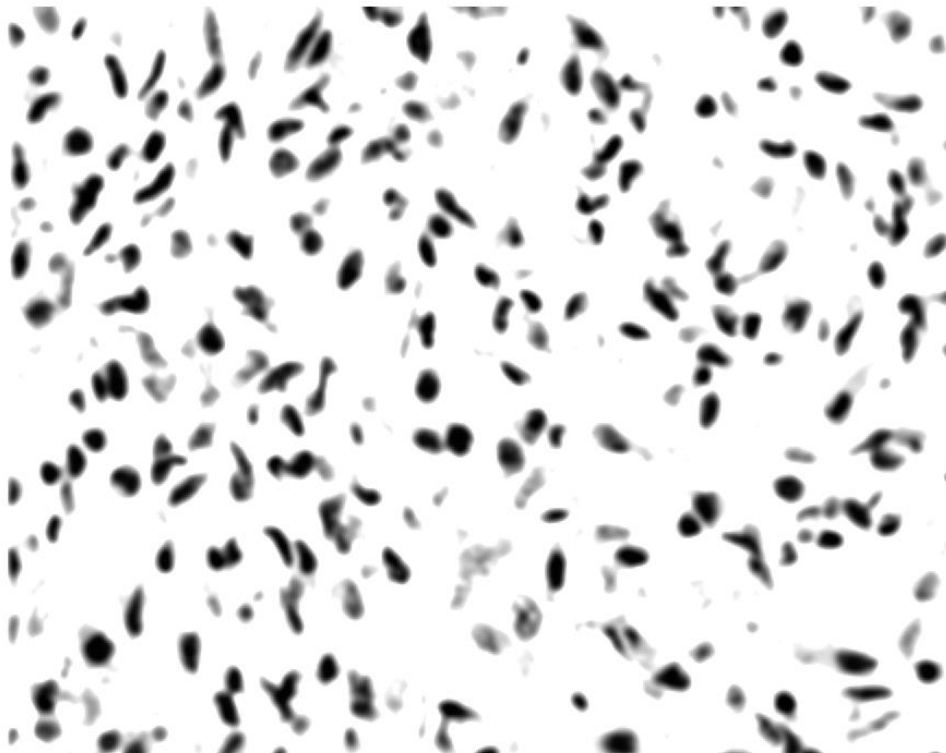
Εικόνα 2.3. Η εικόνα μετά την εφαρμογή του Gaussian φίλτρου



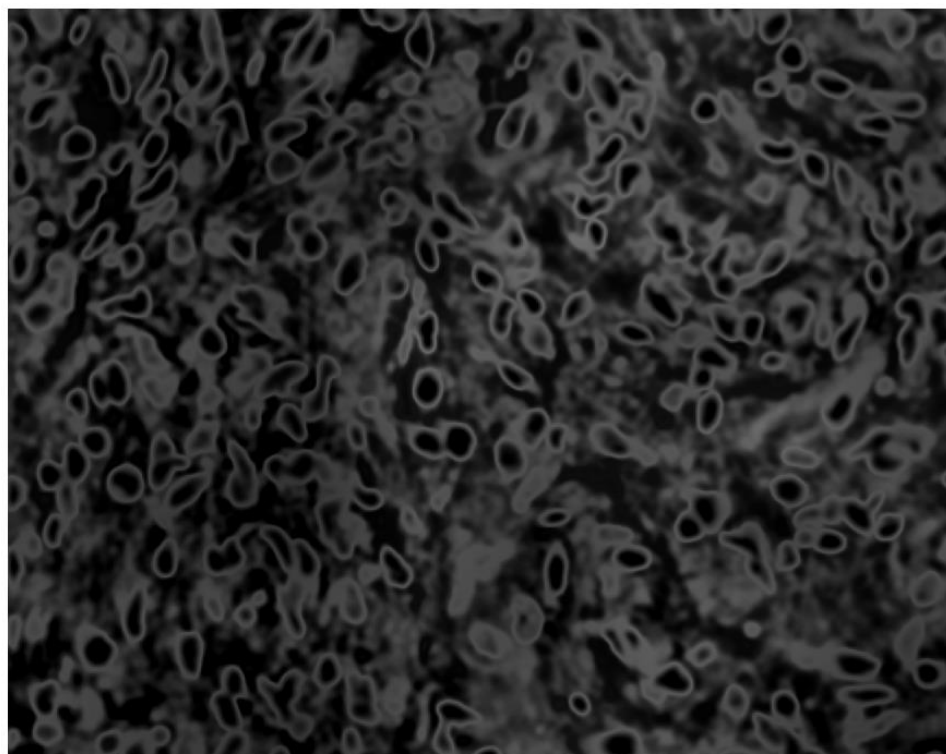
Εικόνα 2.4. Εφαρμογή του προσαρμοσμένου ιστογράμματος *adaptedhisteq*



Εικόνα 2.5. Εφαρμογή της συνάρτησης ενίσχυσης αντίθεσης imadjust



Εικόνα 2.6. Η εικόνα L που προκύπτει από την πρόσθεση της A και B



Εικόνα 2.7. Η εικόνα H από την αφαίρεση της A από τη B



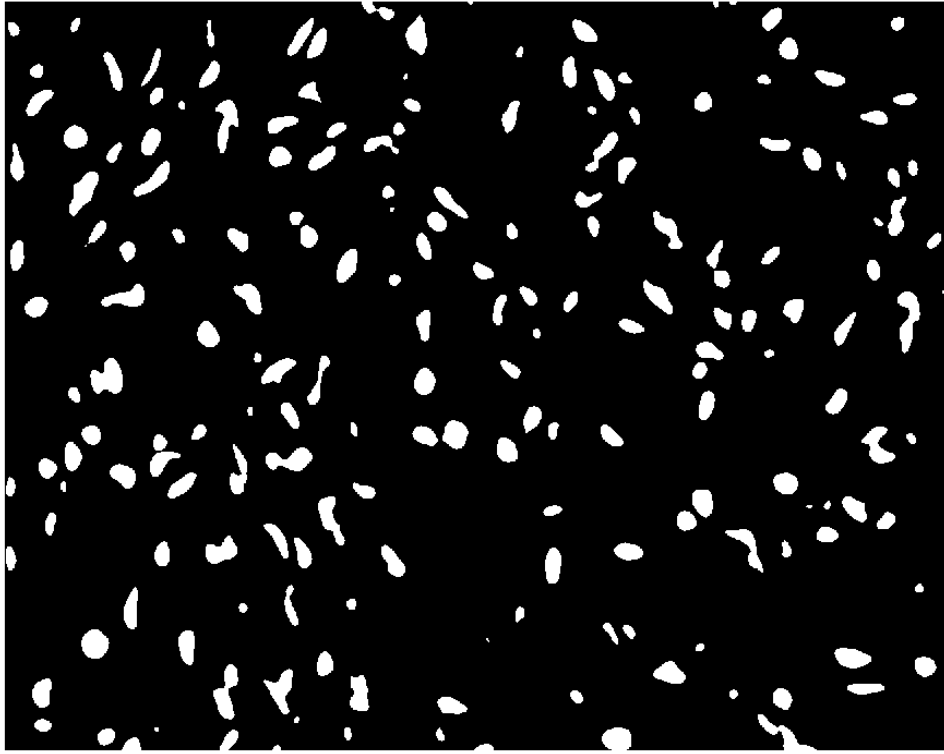
Εικόνα 2.8. Η εικόνα R που προκύπτει από την πρόσθεση της L και H

Τμηματοποίηση

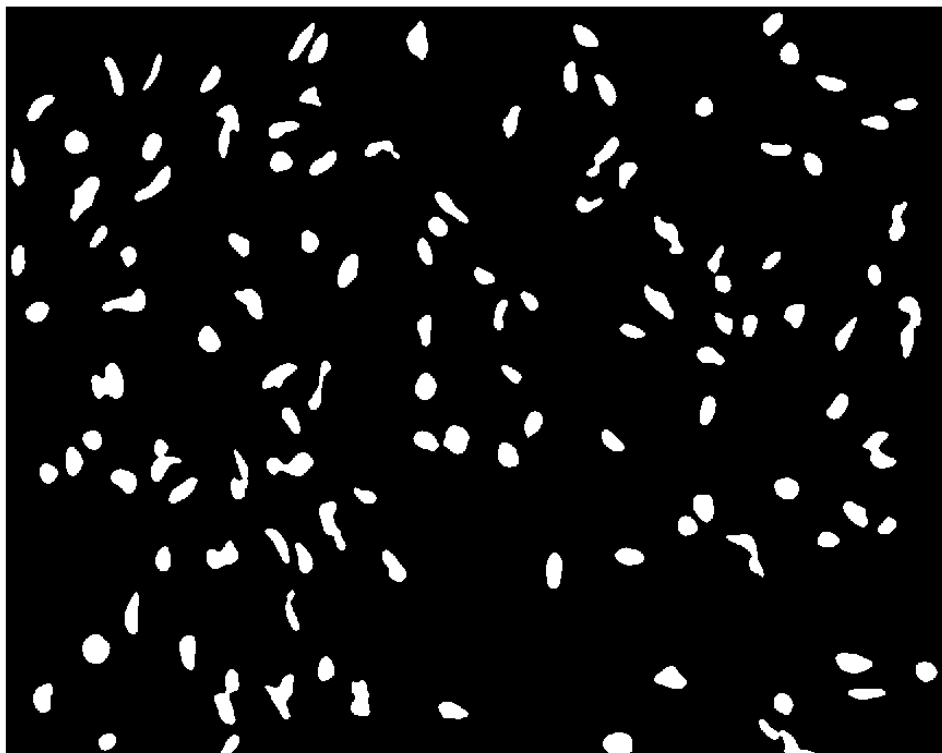
Μετά για να απομακρυνθεί και το υπόλοιπο υπόβαθρο χρησιμοποιείται ένα προσαρμοσμένο κατώφλι μέσω της συνάρτησης `adaptthresh` και μέσω της συνάρτησης `imbinarize` προκύπτει μια δυαδική εικόνα, όπου τα σημεία που είναι πάνω από το κατώφλι (υπόβαθρο) παίρνουν την τιμή 1 (λευκό) και τα σημεία κάτω από το κατώφλι (πυρήνες) παίρνουν την τιμή 0 (μαύρο). Έπειτα με τη συνάρτηση `imcomplement` γίνεται αντιστροφή των χρωμάτων στην εικόνα έτσι ώστε οι πυρήνες να απεικονίζονται με λευκό χρώμα και το υπόβαθρο με μαύρο (Εικόνα 2.9.).

Αφού έχει προκύψει η τμηματοποιημένη δυαδική εικόνα χρησιμοποιήθηκαν μορφολογικά φίλτρα για τη βελτίωση των τμηματοποιημένων περιοχών ενδιαφέροντος. Αυτά τα φίλτρα είναι η διάνοιξη (`opening`) και το κλείσιμο (`closing`). Για τη χρήση αυτών των φίλτρων ορίστηκε ένα δομικό στοιχείο ‘disk’ με ακτίνα 2 pixels. Αφού εφαρμοστούν τα μορφολογικά φίλτρα μέσω των συναρτήσεων `imopen` και `imclose` σειρά έχει το γέμισμα των κενών που πιθανόν έχουν μείνει μετά την εφαρμογή των παραπάνω φίλτρων. Μετά χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση `bwpropfilt`, με είσοδο ‘Area’ και κατώφλι 380, η οποία αφαίρεσε δομές με εμβαδόν μικρότερο των ορισμένων pixels (Εικόνα 2.10.). Χρησιμοποιήθηκε επίσης η `imclearborder` για την αφαίρεση των πυρήνων που απεικονίζονταν στα όρια της εικόνας καθώς δεν προσέφεραν χρήσιμη πληροφορία (Εικόνα 2.11.). Έπειτα από την οπτική ανάλυση των εικόνων παρατηρήθηκαν ότι υπήρχαν πυρήνες οι οποίοι εμφανίζονταν ενωμένοι οπότε χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση `regionprops` για τον υπολογισμό της

στερεότητας (solidity) των πυρήνων με ετικέτα. Συγκεκριμένα ορίστηκε το ‘Solidity’ στο 0.92. Τέλος δημιουργήθηκε και μια εικόνα στην οποία απεικονίζονται οι πυρήνες της αρχικής εικόνας σε μαύρο υπόβαθρο (Εικόνα 2.12.).



Εικόνα 2.9. Η δυαδική εικόνα μετά την εφαρμογή adaptive thresholding και imcomplement



Εικόνα 2.10. Εφαρμογή μορφολογικών φίλτρων και αφαίρεση των artifacts



Εικόνα 2.11. Η εικόνα μετά την απαλοιφή των πυρήνων που βρίσκονται στα όρια της εικόνας



Εικόνα 2.12. Απεικόνιση των τμηματοποιημένων πυρήνων της αρχικής εικόνας σε μαύρο υπόβαθρο

Εξαγωγή Χαρακτηριστικών

Για την εξαγωγή των χαρακτηριστικών της εικόνας χρησιμοποιήθηκαν οι έτοιμες συναρτήσεις του Matlab, `regionprops` και `graycomprops`. Υπολογίστηκαν συνολικά 4 χαρακτηριστικά μορφολογίας και 8 χαρακτηριστικά υφής. Με την `regionprops` υπολογίστηκαν 4 μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως η επιφάνεια, η περίμετρος, η διάμετρος και η στρογγυλότητα. Πριν τη χρήση της `graycomprops` υπολογίστηκε η μήτρα συν-εμφάνισης τόνων του γκρι (Gray Level Co-Occurrence Matrix) με τη συνάρτηση `graycomatrix` με τις εξής σταθερές: `Offset = [0 1; 0 -1; 1 -1; -1 1; 1 0; -1 0; 1 1; -1 -1]`, `GrayLimits=[0 255]` και `NumLevels=32`. Η επιλογή του συγκεκριμένου `Offset` υποδηλώνει ότι η μήτρα Co-Occurrence υπολογίστηκε για όλες τις κατεθύνσεις 0,45,90 και 135 μοίρες από το pixel ενδιαφέροντος. Αφού έγινε ο υπολογισμός της μήτρας συν-εμφάνισης τόνων του γκρι αποκτήθηκαν μέσω της `graycomprops` τα εξής 8 χαρακτηριστικά υφής: μέση τιμή, τυπική απόκλιση, κύρτωση, λοξότητα, συσχέτιση, αντίθεση, ενέργεια και ομοιογένεια.

Παρακάτω παραθέτονται συγκεντρωτικά όλα τα χαρακτηριστικά που εξήχθησαν καθώς και οι μαθηματικοί τύποι.

Μορφολογικά χαρακτηριστικά

1. Επιφάνεια (Area)
2. Περίμετρος (Perimeter)
3. Διάμετρος (Diameter)

4. Στρογγυλότητα (Roundness)

Χαρακτηριστικά υφής 1^{ης} τάξης

1. Μέση τιμή (Mean Value)
2. Τυπκή απόκλιση (Standard Deviation)
3. Κύρτωση (Kurtosis)
4. Λοξότητα (Skewness)

Χαρακτηριστικά υφής 2^{ης} τάξης

5. Συσχέτιση (Correlation)
6. Αντίθεση (Contrast)
7. Ενέργεια (Energy)
8. Ομοιογένεια (Homogeneity)

Ταξινόμηση

Στο στάδιο της ταξινόμησης, χρησιμοποιήθηκαν δύο ταξινομητές: ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης (Minimum Distance Classifier, MDC) και ο Bayesian ταξινομητής. Πριν από τη διαδικασία της ταξινόμησης, οι εικόνες χαρακτηρίστηκαν με ετικέτες (labels) και χωρίστηκαν σε δεδομένα εκπαίδευσης και δοκιμής με τη συνάρτηση cvpartition και τη μέθοδο Holdout (70% για εκπαίδευση και 30% για δοκιμή). Οι εικόνες χαμηλής κακοήθειας χαρακτηρίστηκαν με την ετικέτα 0, ενώ οι εικόνες υψηλής κακοήθειας με την ετικέτα 1.

Για την επιλογή των βέλτιστων συνδυασμών χαρακτηριστικών, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της εξαντλητικής αναζήτησης (exhaustive search) για τον υπολογισμό όλων των δυνατών συνδυασμών χαρακτηριστικών από 2 έως 12. Αφού βρεθούν όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί, ακολουθεί το στάδιο εκπαίδευσης και δοκιμής των ταξινομητών.

Για την εκπαίδευση και δοκιμή των ταξινομητών (ελάχιστης απόστασης και Bayesian) εφαρμόστηκαν δύο μέθοδοι διασταυρούμενης επικύρωσης: External Leave-One-Out Cross-Validation (LOO-CV) και External k-Fold Cross-Validation (k=5). Για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών (k=2 έως k=12), πραγματοποιήθηκαν 10 επαναλήψεις τόσο για την εσωτερική όσο και για την εξωτερική επικύρωση.

Leave-One-Out Cross-Validation (LOO-CV)

Για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών που προκύπτει από την exhaustive search, εφαρμόστηκε η μέθοδος leave-one-out cross-validation σε όλα τα δεδομένα εκπαίδευσης. Στην εσωτερική επικύρωση, αφαιρείται κάθε φορά μία εικόνα από το σύνολο εκπαίδευσης για δοκιμή, ενώ οι υπόλοιπες εικόνες χρησιμοποιούνται για την εκπαίδευση του ταξινομητή. Αυτή η διαδικασία επαναλήφθηκε 10 φορές για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών. Στο τέλος κάθε επανάληψης, υπολογίζεται ο βέλτιστος συνδυασμός χαρακτηριστικών και εφαρμόζεται στα δεδομένα δοκιμής για την εξωτερική επικύρωση. Οι μετρικές ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας υπολογίζονται τόσο για τα δεδομένα εκπαίδευσης όσο και για τα δεδομένα δοκιμής.

Πριν από κάθε ταξινόμηση, τα δεδομένα κανονικοποιούνται μέσω της μεθόδου Z-Score, υπολογίζοντας τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση των δεδομένων εκπαίδευσης και εφαρμόζοντάς τα στα δεδομένα δοκιμής.

K-Fold Cross-Validation (k=5)

Η μέθοδος k-fold cross-validation εφαρμόζεται με τον ίδιο τρόπο για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών. Το σύνολο εκπαίδευσης χωρίζεται σε 5 μέρη (folds). Σε κάθε επανάληψη, 4 folds χρησιμοποιούνται για εκπαίδευση και το 1 fold για δοκιμή. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται 5 φορές, ώστε κάθε fold να χρησιμοποιηθεί μία φορά ως σύνολο δοκιμής. Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε για 10 επαναλήψεις, ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη ακρίβεια στις μετρικές αξιολόγησης τόσο για την εσωτερική όσο και για την εξωτερική επικύρωση. Όπως και στην LOO-CV, η κανονικοποίηση των δεδομένων πραγματοποιείται πριν από την ταξινόμηση. Οι μετρικές ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας υπολογίζονται για κάθε επανάληψη τόσο στα δεδομένα εκπαίδευσης όσο και στα δεδομένα δοκιμής.

Καθορισμός Σημαντικών Χαρακτηριστικών

Τα χαρακτηριστικά που επηρέασαν περισσότερο την απόδοση των ταξινομητών καθορίστηκαν με βάση τη συχνότητα εμφάνισής τους στους συνδυασμούς που έδωσαν τις καλύτερες μετρικές. Αυτό βοήθησε στην επιλογή των χαρακτηριστικών με τη μεγαλύτερη συνεισφορά στην απόδοση των συστημάτων, τα οποία στη συνέχεια δοκιμάστηκαν στα άγνωστα δεδομένα δοκιμής για την τελική αξιολόγηση.

Υπολογισμός Αποτελεσμάτων

Για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών και για κάθε ταξινομητή, υπολογίζονται οι μέσοι όροι των μετρικών ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας από τις 10 επαναλήψεις της εσωτερικής και εξωτερικής επικύρωσης. Στη συνέχεια, οι μέσοι όροι από όλους τους συνδυασμούς χαρακτηριστικών ($k=2$ έως $k=12$) προστίθενται και διαιρούνται με τον συνολικό αριθμό συνδυασμών, ώστε να προκύψουν οι τελικές μετρικές απόδοσης των ταξινομητών, μαζί με την απόκλιση. Αυτή η απόκλιση παρέχει μια ένδειξη της σταθερότητας των μετρικών για κάθε μέθοδο εκπαίδευσης και ταξινομητή.

Πίνακας Αληθείας

Ο πίνακας αληθείας χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της ακρίβειας, της ευαισθησίας και της ειδικότητας των ταξινομητών. Για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών, οι μεταβλητές True Positive (TP), True Negative (TN), False Positive (FP) και False Negative (FN) χρησιμοποιούνται για τη σύγκριση των προβλέψεων των ταξινομητών με τις πραγματικές ετικέτες των εικόνων. Με βάση αυτές τις τιμές, υπολογίζονται οι τελικές μετρικές για κάθε συνδυασμό χαρακτηριστικών.

Ταξινόμηση Άγνωστων Δεδομένων

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Αφού ολοκληρωθεί η εκπαίδευση των ταξινομητών, πραγματοποιείται η τελική δοκιμή τους σε άγνωστα δεδομένα (το 30% που διαχωρίστηκε αρχικά), με τον συνδυασμό χαρακτηριστικών που θεωρήθηκε βέλτιστος κατά την εκπαίδευση. Η κανονικοποίηση των δεδομένων εκπαίδευσης εφαρμόζεται ξανά στα δεδομένα δοκιμής, υπολογίζοντας τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση των δεδομένων εκπαίδευσης, ώστε να διασφαλιστεί η ομοιόμορφη εφαρμογή της μεθόδου Z-Score.

3. Αποτελέσματα

Σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

Ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών για την ταξινόμηση με τον **ταξινομητή ελάχιστης απόστασης** και την εκπαίδευσή του με τη **μέθοδο leave-one-out** είναι η **Επιφάνεια**, η **Τυπική απόκλιση** και η **Ομοιογένεια** με τις ακόλουθες μετρικές:

- **Ακρίβεια:** 81% κατά την εκπαίδευση και 76% κατά τη δοκιμή
- **Ευαισθησία:** 90% κατά την εκπαίδευση και 85% κατά τη δοκιμή
- **Ειδικότητα:** 73% κατά την εκπαίδευση και 67% κατά τη δοκιμή

Ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών για την ταξινόμηση με τον **ταξινομητή ελάχιστης απόστασης** και την εκπαίδευσή του με τη **μέθοδο k-fold cross validation για k=5** είναι η **Επιφάνεια**, η **Διάμετρος**, η **Τυπική απόκλιση**, η **Κύρτωση** και η **Ομοιογένεια** με τις ακόλουθες μετρικές:

- **Ακρίβεια:** 80% κατά την εκπαίδευση και 77% κατά τη δοκιμή
- **Ευαισθησία:** 88% κατά την εκπαίδευση και 86% κατά τη δοκιμή
- **Ειδικότητα:** 72% κατά την εκπαίδευση και 68% κατά τη δοκιμή

Ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών για την ταξινόμηση με τον **Bayesian ταξινομητή** και την εκπαίδευσή του με τη **μέθοδο leave-one-out** είναι η **Επιφάνεια**, η **Διάμετρος**, η **Μέση τιμή**, η **Κύρτωση**, η **Λοξότητα** και η **Ομοιογένεια** με τις ακόλουθες μετρικές:

- **Ακρίβεια:** 84% κατά την εκπαίδευση και 77% κατά τη δοκιμή
- **Ευαισθησία:** 89% κατά την εκπαίδευση και 82% κατά τη δοκιμή
- **Ειδικότητα:** 80% κατά την εκπαίδευση και 73% κατά τη δοκιμή

Ο καλύτερος συνδυασμός χαρακτηριστικών για την ταξινόμηση με τον **Bayesian ταξινομητή** και την εκπαίδευσή του με τη μέθοδο **k-fold cross validation για k=5** είναι η **Επιφάνεια**, η **Διάμετρος**, η **Κυκλικότητα**, η **Μέση τιμή**, η **Κύρτωση** και η **Συσχέτιση** με τις ακόλουθες μετρικές:

- **Ακρίβεια:** 84% κατά την εκπαίδευση και 77% κατά τη δοκιμή
- **Ευαισθησία:** 89% κατά την εκπαίδευση και 83% κατά τη δοκιμή
- **Ειδικότητα:** 79% κατά την εκπαίδευση και 71% κατά τη δοκιμή

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

Ταξινομητής-Μέθοδος εκπαίδευσης	Χαρακτηριστικά	Ακρίβεια (Εκπαίδευση)	Ακρίβεια (Δοκιμή)	Ευαισθησία (Εκπαίδευση)	Ευαισθησία (Δοκιμή)	Ειδικότητα (Εκπαίδευση)	Ειδικότητα (Δοκιμή)
Ελάχιστης Απόστασης-Leave-One-Out	Επιφάνεια, Τυπική απόκλιση, Ομοιογένεια	81% (± 2%)	76% (± 6%)	90% (± 2%)	85% (± 6%)	73% (± 5%)	67% (± 9%)
Ελάχιστης Απόστασης-k fold cross validation, k=5	Επιφάνεια, Διάμετρος, Τυπική απόκλιση, Κύρτωση, Ομοιογένεια	80% (± 3%)	77% (± 6%)	88% (± 3%)	86% (± 6%)	72% (± 5%)	68% (± 6%)
Bayesian-Leave One Out	Επιφάνεια, Διάμετρος, Μέση τιμή, Κύρτωση, Λοξότητα, Ομοιογένεια	84% (± 3%)	77% (± 3%)	89% (± 5%)	82% (± 6%)	80% (± 6%)	73% (± 6%)
Bayesian- k fold cross validation, k=5	Επιφάνεια, Διάμετρος, Κυκλικότητα, Μέση τιμή, Κύρτωση, Συσχέτιση	84% (± 3%)	77% (± 3%)	89% (± 4%)	83% (± 5%)	79% (± 6%)	71% (± 7%)

Πίνακας 1 Μετρικές των ταξινομητών Ελάχιστης Απόστασης και Bayesian για κάθε μέθοδο εκπαίδευσης (leave-one-out και k fold cross validation) καθώς και τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά.

Το Διάγραμμα 1 παρουσιάζει την ακρίβεια του ταξινομητή ελάχιστης απόστασης με τη μέθοδο external leave-one-out για κάθε βέλτιστο συνδυασμό χαρακτηριστικών από 2 μέχρι και ανά 12 τόσο κατά την εκπαίδευση όσο και κατά την εξωτερική επικύρωση σε άγνωστα δεδομένα. Το υψηλότερο ποσοστό ακρίβειας (84.2%) κατά τη δοκιμή του ταξινομητή σε άγνωστα δεδομένα εμφανίζεται για το συνδυασμό 7 χαρακτηριστικών όπου παρατηρείται και το φαινόμενο peaking.

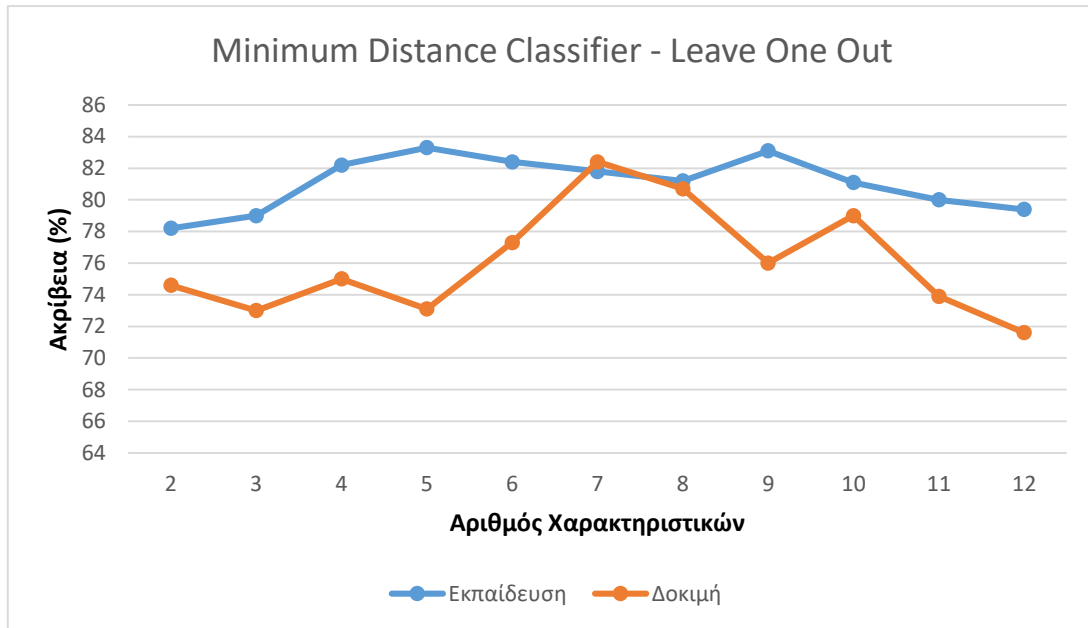
Το Διάγραμμα 2 απεικονίζει την ακρίβεια του ταξινομητή ελάχιστης απόστασης με τη μέθοδο external k-fold (k=5) cross validation. Το φαινόμενο peaking εμφανίζεται και εδώ για το συνδυασμό 7 χαρακτηριστικών με την ακρίβεια να φτάνει το 82%.

Το Διάγραμμα 3 παρουσιάζει την ακρίβεια του ταξινομητή Bayesian με τη μέθοδο external leave-one-out. Σε αυτή την περίπτωση δεν εμφανίζεται με σαφήνεια το φαινόμενο peaking ωστόσο παρατηρείται μια σταθερότητα στην ακρίβεια για όλους τους συνδυασμούς χαρακτηριστικών από 7 και πάνω που κυμαίνεται στο 80%.

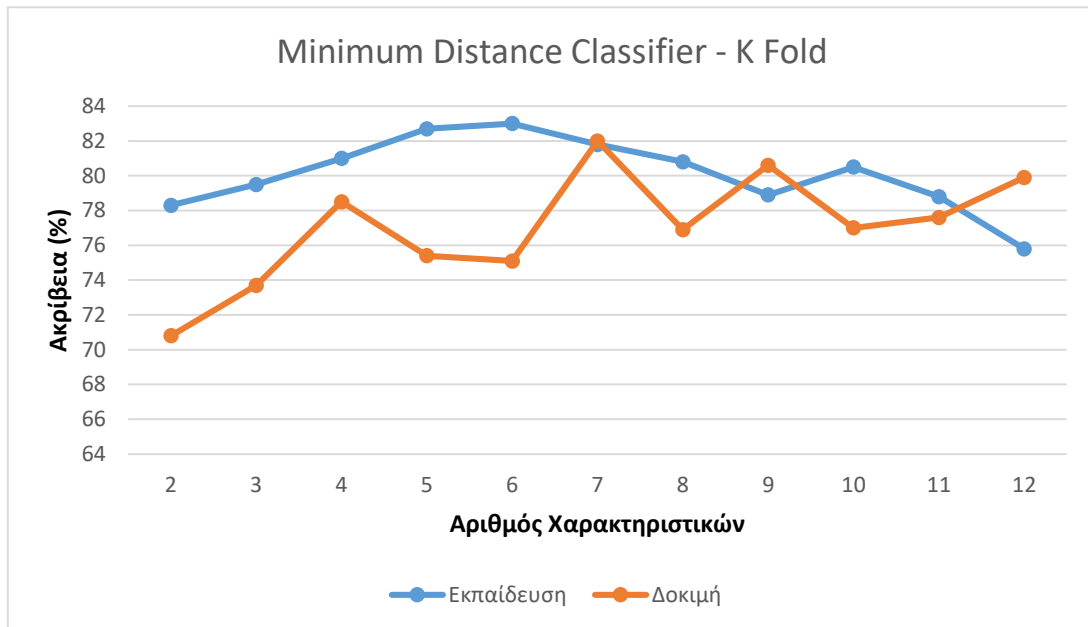
Στο Διάγραμμα 4 απεικονίζεται η ακρίβεια του ταξινομητή Bayesian με τη μέθοδο external k-fold (k=5) cross validation. Το φαινόμενο peaking εμφανίζεται για το

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ

συνδυασμό 7 και 10 χαρακτηριστικών με ποσοστά ακρίβειας 80.5% και 80.9% αντίστοιχα.

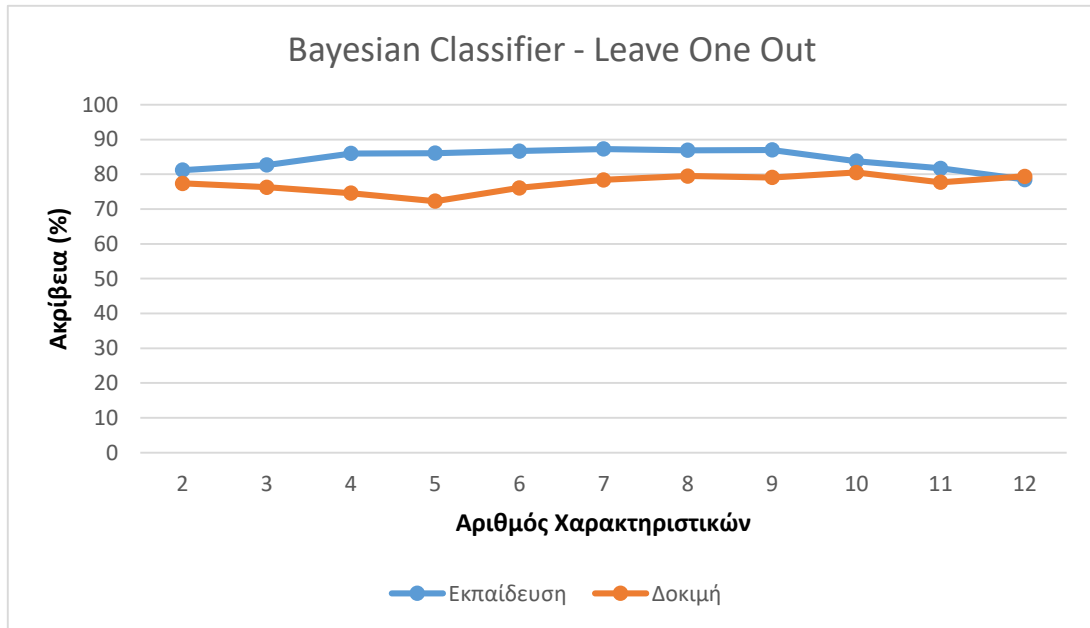


Διάγραμμα 1 Ποσοστό ακρίβειας σε σχέση με το πλήθος χαρακτηριστικών κατά την εκπαίδευση και τη δοκιμή του ταξινομητή Ελάχιστης Απόστασης με τη μέθοδο leave-one-out

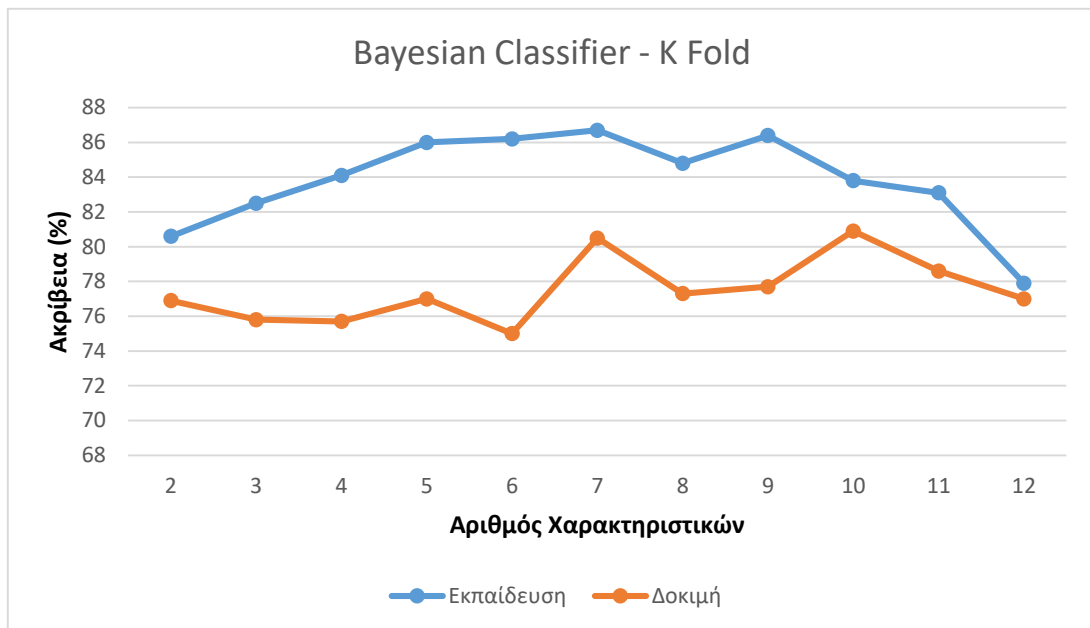


Διάγραμμα 2 Ποσοστό ακρίβειας σε σχέση με το πλήθος χαρακτηριστικών κατά την εκπαίδευση και τη δοκιμή του ταξινομητή Ελάχιστης Απόστασης με τη μέθοδο k fold (k=5) cross validation

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ



Διάγραμμα 3 Ποσοστό ακρίβειας σε σχέση με το πλήθος χαρακτηριστικών κατά την εκπαίδευση και τη δοκιμή του ταξινομητή Bayesian με τη μέθοδο leave-one-out



Διάγραμμα 4 Ποσοστό ακρίβειας σε σχέση με το πλήθος χαρακτηριστικών κατά την εκπαίδευση και τη δοκιμή του ταξινομητή Bayesian με τη μέθοδο k fold (k=5) cross validation

4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Στη μελέτη αυτή, αναλύθηκαν και συγκρίθηκαν διάφορες μέθοδοι ταξινόμησης με στόχο την αξιολόγηση της αποδοτικότητάς τους σε δεδομένα που σχετίζονται με επιλεγμένα χαρακτηριστικά εικόνων. Οι δύο βασικοί ταξινομητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ο Ελάχιστης Απόστασης και ο Bayesian, και για κάθε ταξινομητή εφαρμόστηκαν δύο μέθοδοι διασταυρούμενης επικύρωσης: **Leave-One-Out** και **k-fold cross validation** με $k=5$.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, φαίνεται ότι οι μέθοδοι ταξινόμησης που χρησιμοποιήθηκαν - τόσο με τον ταξινομητή ελάχιστης απόστασης όσο και με τον Bayesian - απέδωσαν αρκετά καλά σε σύγκριση με έρευνες που χρησιμοποιούν πιο σύγχρονες μεθόδους και ισχυρότερους ταξινομητές όπως SVM, νευρωνικά δίκτυα και PNN. Ωστόσο, παρατηρούνται κάποιες διακυμάνσεις στις μετρικές τόσο στην εκπαίδευση όσο και σε άγνωστα δεδομένα που πρέπει να ληφθούν υπόψιν.

Στο [59] χρησιμοποιείται ένας ταξινομητής SVM (Support Vector Machine) και η μέθοδος χαρτογράφησης ελαχίστων τετραγώνων για τη διάκριση αστροκυτώματος χαμηλής και υψηλής κακοήθειας. Οι ταξινομητές SVM είναι αρκετά ισχυροί στην ταξινόμηση και αποτελούν ένα σημαντικό πεδίο έρευνας στην αναγνώριση προτύπων. Επίσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Wilcoxin για την επιλογή των καλύτερων συνδυασμών χαρακτηριστικών. Το ποσοστό ακρίβειας της ταξινόμησης φτάνει το 97.3%, υψηλότερο από τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής, που βασίζεται σε λιγότερο ισχυρούς ταξινομητές και διαδικασίες επιλογής χαρακτηριστικών.

Στο [60] χρησιμοποιείται μια προσέγγιση βαθιάς μάθησης με τα νευρωνικά δίκτυα VGG19 και ResNet50 για την ταξινόμηση 700 ιστοπαθολογικών εικόνων γλοιωμάτων σε αστροκύτωμα, ολιγοδενδρογλοίωμα και γλοιοβλάστωμα. Η συγκεκριμένη έρευνα πέτυχε μια ακρίβεια 91.7% στη διάκριση του γλοιοβλαστώματος από το αστροκύτωμα και το ολιγοδενδρογλοίωμα καθώς και 86.1% στην διάκριση και των τριών κλάσεων με το μοντέλο ResNet50. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι περικοπής και αναστροφής των εικόνων για αύξηση των δεδομένων εκπαίδευσης και η μέθοδος Macenko για την εξομάλυνση της χρώσης στις εικόνες. Αντίθετα, στη παρούσα διπλωματική χρησιμοποιήθηκε μικρότερος αριθμός δεδομένων και κλασικές μεθόδους εξομάλυνσης των εικόνων και ταξινόμησης.

Στο [62] εφαρμόζεται το Συνελικτικό Νευρωνικό Δίκτυο Google Inception V3 για την ταξινόμηση ιστολογικών δειγμάτων εγκεφάλου σε φυσιολογικό, χαμηλής κακοήθειας ή υψηλής κακοήθειας γλοίωμα. Για τη διάκριση της χαμηλής από την υψηλή κακοήθεια το δίκτυο πέτυχε ένα ποσοστό 98%. Τα δεδομένα εκπαίδευσης και δοκιμής αυξήθηκαν με τη μέθοδο περικοπής. Η παρούσα διπλωματική υστερεί στην ακρίβεια σε σχέση με αυτή την έρευνα λόγω των λιγότερων δεδομένων για την εκπαίδευση και τη δοκιμή καθώς και των πιο απλών ταξινομητών μηχανικής μάθησης όπως ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης και ο ταξινομητής Bayesian.

Στο [64] αναπτύχθηκε ένας ταξινομητής PNN (Probabilistic Neural Network) για την ταξινόμηση όγκων εγκεφάλου σε χαμηλή και υψηλή κακοήθεια. Ο συγκεκριμένος ταξινομητής κατάφερε μια ακρίβεια 98.4% σε γνωστά δεδομένα ενώ σε άγνωστα

δεδομένα 86.7% \pm 5.4%. Όπως και στην παρούσα διπλωματική ο υπολογισμός του καλύτερου συνδυασμού χαρακτηριστικών επιτεύχθηκε με τις μεθόδους εξαντλητικής αναζήτησης και leave-one-out. Η παρούσα έρευνα υπερτερεί στην ικανότητα γενίκευσης, χάρη στη χρήση χαρακτηριστικών που αξιολογούνται από ειδικούς καθώς και στην επιλογή πιο ισχυρού ταξινομητή όπως ο PNN.

Ο **ταξινομητής ελάχιστης απόστασης** με τη μέθοδο **leave one out** και την **exhaustive search** έδωσε ακρίβεια εκπαίδευσης 81% και δοκιμής 76%, με διακυμάνσεις \pm 2% και \pm 6% αντίστοιχα. Η ευαισθησία κυμάνθηκε στο 90% στην εκπαίδευση και στη δοκιμή έπεσε στο 85%. Η ειδικότητα, παρόλο που ήταν ικανοποιητική κατά την εκπαίδευση (73%), μειώθηκε αισθητά στα δεδομένα δοκιμής, φτάνοντας μόλις το 67%, με αρκετά μεγάλη διακύμανση (\pm 9%).

Αντίστοιχα με τη μέθοδο **k-fold cross-validation (k=5)** ο ταξινομητής έδειξε παρόμοια αποτελέσματα, με μικρές αποκλίσεις. Η ακρίβεια κατά την εκπαίδευση ήταν 80%, και η ακρίβεια στη δοκιμή ήταν ελαφρώς βελτιωμένη, φτάνοντας το 77%. Παρόμοια, η ευαισθησία διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα (88% εκπαίδευση, 86% δοκιμή), ενώ η ειδικότητα βελτιώθηκε ελαφρώς στη δοκιμή (68%).

Ο **Bayesian ταξινομητής** με τη μέθοδο **leave one out** και την **exhaustive search** παρουσίασε ελαφρώς καλύτερα αποτελέσματα στην ακρίβεια συγκριτικά με τον ταξινομητή Ελάχιστης Απόστασης. Η ακρίβεια εκπαίδευσης έφτασε το 84%, με ακρίβεια δοκιμής 77%. Η ευαισθησία ήταν επίσης υψηλή (89% στην εκπαίδευση και 82% στη δοκιμή), με μικρή διακύμανση. Η ειδικότητα παρουσιάζεται πιο υψηλή και σταθερή σε σύγκριση με τον ταξινομητή ελάχιστης απόστασης καθώς έφτασε το 80% στην εκπαίδευση και το 73% στη δοκιμή.

Όταν εφαρμόστηκε η μέθοδος **k-fold cross validation** στον Bayesian ταξινομητή, παρατηρήθηκαν παρόμοια αποτελέσματα, με ακρίβεια εκπαίδευσης και δοκιμής 84% και 77% αντίστοιχα. Η ευαισθησία διατηρήθηκε σταθερή, με μικρές διακυμάνσεις (89% στην εκπαίδευση και 83% στη δοκιμή). Η ειδικότητα στη δοκιμή ήταν 71%, ελαφρώς μειωμένη σε σχέση με την εκπαίδευση (79%).

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι ταξινομητές που χρησιμοποιήθηκαν μπορούν να αποδώσουν καλά στη διάκριση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων όγκων, με τις διαφορές στις επιδόσεις να εξαρτώνται από τη μέθοδο εκπαίδευσης και τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν. Από τους δύο ταξινομητές φαίνεται ότι ο Bayesian ταξινομητής προσφέρει καλύτερη ισορροπία μεταξύ ακρίβειας, ευαισθησίας και ειδικότητας.

Μια ακόμη παρατήρηση από τα αποτελέσματα αφορά την απόδοση των δύο ταξινομητών όσον αφορά την ευαισθησία και την ειδικότητα. Και οι δύο ταξινομητές, τόσο ο Ελάχιστης Απόστασης όσο και ο Bayesian, εμφανίζουν υψηλή ευαισθησία, δηλαδή ικανότητα να εντοπίζουν σωστά τους όγκους με υψηλή κακοήθεια ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζουν εμφανώς χαμηλότερη ειδικότητα, δηλαδή δυσκολεύονται να αναγνωρίσουν τις περιπτώσεις της χαμηλής κακοήθειας. Συνεπώς απαιτείται επιπλέον δουλειά για τη βελτίωση της ειδικότητας, ώστε να υπάρχει πιο αξιόπιστος εντοπισμός και των όγκων χαμηλής κακοήθειας.

Από τα διαγράμματα παρατηρείται ότι ο ταξινομητής ελάχιστης απόστασης και με τις δύο μεθόδους εκπαίδευσης παρουσιάζει το φαινόμενο peaking στο συνδυασμό 7 χαρακτηριστικών με ακρίβεια 82.4% με τη μέθοδο leave one out (Διάγραμμα 1) και 82% με τη μέθοδο k fold cross validation (Διάγραμμα 2). Από την άλλη ο ταξινομητής Bayesian εμφανίζει το peaking μόνο με τη μέθοδο k fold cross validation για τους συνδυασμούς 7 και 10 χαρακτηριστικών με ακρίβεια 80.5% και 80.9% αντίστοιχα (Διάγραμμα 4). Σύμφωνα με το φαινόμενο peaking όσο ανεβαίνει ο συνδυασμός των χαρακτηριστικών, κάποια στιγμή φτάνει την μέγιστη απόδοση και μετά όσο αυξάνονται οι συνδυασμοί των χαρακτηριστικών η απόδοση μειώνεται [65]. Συνεπώς αυτό παρατηρείται στα διαγράμματα αν και λόγω περιορισμένου όγκου δεδομένων δεν γίνεται αντιληπτό στο διάγραμμα του ταξινομητή Bayesian με τη μέθοδο leave one out (Διάγραμμα 3).

Ένα σημαντικό ζήτημα που αναδείχθηκε είναι η τμηματοποίηση των πυρήνων. Κατά τη διάρκεια της έρευνας, διαπιστώθηκε ότι η διαδικασία αυτή επηρέασε τα τελικά αποτελέσματα, καθώς η ακριβής τμηματοποίηση είναι κρίσιμη για την εξαγωγή αξιόπιστων χαρακτηριστικών. Η αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος θα μπορούσε να βελτιώσει σημαντικά τις επιδόσεις των ταξινομητών.

Σε μελλοντική εργασία, θα πρέπει να δοθεί έμφαση στην περαιτέρω βελτίωση της τμηματοποίησης των πυρήνων. Η χρήση πιο εξελιγμένων τεχνικών τμηματοποίησης ή ο συνδυασμός διαφορετικών προσεγγίσεων καθώς και ο υπολογισμός περισσότερων χαρακτηριστικών υφής και αρχιτεκτονικής θα μπορούσε να συμβάλει στη μείωση των σφαλμάτων και στην ενίσχυση της ακρίβειας των ταξινομητών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] ‘Histology Image Collection Library’. Accessed: Oct. 21, 2024. [Online]. Available: <http://medisp.bme.teiath.gr/hicl/index.html>
- [2] Z. R. Pendić *et al.*, ‘The importance of biomedical engineers in the health system’, *Tehnika*, vol. 78, no. 2, pp. 231–236, 2023, doi: 10.5937/tehnika2302231P.
- [3] Y. Khan, P. Gupta, and V. Verma, ‘A Review-Biomedical Engineering-Present and Future Prospective’, pp. 202–206, Jan. 2013.
- [4] ‘Η Σημασία της Ψηφιακής Εικόνας στην Σύγχρονη Ιατρική | Ιατρικό Ναυπάκτου’. Accessed: Apr. 01, 2024. [Online]. Available: <https://iatrikonafs.gr/simasia-tis-psifiakis-eikonas.html>
- [5] J. Ferlay *et al.*, ‘Cancer statistics for the year 2020: An overview’, *International Journal of Cancer*, vol. 149, no. 4, pp. 778–789, 2021, doi: 10.1002/ijc.33588.
- [6] M. Pichaiavel *et al.*, ‘An Overview of Brain Tumor’, in *Brain Tumors*, IntechOpen, 2022. doi: 10.5772/intechopen.100806.
- [7] Δ. Γκλώτσος, ‘Development of new machine learning methods for medical image processing and analysis’, Πανεπιστήμιο Πατρών Σχολή Επιστημών Υγείας Τμήμα Ιατρικής, 2006. doi: 10.12681/eadd/18026.
- [8] D. B. Hovis and A. H. Heuer, ‘The use of laser scanning confocal microscopy (LSCM) in materials science’, *Journal of Microscopy*, vol. 240, no. 3, pp. 173–180, Dec. 2010, doi: 10.1111/j.1365-2818.2010.03399.x.
- [9] E. Meyer, S. P. Jarvis, and N. D. Spencer, ‘Scanning Probe Microscopy in Materials Science’, *MRS Bull.*, vol. 29, no. 7, pp. 443–448, Jul. 2004, doi: 10.1557/mrs2004.137.
- [10] J. D. Morris and C. K. Payne, ‘Microscopy and Cell Biology: New Methods and New Questions’, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 70, no. 1, pp. 199–218, Jun. 2019, doi: 10.1146/annurev-physchem-042018-052527.
- [11] G. Musumeci, ‘Past, present and future: overview on histology and histopathology’, *J Histol Histopathol*, vol. 1, no. 1, p. 5, 2014, doi: 10.7243/2055-091X-1-5.
- [12] D. Kapsokalyvas and M. A. M. J. Van Zandvoort, ‘Molecular Imaging in Oncology: Advanced Microscopy Techniques’, vol. 216, pp. 533–561, 2020, doi: 10.1007/978-3-030-42618-7_16.
- [13] J. G. Kushmerick and P. S. Weiss, ‘Scanning Probe Microscopes’, in *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Elsevier, 2017, pp. 7–14. doi: 10.1016/B978-0-12-803224-4.00274-0.
- [14] Y. Liu and J. Xu, ‘High-resolution microscopy for imaging cancer pathobiology’, *Curr Pathobiol Rep*, vol. 7, no. 3, pp. 85–96, 2019, doi: 10.1007/s40139-019-00201-w.
- [15] B. R. Masters, ‘History of the Optical Microscope in Cell Biology and Medicine’, in *Encyclopedia of Life Sciences*, 1st ed., Wiley, 2008. doi: 10.1002/9780470015902.a0003082.
- [16] A. J. M. Wollman, R. Nudd, E. G. Hedlund, and M. C. Leake, ‘From Animaculum to single molecules: 300 years of the light microscope’, *Open Biology*, vol. 5, no. 4, p. 150019, Apr. 2015, doi: 10.1098/rsob.150019.
- [17] Π. Κουδουνάς and P. Koudounas, ‘3-διάστατη απεικόνιση ιστολογικών δεδομένων στην οπτική μικροσκοπία διερχομένου φωτός’, Πανεπιστήμιο Δυτικής

- Αττικής, Σχολή Μηχανικών, Τμήμα Μηχανικών Βιοϊατρικής, 2023. doi: 10.12681/eadd/55201.
- [18] X. Chen, B. Zheng, and H. Liu, ‘Optical and Digital Microscopic Imaging Techniques and Applications in Pathology’, *Analytical Cellular Pathology*, vol. 34, no. 1–2, pp. 5–18, 2011, doi: 10.1155/2011/150563.
- [19] ‘Προσοφθάλμιος φακός’, *Βικιπαίδεια*. Feb. 04, 2024. Accessed: Apr. 01, 2024. [Online]. Available: https://el.wikipedia.org/w/index.php?title=%CE%A0%CF%81%CE%BF%CF%83%CE%BF%CF%86%CE%B8%CE%AC%CE%BB%CE%BC%CE%B9%CE%BF%CF%82_%CF%86%CE%B1%CE%BA%CF%8C%CF%82&oldid=10414940
- [20] ‘Αντικειμενικοί φακοί | 1X - 100X φακοί μικροσκοπίου’. Accessed: Apr. 05, 2024. [Online]. Available: <https://wavelength-oe.com/el/imaging-optics/objective-lenses/>
- [21] M. Abramowitz, K. R. Spring, H. E. Keller, and M. W. Davidson, ‘Basic Principles of Microscope Objectives’, *BioTechniques*, vol. 33, no. 4, pp. 772–781, Oct. 2002, doi: 10.2144/02334bi01.
- [22] ‘Anatomy of the Microscope - Mechanical Tube Length | Olympus LS’. Accessed: Apr. 05, 2024. [Online]. Available: <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/anatomy/tubelength/>
- [23] ‘ptuxiakh2.pdf’. Accessed: Apr. 01, 2024. [Online]. Available: <https://ikee.lib.auth.gr/record/114361/files/ptuxiakh2.pdf>
- [24] ‘Anatomy of a Microscope - Substage Condensers | Olympus LS’. Accessed: Apr. 05, 2024. [Online]. Available: <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/anatomy/condensers/>
- [25] M. Davidson and M. Abramowitz, ‘Optical Microscopy’, 2002. doi: 10.1002/0471443395.img074.
- [26] ‘14-15-microscopy.pdf’. Accessed: Apr. 02, 2024. [Online]. Available: <https://practicebiology.files.wordpress.com/2018/03/14-15-microscopy.pdf>
- [27] ‘Introduction to Dark-Field Microscopy’, Motic Microscopes. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://moticroscopes.com/blogs/articles/introduction-to-dark-field-microscopy>
- [28] A. D. Grand, ‘What Is Darkfield Microscopy?’ Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://www.olympus-lifescience.com/en/discovery/what-is-darkfield-microscopy/>
- [29] ‘Fluorescence microscope’, *Wikipedia*. Feb. 28, 2024. Accessed: Apr. 02, 2024. [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Fluorescence_microscope&oldid=1210833910
- [30] P. Dahal, ‘16 Types of Microscopes with Parts, Functions, Diagrams’. Accessed: Mar. 12, 2024. [Online]. Available: <https://microbenotes.com/types-of-microscopes/>
- [31] M. J. Sanderson, I. Smith, I. Parker, and M. D. Bootman, ‘Fluorescence Microscopy’, *Cold Spring Harb Protoc*, vol. 2014, no. 10, p. pdb.top071795, Oct. 2014, doi: 10.1101/pdb.top071795.
- [32] ‘What is Electron Microscopy?’, UMass Chan Medical School. Accessed: Apr. 02, 2024. [Online]. Available: <https://www.umassmed.edu/cemf/whatisem/>
- [33] ‘00. Electron_Microscopy_Notes_VBinas2.pdf’. Accessed: Mar. 12, 2024. [Online]. Available:

- https://opencourses.uoc.gr/courses/pluginfile.php/16127/mod_resource/content/1/00.%20Electron_Microscopy_Notes_VBinas2.pdf
- [34] H. A. Alturkistani, F. M. Tashkandi, and Z. M. Mohammedsaleh, ‘Histological Stains: A Literature Review and Case Study’, *GJHS*, vol. 8, no. 3, p. 72, Jun. 2015, doi: 10.5539/gjhs.v8n3p72.
- [35] ‘What Is Cancer? - NCI’. Accessed: Mar. 31, 2024. [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- [36] G. M. Cooper, ‘The Development and Causes of Cancer’, in *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition*, Sinauer Associates, 2000. Accessed: Mar. 31, 2024. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>
- [37] ‘Types of cancer’, Cancer Research UK. Accessed: Apr. 01, 2024. [Online]. Available: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer>
- [38] M. B. & Spine, ‘Brain tumor diagnosis and treatment options | Cincinnati, OH Mayfield Brain & Spine’. Accessed: Apr. 06, 2024. [Online]. Available: <https://mayfieldclinic.com/pe-braintumor.htm>
- [39] ‘What Causes Brain Tumors? | Causes of Brain Cancer’. Accessed: Apr. 06, 2024. [Online]. Available: <https://www.cancer.org/cancer/types/brain-spinal-cord-tumors-adults/causes-risks-prevention/what-causes.html>
- [40] ‘Brain Cancer Causes & Risk Factors’, moffitt. Accessed: Apr. 06, 2024. [Online]. Available: <https://www.moffitt.org/cancers/brain-cancer/diagnosis/risk-factors/>
- [41] ‘Brain tumor - Symptoms and causes’, Mayo Clinic. Accessed: Apr. 07, 2024. [Online]. Available: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/brain-tumor/symptoms-causes/syc-20350084>
- [42] ‘Brain Tumors and Brain Cancer’. Accessed: Apr. 07, 2024. [Online]. Available: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/brain-tumor>
- [43] ‘Brain Tumors - Classifications, Symptoms, Diagnosis and Treatments’. Accessed: Apr. 09, 2024. [Online]. Available: <https://www.aans.org/>
- [44] ‘Νευρογλοιακά κύτταρα’, *Βικιπαίδεια*. Nov. 13, 2023. Accessed: Apr. 09, 2024. [Online]. Available: https://el.wikipedia.org/w/index.php?title=%CE%9D%CE%B5%CF%85%CF%81%CE%BF%CE%B3%CE%BB%CE%BF%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AC_%CE%BA%CF%8D%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%B1&oldid=10289148
- [45] ‘Astrocytoma | UCSF Brain Tumor Center’. Accessed: Apr. 09, 2024. [Online]. Available: <https://braintumorcenter.ucsf.edu/condition/astrocytoma>
- [46] ‘Low grade brain tumours’, The Brain Tumour Charity. Accessed: Sep. 21, 2024. [Online]. Available: <https://www.thebraintumourcharity.org/brain-tumour-diagnosis-treatment/how-brain-tumours-are-diagnosed/how-brain-tumours-are-graded/low-grade-brain-tumours/>
- [47] V. P. Collins, ‘Brain tumours: classification and genes’, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, vol. 75, no. suppl 2, pp. ii2–ii11, Jun. 2004, doi: 10.1136/jnnp.2004.040337.
- [48] ‘Glioma | Brain Tumour Types’, Brain Tumour Research. Accessed: Sep. 21, 2024. [Online]. Available: <https://braintumourresearch.org/pages/types-of-brain-tumours-glioma>
- [49] ‘Surgery For Brain Tumour | Brain Tumour Operation’, Brain Tumour Research. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available:

<https://braintumourresearch.org/blogs/types-of-brain-tumour/surgery-for-brain-tumours>

- [50] ‘BSF_Brain-Tumour-A5-booklet.pdf’. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: https://www.brainandspine.org.uk/wp-content/uploads/2022/10/BSF_Brain-Tumour-A5-booklet.pdf
- [51] ‘Radiotherapy for brain tumours’, Brain Tumour Research. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://braintumourresearch.org/blogs/types-of-brain-tumour/radiotherapy-for-brain-tumours>
- [52] ‘Chemotherapy for brain tumours’, Brain Tumour Research. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://braintumourresearch.org/blogs/types-of-brain-tumour/chemotherapy-for-brain-tumours-c>
- [53] ‘Advances in Brain and Spinal Cord Tumor Research - NCI’. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/types/brain/research>
- [54] R. T. Sutton, D. Pincock, D. C. Baumgart, D. C. Sadowski, R. N. Fedorak, and K. I. Kroeker, ‘An overview of clinical decision support systems: benefits, risks, and strategies for success’, *npj Digit. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–10, Feb. 2020, doi: 10.1038/s41746-020-0221-y.
- [55] A. T. M. Wasylewicz and A. M. J. W. Scheepers-Hoeks, ‘Clinical Decision Support Systems’, in *Fundamentals of Clinical Data Science*, P. Kubben, M. Dumontier, and A. Dekker, Eds., Cham (CH): Springer, 2019. Accessed: Aug. 27, 2024. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543516/>
- [56] A. Kumar and S. S. Sodhi, ‘Comparative Analysis of Gaussian Filter, Median Filter and Denoise Autoencoder’, in *2020 7th International Conference on Computing for Sustainable Global Development (INDIACom)*, Mar. 2020, pp. 45–51. doi: 10.23919/INDIACom49435.2020.9083712.
- [57] K. Zuiderveld, ‘Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization’, Elsevier, 1994, pp. 474–485. doi: 10.1016/B978-0-12-336156-1.50061-6.
- [58] Δ. Γκλώτσος, ‘Γκλώτσος Δημήτρης (2024), “ Μηχανική Μάθηση”, Σημειώσεις Μαθήματος.’ Feb. 2024.
- [59] D. Glotsos *et al.*, ‘Improving accuracy in astrocytomas grading by integrating a robust least squares mapping driven support vector machine classifier into a two level grade classification scheme’, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 90, no. 3, pp. 251–261, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.cmpb.2008.01.006.
- [60] L. Jose *et al.*, ‘Artificial Intelligence–Assisted Classification of Gliomas Using Whole Slide Images’, *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 147, no. 8, pp. 916–924, Aug. 2023, doi: 10.5858/arpa.2021-0518-OA.
- [61] S. Shanthi, S. Saradha, J. A. Smitha, N. Prasath, and H. Anandakumar, ‘An efficient automatic brain tumor classification using optimized hybrid deep neural network’, *International Journal of Intelligent Networks*, vol. 3, pp. 188–196, 2022, doi: 10.1016/j.ijin.2022.11.003.
- [62] J. Ker, Y. Bai, H. Y. Lee, J. Rao, and L. Wang, ‘Automated brain histology classification using machine learning’, *Journal of Clinical Neuroscience*, vol. 66, pp. 239–245, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.jocn.2019.05.019.
- [63] N. V. Chavan, ‘Detection and Classification of Brain Tumors’, *International Journal of Computer Applications*, vol. 112, no. 8.
- [64] S. Kostopoulos *et al.*, ‘Assessing the performance of four different categories of histological criteria in brain tumours grading by means of a computer-aided diagnosis image analysis system’, *Journal of Microscopy*, vol. 260, no. 1, pp. 37–46, Oct. 2015, doi: 10.1111/jmi.12264.

- [65] C. Sima and E. R. Dougherty, ‘The peaking phenomenon in the presence of feature-selection’, *Pattern Recognition Letters*, vol. 29, no. 11, pp. 1667–1674, Aug. 2008, doi: 10.1016/j.patrec.2008.04.010.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΕ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ