



การพัฒนาระบบการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมด้วยคอมพิวเตอร์

**Development of a Computer-aided System for
Classification of a Chromosome Image**

สุนทร รุ่งเรืองไพบยอก

Sunthorn Rungruangbaiyok

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Engineering in Electrical Engineering

Prince of Songkla University

2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาระบบการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมด้วยคอมพิวเตอร์
ผู้เขียน นายสุนทร รุ่งเรืองไพบย
สาขาวิชา วิศวกรรมไฟฟ้า

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรชัย พลฤกษ์ภัทรานนต์)

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.มนตรี กาญจนเดชะ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรชัย พลฤกษ์ภัทรานนต์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ บุญเจริญ วงศ์กิตติศึกษา)

.....กรรมการ
(ดร.ฉัตรชัย สุขพิทักษ์สกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาระบบการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมด้วยคอมพิวเตอร์
ผู้เขียน	นายสุนทร รุ่งเรืองไพบย
สาขาวิชา	วิศวกรรมไฟฟ้า
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้นำเสนอการพัฒนาโปรแกรมต้นแบบของระบบการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมด้วยคอมพิวเตอร์ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ การประมวลผลภาพเบื้องต้น, การแยกภาพออกเป็นส่วนๆ, การเลือกลักษณะเด่นและการจัดกลุ่มภาพ ขั้นตอนการประมวลผลภาพเบื้องต้นเป็นขั้นตอนแรก โดยปรับแต่งภาพให้เหมาะสมเพื่อเตรียมไว้สำหรับขั้นตอนแยกภาพเป็นส่วนๆ ขั้นตอนแยกภาพเป็นส่วนๆจะแยกข้อมูลภาพที่ต้องการออกจากพื้นหลังเพื่อหาลักษณะเด่นของภาพแต่ละภาพ ลักษณะเด่นที่ใช้ในโครงข่ายประสาทเทียมนี้มี 5 ประเภท คือพื้นที่ภาพโครโมโซม, พื้นที่ของแถบลายโครโมโซม, ความยาวเส้นรอบรูป, ค่าสูงสุดของ Singular value จากวิธี Singular value decomposition (SVD), และ Band profile โดยจำนวนการชักตัวอย่างของ Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง ขั้นตอนสุดท้ายเป็นการจัดกลุ่มภาพ โดยขั้นตอนนี้จะแบ่งการจัดกลุ่มภาพออกเป็น 2 ชั้น โดยที่ชั้นแรกแยกภาพโครโมโซมออกเป็น 6 กลุ่มและหลังจากนั้นจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของแต่ละกลุ่มทั้ง 6 กลุ่มออกเป็นโครโมโซม 22 คู่และโครโมโซมเพศ 1 คู่ รวมทั้งหมด 23 ประเภท (เพศหญิง) หรือ 24 ประเภท (เพศชาย) ผลการทดลองประสิทธิภาพพบว่าจำนวนการชักตัวอย่างที่ให้ประสิทธิภาพที่ดี คือ 30 หรือ 50 และเมื่อชักตัวอย่างที่ 30 หรือ 50 ตัวอย่าง กลุ่มที่มีประสิทธิภาพดี คือโครโมโซมคู่ที่ 1, 2 และ 13 ถึง 18, และกลุ่มที่มีประสิทธิภาพดีพอใช้ คือโครโมโซมคู่ที่ 3 ถึง 12 และโครโมโซม X, และกลุ่มที่มีประสิทธิภาพต่ำสุด คือโครโมโซมคู่ที่ 19 ถึง 22 และโครโมโซม Y เมื่อเปรียบเทียบการชักตัวอย่างที่ 30 หรือ 50 ตัวอย่างโดยพิจารณาแต่ละกลุ่มทั้ง 6 กลุ่ม พบว่าควรชักตัวอย่างที่ 50 ตัวอย่างเมื่อใช้กับภาพโครโมโซมคู่ที่ 1 ถึง 2 และชักตัวอย่างที่ 30 ตัวอย่างเมื่อใช้กับภาพโครโมโซมคู่ที่ 3 ถึง 12 และโครโมโซม X ส่วนคู่ที่ที่เหลือยังไม่สามารถระบุชัดเจนว่าควรชักตัวอย่างที่ 30 หรือ 50 ตัวอย่าง

คำสำคัญ ภาพโครโมโซม, โครงข่ายประสาทเทียม

Thesis Title	Development of a computer-aided system for classification of a chromosome image
Author	Mr.Sunthorn Rungruangbaiyok
Major Program	Electrical Engineering
Academic Year	2009

ABSTRACT

A prototype of a computer-aided system for chromosome image classification has been developed. The procedure consists of four steps. There are image preprocessing, image segmentation, feature extraction, and image classification. Image preprocessing is the first step. It enhances the images for preparation to be used in image segmentation. Image segmentation separates the interesting object from the background. Features used in this algorithm are chromosome area, band area, perimeter, maximum of singular value from singular value decomposition method (SVD), and band profile. Band profile was sampled at 10, 30, 50 and 80. The last step is image classification. This algorithm divides classification method into two steps. The first step classified chromosome images into six groups. The second step classified chromosome images in each group to one of twenty three classes (female) or twenty four classes (male). Preliminary results show that efficiency is good when band profile is sampled at 30 or 50. This efficiency is high at chromosome class number 1, 2 and 13 to 18, and efficiency is moderate at chromosome class number 3 to 12 and sex chromosome X, but efficiency is pretty low at chromosome class number 19 to 22 and sex chromosome Y. Comparisons between band profiles sampled at 30 and 50 show that chromosome class number 1 and 2 should sampled at 50, and chromosome class number 3 to 12 should sampled at 30, but the others can not be determined which one is better.

Keywords: chromosome image, neural network

กิตติกรรมประกาศ

ขอแสดงคำขอบพระคุณ ผศ.ดร. พรชัย พุกภัยภัทรานนท์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา งานวิจัย ที่ได้กรุณาให้การสนับสนุนและฝึกฝนการทำวิจัย กรุณาอุทิศเวลาให้คำปรึกษา แนะนำ ความรู้ในด้านการทำวิจัย เอกสาร ข้อมูลต่างๆเป็นอย่างดี รวมทั้งขัดเกลากระบวนการคิดและให้ คำลั้งใจในการแก้ปัญหาตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. สุระพล เขียวมนตรี และ ผศ. คณดิถ เจษฎ์พัฒนานนท์ กรรมการ สอบโครงร่างและกรรมการสอบความก้าวหน้างานวิจัยที่ได้กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อ การทำงานวิจัยเสมอมา และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร. นัทรชัย สุภพิทักษ์สกุล, รศ. บุญเจริญ วงศ์กิตติศึกษา และรศ.ดร. มนตรี กาญจนะเดชะ ที่ได้กรุณาอุทิศเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำที่มี ประโยชน์ วิจารณ์ผลงาน และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. เลียง คุบุรัตน์ และ ผศ. สาวิตร ดัฒนุชที่ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ วิจารณ์ผลงาน ระหว่างการทำวิทยานิพนธ์เพื่อให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณจริยา ข่ายม่าน หน่วยพันธุศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลและภาพการไอโทปสำหรับการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ ทุนการศึกษาแก่ข้าพเจ้าระหว่างการศึกษา

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์และบุคลากรในภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้าทุกท่าน ที่ให้ความ ช่วยเหลือในด้านต่างๆมาโดยตลอด จนกระทั่งงานสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ให้ ความช่วยเหลือด้านการประสานงานต่าง ๆ

ขอขอบคุณ พี่ๆ และเพื่อน ๆ รวมทั้งน้องๆ นักศึกษามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอโน้มรำลึกถึงพระคุณของบิดามารดาและครอบครัว ที่ส่งเสริม สนับสนุน ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจที่ดีเยี่ยม และทุนทรัพย์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา จนกระทั่งทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จ

สุนทร รุ่งเรืองใบหยก

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(8)
รายการภาพประกอบ	(9)
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.4 ขอบเขตการวิจัย	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.6 ขั้นตอนการวิจัย	4
2. ทฤษฎีและหลักการ	5
2.1 โครโมโซม	5
2.2 ภาพดิจิทัล	13
2.3 การวิเคราะห์ภาพ	16
3. อุปกรณ์และวิธีการ	26
3.1 ภาพดิจิทัล	26
3.2 การทดลอง	26
3.3 การทดสอบประสิทธิภาพ	31
4. ผลการวิจัย	33
4.1 ผลของการประมวลผลภาพเบื้องต้น	33
4.2 ผลของการแยกภาพเป็นส่วนๆ	34
4.3 ผลของการเลือกลักษณะเด่น	34
4.3 ผลของการจัดกลุ่มภาพ	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	45
5.1 บทสรุป	45
5.2 ข้อเสนอแนะ	48
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก	53
ภาคผนวก ก Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม	54
ภาคผนวก ข แผนภาพแถบลายโครโมโซม	63
ประวัติผู้เขียน	88

รายการตารางประกอบ

ตารางประกอบ	หน้า
2-1 การแบ่งกลุ่มโครโมโซมตามโครงสร้างขนาดและตำแหน่งเซนโทรเมียร์	6
2-2 ตารางเปรียบเทียบเพื่อหาพื้นที่ของภาพขาวดำ	19
3-1 ลักษณะเด่นที่ใช้ของแต่ละClassifier	30
3-2 ตารางแสดงค่า numgroup ของแต่ละกลุ่มทั้งชายและหญิง	32
4-1 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม	41
4-2 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมในชั้นที่2	42
4-3 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพในชั้นที่2 เมื่อชักตัวอย่างBand profile ที่ 30	43
4-4 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพในชั้นที่2 เมื่อชักตัวอย่างBand profile ที่ 50	43
ก-1 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศชาย เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 10	55
ก-2 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิง เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 10	56
ก-3 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศชาย เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 30	57
ก-4 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิง เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 30	58
ก-5 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศชาย เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 50	59
ก-6 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิง เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 50	60
ก-7 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศชาย เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 80	61
ก-8 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิง เมื่อชักตัวอย่างDensity profile ที่ 80	62

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
2-1 ภาพโครโมโซมของเพศชาย	8
2-2 ภาพโครโมโซมของเพศหญิง	8
2-3 โครงสร้างของโครโมโซม	9
2-4 แผนผังแถบลายโครโมโซมคู่ที่ 1 ในช่วงระยะ 400, 550 และ 850 แแถบ	10
2-5 ภาพโครโมโซมก่อนการทำคาริโอไทป์	11
2-6 ภาพโครโมโซมหลังการทำคาริโอไทป์	11
2-7 ภาพคาริโอไทป์ที่พบความผิดปกติเชิงจำนวน	12
2-8 ภาพคาริโอไทป์ที่พบความผิดปกติเชิงโครงสร้าง	12
2-9 ภาพดิจิทัลในพิกัด (x, y)	14
2-10 ตัวอย่างภาพระดับเทาและค่าของพิกเซล(Normalized value)	14
2-11 ตัวอย่างภาพระดับเทาและค่าของพิกเซล	15
2-12 ตัวอย่างภาพสี RGB และค่าของพิกเซล	15
2-13 กระบวนการวิเคราะห์ภาพ	17
2-14 การใช้ตัวกรองแบบเฉลี่ย	17
2-15 ฮิสโตแกรมของภาพและค่าขีดแบ่ง	18
2-16 ตัวอย่างการคำนวณหาพื้นที่ของวัตถุ	19
2-17 ตัวอย่างการคำนวณหาความยาวเส้นรอบรูปของวัตถุ	20
2-18 ภาพโครโมโซมที่เส้นกลางหายไป (เริ่มเข้าสู่ระยะแยกตัว)	21
2-19 ลักษณะของภาพโครโมโซมที่ต่างกันจึงควรปรับข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบเดียวกัน	22
2-20 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียม 1 เซลล์	23
2-21 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น	23
2-22 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมแบบ Probabilistic neural network	25
2-23 Radial basis transfer function	25
2-24 Competitive transfer function	25

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
3-1 กระบวนการทำงานของการวิเคราะห์ภาพ	26
3-2 แผนภาพการทำงานของโปรแกรม	29
3-3 แผนภาพการจัดกลุ่มภาพแบบ 2 ชั้น	30
4-1 การจัดภาพให้อยู่รูปแบบเดียวกัน	33
4-2 ตัวอย่างการแยกภาพเป็นส่วนๆ	34
4-3 ข้อมูลสถิติของพื้นที่ภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง	35
4-4 ข้อมูลสถิติของพื้นที่แถบลายภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง	36
4-5 ข้อมูลสถิติของความยาวเส้นรอบรูปภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง	37
4-6 ข้อมูลสถิติของค่าสูงสุดของ Singular value ของภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง	38
4-7 Density profile และ Band profile ของโครโมโซมคู่ที่ 1	39
4-8 การชักตัวอย่าง Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง	40
4-9 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมโดยแจกแจงเป็น 6 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบการชักตัวอย่างจาก Band profile จำนวน 30 และ 50 ตัวอย่าง ทั้งเพศชายและหญิง	44
5-1 Density profile และ Band profile ของโครโมโซมคู่ที่ 19	46
5-2 การชักตัวอย่าง Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง	47
5-3 ตัวอย่างภาพโครโมโซมคู่ที่ 19, 20, 21, 22 และโครโมโซม Y	47
5-4 ตัวอย่างการชักตัวอย่าง Band profile ที่ 50 ตัวอย่าง ของโครโมโซมคู่ที่ 19, 20, 21, 22 และโครโมโซม Y	48

บทที่ 1

บทนำ

ในบทนี้กล่าวถึงความสำคัญและที่มาของการวิจัย งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง วัตถุประสงค์ของการวิจัย ขอบเขตการวิจัย ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และขั้นตอนการวิจัย ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

ตั้งแต่มีการค้นพบว่าปกติมนุษย์มีโครโมโซมทั้งหมด 46 แท่งหรือ 23 คู่ [1] เป็นออโตโซม โครโมโซม (Autosome chromosome) 22 คู่ และโครโมโซมเพศ (Sex chromosome) 1 คู่ เพศหญิงมีโครโมโซมเพศเป็น XX และเพศชายมีโครโมโซมเพศเป็น XY โครโมโซมเป็นสารพันธุกรรมในร่างกายซึ่งเป็นต้นแบบในการสร้างสายโปรตีนเพื่อเป็นตัวกำหนดคุณลักษณะต่างๆ และควบคุมการทำงานของร่างกาย โครโมโซมอยู่ในเซลล์ทุกเซลล์ของร่างกายและภาพโครโมโซมที่ใช้วิเคราะห์ได้จากเซลล์ต่างๆ เช่น เลือด ไชกระดูก เซลล์น้ำคร่ำที่ใช้ตรวจทารกก่อนคลอด ยกเว้นเซลล์เม็ดเลือดแดง หากจำนวนหรือโครงสร้างโครโมโซมมีความผิดปกติอาจเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคต่างๆได้ ดังนั้นการวิเคราะห์ภาพโครโมโซมจึงเป็นกระบวนการสำคัญที่ช่วยให้แพทย์หรือนักวิจัยสามารถตรวจและวินิจฉัยโรคที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม [2], โรคเมเร็งชนิดต่างๆ [3, 4], และโรคที่มีความผิดปกติอื่นๆ [5]

กระบวนการทำคาริโอไทป์ (Karyotype procedure) เป็นกระบวนการพื้นฐานที่นิยมใช้วิเคราะห์และจัดกลุ่มภาพโครโมโซม โดยใช้ภาพโครโมโซมช่วงระยะเมตาเฟส [6] โดยกำหนดหมายเลขและจัดเรียงภาพโครโมโซมตามประเภทของกลุ่มโครโมโซมทั้ง 24 ประเภท ตามขนาดและโครงสร้างของโครโมโซม [7] การทำคาริโอไทป์เป็นงานที่ใช้แรงงาน ใช้ความชำนาญและใช้เวลาเป็นอย่างมาก [8] ดังนั้นจึงมีการพัฒนาระบบคอมพิวเตอร์เพื่อช่วยวิเคราะห์และจัดกลุ่มภาพโครโมโซม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดเวลาการทำงาน

ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อช่วยวิเคราะห์และจัดกลุ่มภาพโครโมโซมจึงมีการพัฒนาขึ้นมาซึ่งก็มีหลายวิธี เช่น การใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบต่างๆ (Perceptron neuron network, Back propagation neural network, Probabilistic neural network) [9, 10, 11], ตรรกศาสตร์วิภันัย (Fuzzy logic) และเทมเพลตแมชชีน (Template matching) [12]

โครงข่ายประสาทเทียมได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้จัดกลุ่มภาพโครโมโซมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดเวลาของการประมวลผล [8] เช่น การลดขนาดของโครงข่ายประสาทเทียมโดยเปลี่ยนเอาต์พุตของโครงข่ายประสาทเทียมจาก 24 เป็น 5 โดยใช้เทคนิคการแปลงเลขฐานสอง [9] หรือการแบ่งชั้นตอนของการจัดกลุ่มภาพออกเป็นสองส่วนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการจัดกลุ่ม โดยขั้นตอนแรกแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มย่อย และแบ่งภาพโครโมโซมแต่ละกลุ่มอีกครั้งเพื่อให้เป็น 24 ประเภทในขั้นตอนที่ 2 [10]

ถึงแม้ว่าระบบคอมพิวเตอร์ช่วยเหลือมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่ก็ยังคงต้องให้ผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง แต่อย่างน้อยก็ลดภาระงานและระยะเวลาของผู้ทำคริโอไทป์

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

X. Wang, et al., “Development and evaluation of automated systems for detection and classification of banded chromosomes”, *current status and future perspectives, Journal of physics D: Applied physics*, 2005. pp. 2536-2542. [8]

บทความนี้กล่าวถึงกระบวนการต่างๆของวิธีพัฒนาจัดกลุ่มภาพโครโมโซมแบบอัตโนมัติ ตั้งแต่ขั้นตอนพื้นฐาน กระบวนการปรับปรุงภาพโครโมโซม การแยกภาพโครโมโซมที่มีลักษณะซ้อนทับกัน การเลือกลักษณะเด่นของภาพโครโมโซม จนถึงกระบวนการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม ซึ่งแต่ละขั้นตอนได้แนะนำว่าได้มีการใช้วิธีใดบ้างในการพัฒนา และในบทสรุปได้มีการแนะนำถึงขั้นตอนต่างๆที่ควรแก้ไขเพื่อให้ได้ระบบการจัดกลุ่มแบบอัตโนมัติที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น

S. Delshadpour, “Reduced size multilayer perceptron neural network for human chromosome classification” *Proceedings of the 25th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Cancun, Mexico, September 17-21, 2003. pp. 2249-2252. [9]

บทความนี้กล่าวถึงการลดจำนวนเอาต์พุตของโครงข่ายประสาทเทียม ซึ่งเป็นการลดขนาดโครงข่ายประสาทเทียม โดยปกติเอาต์พุตของโครงข่ายจะมีค่าเท่ากับ 24 เนื่องจากโครโมโซมมีทั้งหมด 24 รูปแบบ โดยจะลดจำนวนเอาต์พุตโครงข่ายลงเหลือเท่ากับ 5 เพราะเมื่อถอดรหัสของเลขฐานสองจำนวน 5 บิต เป็นเลขฐานสิบซึ่งค่าที่ได้มากกว่ารูปแบบของโครโมโซมที่กำหนดไว้ และได้เพิ่มค่าจัดแบ่ง เพื่อปรับค่าเอาต์พุตให้เป็นศูนย์และหนึ่ง และใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเปอร์เซพตรอนหลายชั้นหลายๆแบบ เพื่อหาโครงข่ายที่เหมาะสมที่สุด โดยลักษณะเด่นที่ใช้ คือ

พื้นที่ภาพโครโมโซม ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ และแถบปลายของโครโมโซม รวมลักษณะเด่นทั้งหมด จำนวน 30 ลักษณะเด่น

J. Cho, Y. S. Ryu, and H. S. Woo, "A study for the hierarchical artificial neural network model for giemsa stained human chromosome classification", *Proceedings of the 26th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, San Francisco, CA, U.S.A., September 1-5, 2004, 2004. pp. 4588-4591. [10]

บทความนี้กล่าวถึงการใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่กลับเพื่อจัดกลุ่มภาพโครโมโซม โดยนำเสนอวิธีการจัดกลุ่ม 2 ชั้น โดยชั้นแรกแบ่งภาพโครโมโซมออกเป็น 7 กลุ่มก่อนที่จะจัดเป็น 24 กลุ่ม โดยใช้ลักษณะเด่นคือ ความยาวของโครโมโซม พื้นที่ของโครโมโซม centromeric index และ density profile โดยใช้ density profile 80 ค่า ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพดีขึ้น

P. W. Sweeney Jr., T. M. Musavi, and N. J. Guidi, "Classification of chromosomes using a probabilistic neural network", *Cytometry* 16, 1994. pp. 17-24. [11]

บทความนี้กล่าวถึงการใช้โครงข่ายประสาทเทียมชนิด probabilistic neural network ในการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม ซึ่งจากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพได้ผลดีกว่าวิธี maximum likelihood และโครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่กลับ โดยลักษณะเด่นที่ใช้คือ พื้นที่ของโครโมโซม ความยาวเส้นรอบรูปและอื่นๆรวมทั้งหมด 30 ลักษณะเด่น

A. M. BUDAWI, "Chromosomes classification based on neural networks, fuzzy rule based and template matching classifiers" *IEEE*, 2004. pp 383-387. [12]

บทความนี้กล่าวถึงการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียม ตรีรกศาสตร์ วิกซ์นัย และเทมเพลตแมชชีน เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพ โดยลักษณะเด่นที่ใช้คือ พื้นที่และความยาวของโครโมโซม เซนโทรเมียร์ จำนวนและความหนาของแถบปลาย โดยใช้ภาพโครโมโซม 20 ภาพ พบว่าวิธีเทมเพลตแมชชีน เป็นวิธีที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุด

จากตัวอย่างบทความข้างต้นพบว่าการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมโดยการใช้โครงข่ายประสาทเทียมเป็นที่นิยม และลักษณะเด่นที่ใช้คือพื้นที่ภาพโครโมโซมและแถบปลายของโครโมโซม

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาต้นแบบซอฟต์แวร์ช่วยวิเคราะห์และจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ออกแบบและพัฒนาต้นแบบโปรแกรมเพื่อการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมจากภาพโครโมโซมที่ผ่านการตัดแยกภาพโครโมโซมที่ซ้อนทับกันแล้วแบบกึ่งอัตโนมัติ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ต้นแบบระบบคอมพิวเตอร์ช่วยวิเคราะห์และจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

1.5.2 เพิ่มความสะดวกและลดค่าใช้จ่ายในการซื้อซอฟต์แวร์ราคาแพง

1.6 ขั้นตอนการวิจัย

1.6.1 ศึกษาระเบียบวิธีการประมวลผลภาพดิจิทัล

1.6.2 พัฒนาโปรแกรมวิธีการประมวลผลภาพเบื้องต้น

1.6.3 พัฒนาโปรแกรมวิธีการแยกภาพออกเป็นส่วนๆ

1.6.4 พัฒนาโปรแกรมวิธีการหาลักษณะเด่นของภาพโครโมโซม

1.6.5 พัฒนาโปรแกรมวิธีการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

1.6.6 ทดสอบและปรับปรุงโปรแกรม

1.6.7 สรุปผลการทดสอบและเขียนรายงาน

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

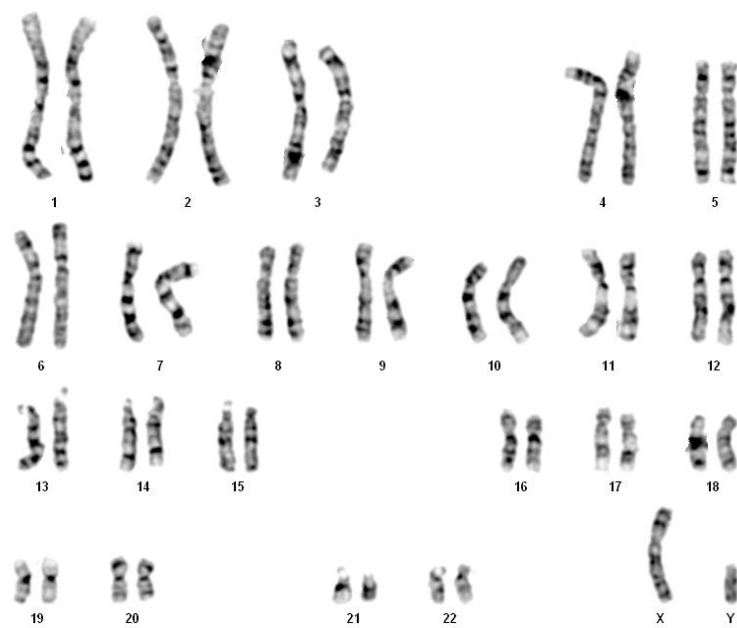
ในบทนี้กล่าวถึงทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับระบบการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมสำหรับงานวิจัย ซึ่งมี 3 หัวข้อ ได้แก่ โครโมโซม ภาพดิจิทัล และการวิเคราะห์ภาพ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.1 โครโมโซม

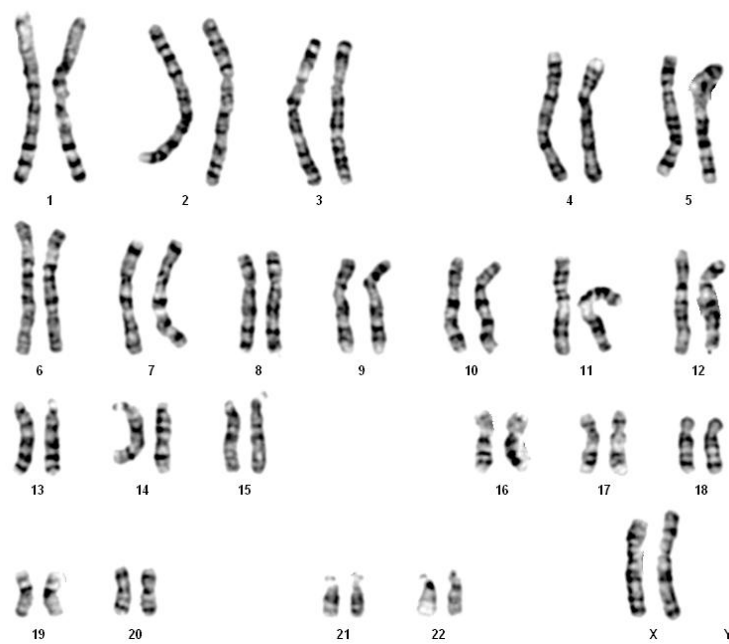
โครโมโซม คือ สารพันธุกรรมในร่างกายมนุษย์ เป็นต้นแบบในการสร้างสายโปรตีน เพื่อเป็นตัวกำหนดลักษณะต่างๆ และควบคุมการทำงานของร่างกาย โครโมโซมอยู่ในเซลล์ทุกเซลล์ของร่างกาย ยกเว้น เซลล์เม็ดเลือดแดง แต่ละเซลล์จะมีโครโมโซมอยู่ทั้งหมด 23 คู่ หรือ 46 แท่ง เป็นออโตโซม (Autosome) 22 คู่ และโครโมโซมเพศ (Sex chromosome) 1 คู่ เพศชายมีโครโมโซมเพศเป็น XY และหญิงเป็น XX ดังภาพประกอบ 2-1 และภาพประกอบ 2-2 โครโมโซมสามารถตรวจได้จากเซลล์ที่มีชีวิตชนิดต่างๆ เช่น จากเลือด ไก่กระดูก ชี้นเนื่องจากทารกที่แท้ง หรือ เซลล์น้ำคร่ำซึ่งใช้ตรวจทารกก่อนคลอด โครโมโซมจะมีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยดีเอ็นเอ (DNA (double helix)) สายดีเอ็นเอจะพันรอบฮิสโตนโปรตีน (Histones) และสายดีเอ็นเอที่พันรอบรวมกันว่านิวคลีโอโซม (Nucleosome) นิวคลีโอโซมแต่ละกลุ่มจะเชื่อมต่อกันด้วยสายดีเอ็นเอสั้นๆจนมีลักษณะเหมือนสร้อยไข่มุก แล้วขดซ้อนกันเป็นเกลียว เรียกว่า Solenoid แล้ว Solenoid ขดซ้อนกันอีกเป็นเกลียวและขดทับกันเป็นเส้นโครมาติด [13] ดังภาพประกอบ 2-3

โครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างตามวัฏจักรของเซลล์ โดยในระยะอินเตอเฟส (Interphase) โครโมโซมมีลักษณะยี่ดียวอยู่ในนิวเคลียส และมีเพียง 1 โครมาติด (Chromatid) โครโมโซมจะจำลองตัวเอง (Replication) เพิ่มขึ้นอีก 1 โครมาติด ซึ่งเกิดขึ้นในระยะ Synthetic phase (S) ของอินเตอเฟส ทำให้โครโมโซมแต่ละตัวประกอบไปด้วย 2 โครมาติด และยี่ดียวขดไปมาอยู่ในนิวเคลียส ต่อมาในระยะโพรเฟส (Prophase) โครโมโซมจะหดสั้นและตัวหนาขึ้นจนถึงระยะเมตาเฟส (Metaphase) โครโมโซมจะหดสั้นเข้าแล้วสามารถเห็นโครโมโซมเป็น 2 เส้น โครมาติดชัดเจนขึ้นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งนิยมนำภาพโครโมโซมในระยะนี้ใช้วินิจฉัย ระยะแอนาเฟส (Anaphase) โครมาติดทั้งสองของโครโมโซมจะแยกจากกันตรงเซนโทรเมียร์ (Centromere)

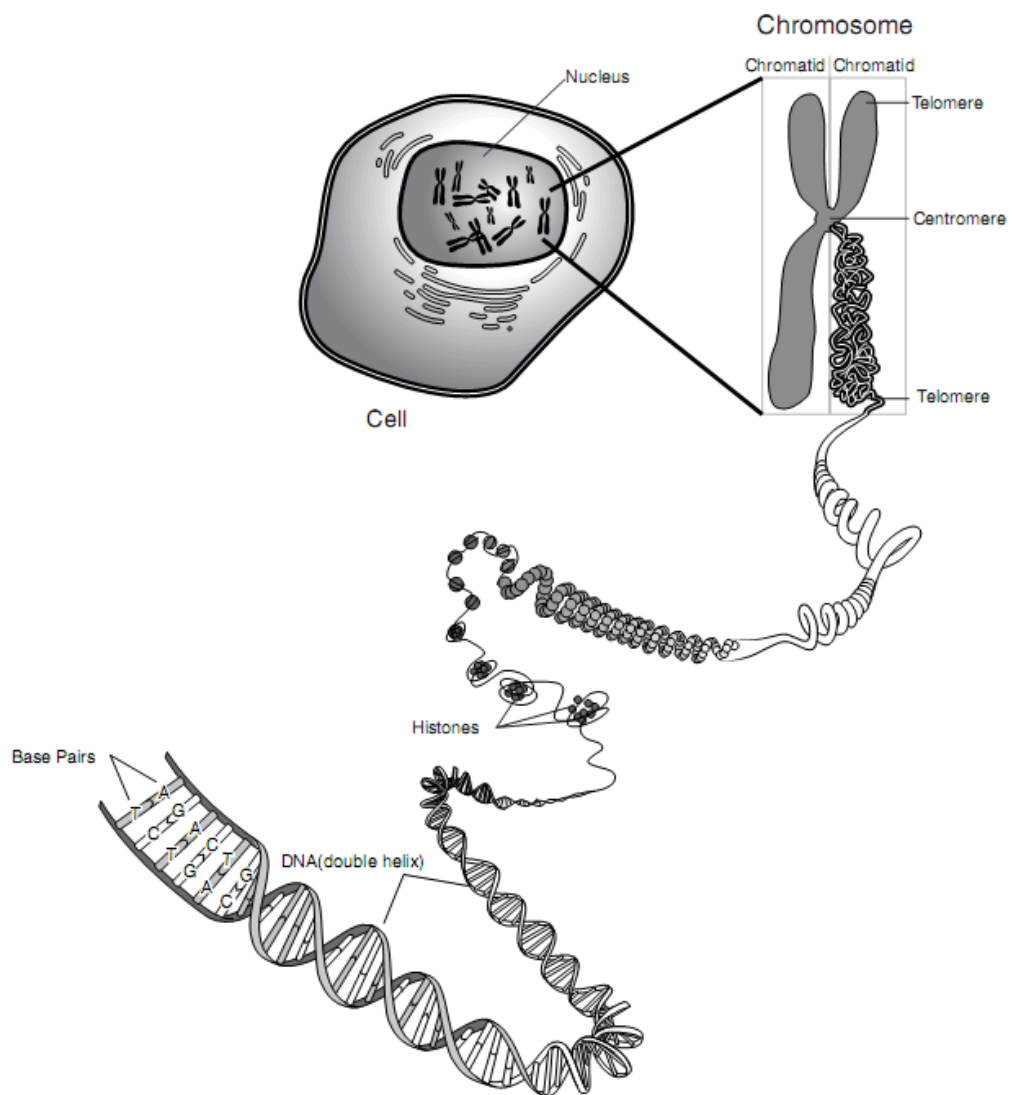
แล้วแยกไปอยู่ในเซลล์ลูกที่เกิดขึ้นแต่ละเซลล์ และระยะเทโลเฟส (Telophase) โครโมโซมแต่ละตัวซึ่งมีเพียงโครมาติดเดียวจะกลายเป็นยี่ดียวอยู่ในนิวเคลียสเหมือนเดิม [13]



ภาพประกอบ 2-1 ภาพโครโมโซมของเพศชาย



ภาพประกอบ 2-2 ภาพโครโมโซมของเพศหญิง



ภาพประกอบ 2-3 โครงสร้างของโครโมโซม [14]

โครโมโซมมีลักษณะเฉพาะตัวและสามารถระบุลักษณะของมนุษย์ได้ โดยปกติมนุษย์มีโครโมโซม 46 แท่ง ซึ่งได้จากพ่อ 23 แท่งและแม่อีก 23 แท่ง ดังนั้นลูกที่เกิดออกมาจะมีลักษณะคล้ายพ่อและแม่ ซึ่งหากโครโมโซมที่ได้รับการถ่ายทอดจากพ่อและแม่ไม่ครบหรือมากกว่า 46 แท่ง

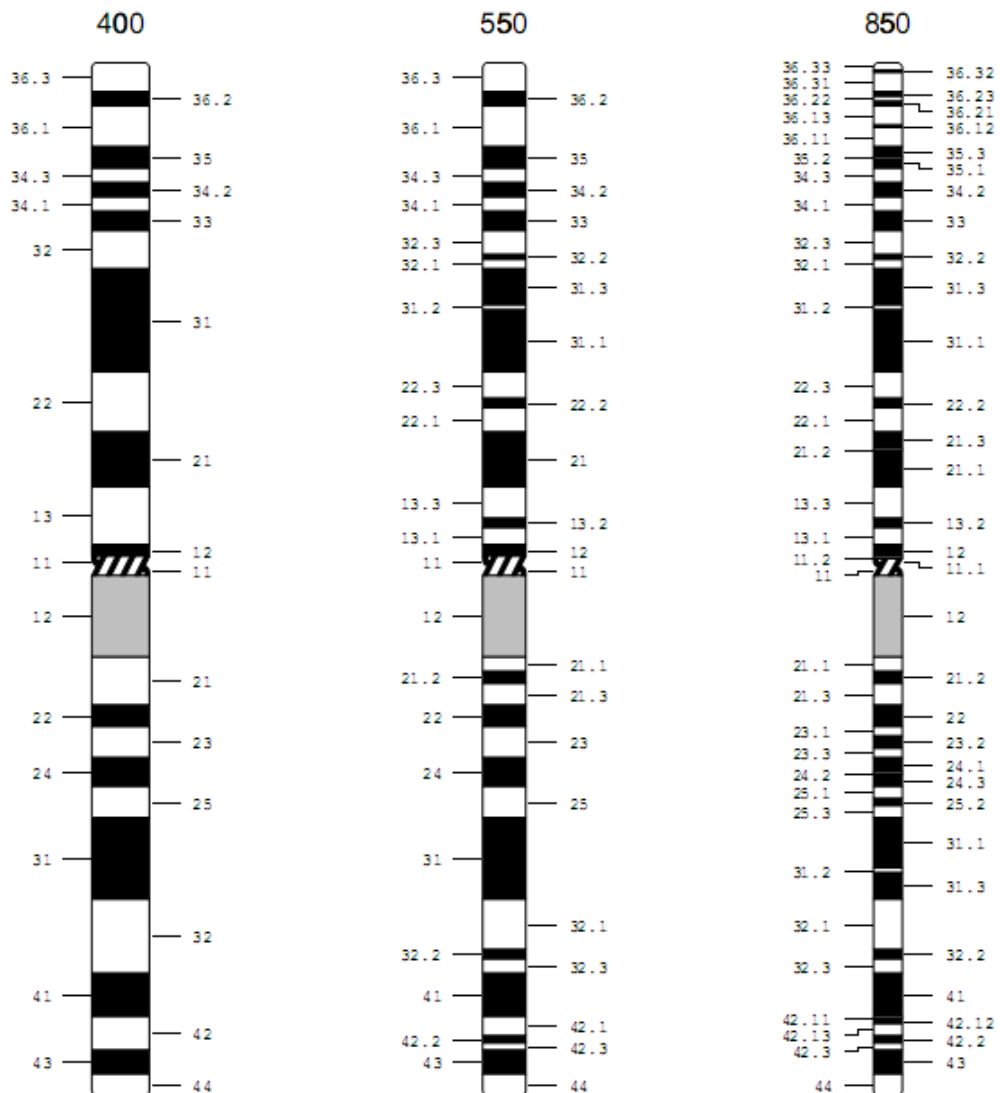
จะเกิดความผิดปกติ เช่น กลุ่มอาการดาวน์ คือการที่มีโครโมโซม แท่งที่ 21 เกินมาหนึ่งแท่ง ผู้ป่วยในกลุ่มนี้จะมีลักษณะเฉพาะคือ ตาเฉียงขึ้นบน, จมูกแบน, ใบหูต่ำ, คอสั้น และมีอาการปัญญาอ่อน อาจมีความผิดปกติของอวัยวะอื่นๆร่วมด้วย หรือในกรณีที่โครโมโซมมีรูปร่างผิดปกติ อาจเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคได้ เช่น โรคมะเร็ง โดยความผิดปกติของโครโมโซมแบ่งได้เป็น 4 แบบ คือ ความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (Structural aberration), ความผิดปกติเชิงจำนวน (Numerical aberration), โมเซอซิซึม (Mosaicism), และไคเมอริซึม (Chimerism) [13]

โครโมโซมของมนุษย์สามารถแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม [7] เรียงลำดับตามขนาดของโครโมโซม และตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์มี 3 ตำแหน่ง คืออยู่กลางลำตัว (Metacentric chromosome) อยู่ก่อนไปทางด้านหนึ่ง (Submetacentric chromosome) และอยู่ชิดปลายด้านหนึ่ง (Acrocentric chromosome) ดังตารางประกอบ 2-1 และลักษณะของแถบลายโครโมโซม (Banded chromosome) มีลักษณะเป็นแถบสีเข้มจางสลับกันขึ้นกับกรรมวิธีการย้อมสีโครโมโซม โครโมโซมแต่ละแท่งมีจำนวนและแถบลายที่แตกต่างกันขึ้นกับระยะของวัฏจักรเซลล์ จึงกำหนดแผนผังมาตรฐานของแถบลายโครโมโซม (Ideogram) ดังภาพประกอบ 2-4 โดยทั่วไปสามารถจัดได้ 5 รูปแบบคือ 300, 400, 550, 700 และ 850 แถบ โดยการประมาณผลรวมของจำนวนแถบลายทั้งหมดของภาพแฮพลอยด์เซต (Haploid set) [7]

ความผิดปกติของโครโมโซมมีหลายแบบ วิธีการตรวจวิเคราะห์จึงต้องพิจารณาใช้วิธีที่เหมาะสมกับความผิดปกติแต่ละแบบ ส่วนใหญ่นิยมตรวจด้วยวิธี Q-banding หรือ G-banding แต่ในบางกรณีจะใช้เทคนิคทาง Molecular cytogenetic เช่น Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) หรือเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Polymerase chain reaction, PCR) ร่วมด้วย การวินิจฉัยจึงจะถูกต้องแม่นยำ [13]

ตารางประกอบ 2-1 การแบ่งกลุ่มโครโมโซมตามโครงสร้างขนาดและตำแหน่งเซนโทรเมียร์

กลุ่ม	โครโมโซมคู่ที่
A	1 - 3
B	4, 5
C	6 - 12 และ X
D	13 - 15
E	16 - 18
F	19, 20
G	21, 22 และ Y



ภาพประกอบ 2-4 แผนผังแถบลายโครโมโซมคู่ที่ 1 ในช่วงระยะ 400, 550 และ 850 แแถบ [15]

การทำคาริโอไทป์ (Karytype) คือการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของภาพที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์พร้อมกำหนดหมายเลขและจัดกลุ่มภาพโครโมโซมตามลักษณะเฉพาะของโครโมโซมดังกล่าว ภาพประกอบ 2-5 และภาพประกอบ 2-6 เพื่อตรวจและวินิจฉัยดูว่าโครโมโซมมีความผิดปกติหรือไม่ อย่างไร ตัวอย่างเช่น โครโมโซมคู่ที่ 21 เกินมา 1 แท่ง ดังภาพประกอบที่ 2-7 หรือโครงสร้างของโครโมโซมแท่งหนึ่งของคู่ที่ 11 ขาดหายไป ดังภาพประกอบ 2-8 โดยทั่วไปเพื่อความถูกต้องแม่นยำ การตรวจและวินิจฉัยใช้ภาพอย่างน้อย 5 ภาพ แต่หากนำเซลล์จากไขกระดูกจะ

ใช้อย่างน้อย 20 ภาพ เซลล์ที่นิยมตรวจและวินิจฉัยได้จากตัวอย่างเลือด น้ำคร่ำ และไขกระดูก [8] โดยการเตรียมเซลล์และโครโมโซมแต่ละชนิดมีการเลี้ยงเซลล์ไม่เหมือนกัน ดังนี้ [13]

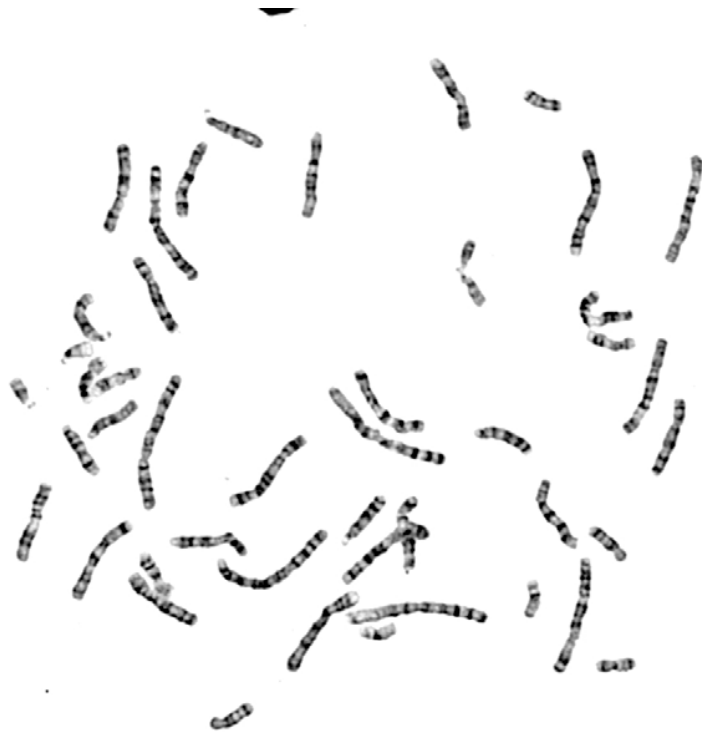
เซลล์ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) จะกระทำโดยเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขนประมาณ 1-2 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสารละลายเลี้ยงเซลล์ นิยมใช้ RPMI 1640 ผสมกับ Fetal calf serum (10%) และ Antibiotics กระตุ้นด้วย Phytohemagglutinin (PHA) โดยเลี้ยงไว้ในตู้บที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จึงทำการหยุดการแบ่งเซลล์และทำลายเส้นใยสปินเดิลด้วย Colcemid แล้วทำการเตรียมโครโมโซม

เซลล์แอมนิโอไซต์ (Amniocyte) เป็นเซลล์ที่ลอยอยู่ในน้ำคร่ำ (Amniotic fluid) การเตรียมโครโมโซมเหล่านี้เป็นการเตรียมเพื่อตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด ใช้วิธีเจาะน้ำคร่ำเมื่ออายุครรภ์ประมาณ 16-18 สัปดาห์ โดยเจาะมาประมาณ 15-20 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้เซลล์ตกตะกอนแล้วนำเซลล์ที่ได้ไปเลี้ยงในสารละลายเลี้ยงเซลล์ นิยมใช้ Chang medium, RPMI 1640 หรือ AmnioMax ผสมกับ Fetal calf serum (20%) และ Antibiotics เลี้ยงไว้ในขวดเลี้ยงเซลล์ในตู้บที่ 37 องศาเซลเซียสที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % เซลล์แอมนิโอไซต์จะลงเกาะกับพื้นขวดและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็นกลุ่มๆ เมื่อมีกลุ่มเซลล์มากพอจึงทำการเตรียมโครโมโซมมักใช้เวลาประมาณ 14 วัน

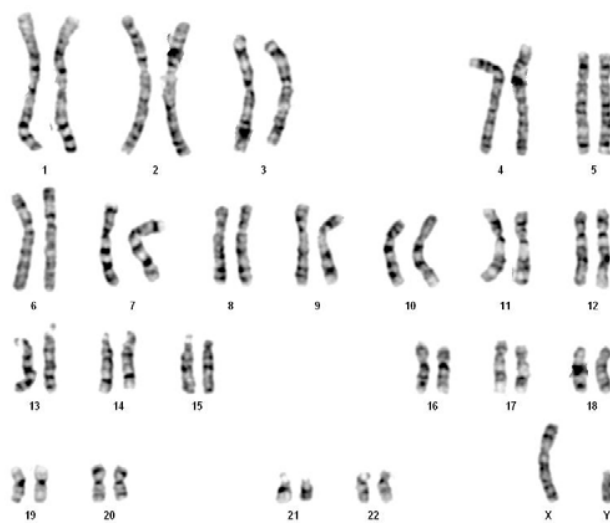
เซลล์ไขกระดูก (Bone marrow cell) เจาะไขกระดูก (Bone marrow aspiration) โดยใช้ไขกระดูกประมาณ 1-2 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสารละลายเลี้ยงเซลล์ซึ่งอาจใช้ RPMI 1640 หรือ HAM F 1 ผสมกับ Fetal calf serum (10%) และ Antibiotics เลี้ยงไว้ในตู้บที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงเติม Colcemid เพื่อหยุดการแบ่งเซลล์และทำลายเส้นใยสปินเดิล แล้วจึงทำการเตรียมโครโมโซม

เมื่อได้ตัวอย่างเซลล์ที่เตรียมไว้แล้ว จึงทำการเตรียมโครโมโซม การเตรียมโครโมโซมนิยมใช้ 0.075 M KCl เป็น Hypotonic solution และ Methanol : Acetic acid (3:1) เป็น Fixative สำหรับการทำให้เซลล์แตกและโครโมโซมกระจายนั้นใช้วิธี Air dried technique หลังจากนั้นจึงย้อมสีโครโมโซมตามกระบวนการวิธีที่ต้องการ รายงานวิจัยนี้ใช้ภาพถ่ายโครโมโซมจากเทคนิค G-banding

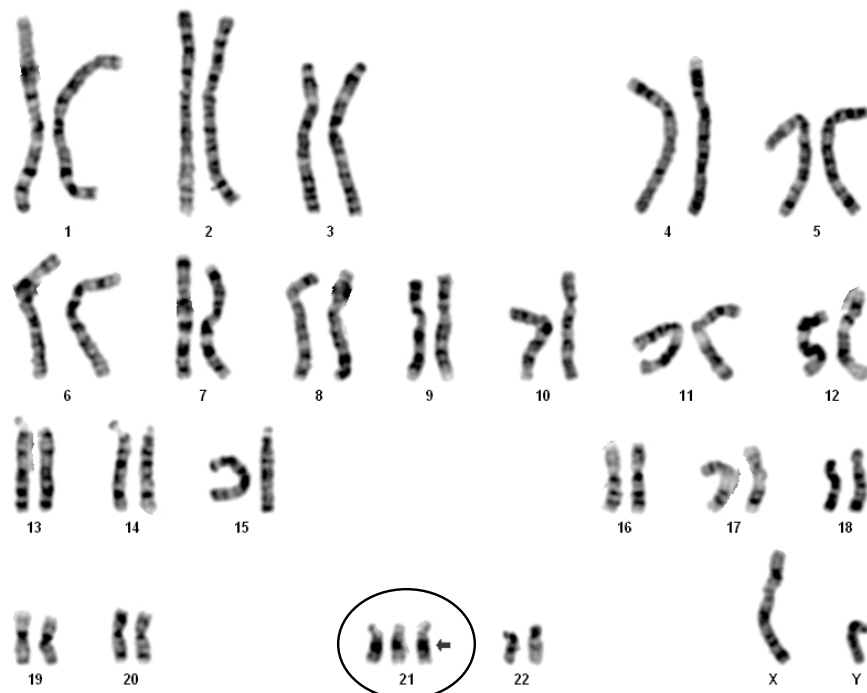
G-banding technique ใช้การแช่สไลด์ในสารละลาย Trypsin (0.25%) แล้วย้อมด้วยสี Giemsa (10%) นาน 15 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น ตั้กทิ้งไว้หรือเป่าให้แห้งจึงนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Bright field microscope) โครโมโซมจะติดสีเป็นแถบเข้มและจางสลับกัน ตามลักษณะเฉพาะของโครโมโซมแต่ละคู่



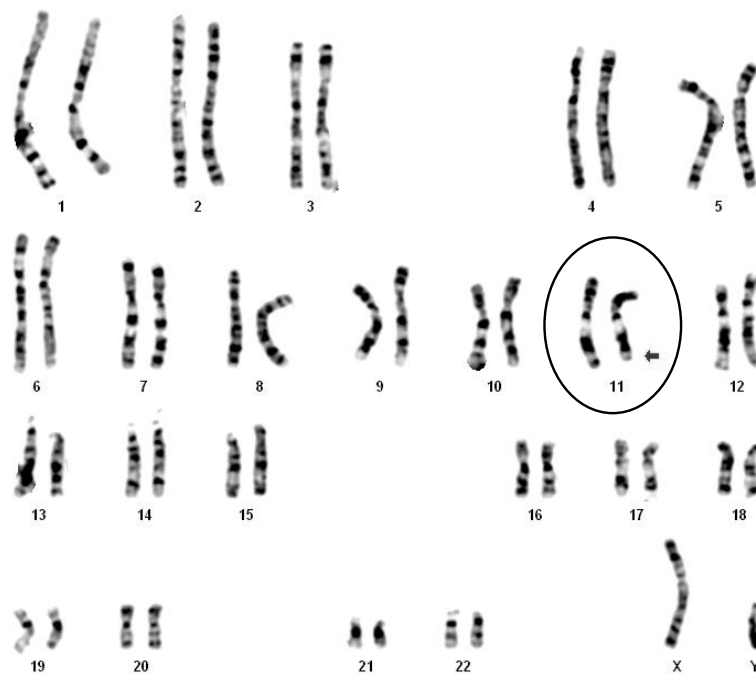
ภาพประกอบ 2-5 ภาพโครโมโซมก่อนการทำคาร์ิโอไทป์



ภาพประกอบ 2-6 ภาพโครโมโซมหลังการทำคาร์ิโอไทป์



ภาพประกอบ 2-7 ภาพคาริโอไทป์ที่พบความผิดปกติเชิงจำนวน



ภาพประกอบ 2-8 ภาพคาริโอไทป์ที่พบความผิดปกติเชิงโครงสร้าง

2.2 ภาพดิจิทัล

ภาพดิจิทัล (Digital image) เป็นภาพที่เกิดจากการเรียงกันของจุดต่างๆที่เรียกว่า “พิกเซล” (Pixel) ซึ่งย่อมาจาก Picture element [16] ดังภาพประกอบ 2-9 พิกเซลแต่ละพิกเซลของภาพดิจิทัลเรียงกันในลักษณะของเมตริกซ์ ซึ่งสามารถแสดงเป็นสมการฟังก์ชัน 2 มิติได้ ดังสมการ

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(1,1) & f(1,2) & \cdots & f(1,C) \\ f(2,1) & f(2,2) & \cdots & f(2,C) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ f(R,1) & f(R,2) & \cdots & f(R,C) \end{bmatrix}_{R \times C} \quad (2-1)$$

กำหนดให้ $f(x, y)$ คือแอมพลิจูดของฟังก์ชันหรือค่าความเข้มของภาพ (Intensity) ที่ตำแหน่งแถว (Row) x และหลัก (Column) y โดยที่ R และ C เป็นจำนวนแถวและหลักของเมตริกซ์ (ขนาดพิกเซลของภาพ)

พิกเซลของภาพดิจิทัลมีคุณสมบัติ 2 อย่างคือ ค่าที่สัมพันธ์กับเมตริกซ์อื่น (พบในภาพประเภท Index image ซึ่งไม่ค่อยพบเห็นกันมากนัก) และค่าที่เป็นความเข้มสี (พบในภาพขาวดำ ภาพระดับเทา และภาพสี)

ภาพขาวดำ (Binary image) เป็นภาพที่แต่ละพิกเซลมีเพียง 2 ค่า คือ 0 (สีดำ) หรือ 1 (สีขาว) แต่ละพิกเซลใช้เพียง 1 บิตในการเก็บข้อมูล โดยทั่วไปส่วนที่เป็นสีขาวเป็นวัตถุ (Object หรืออาจเรียกเป็น Foreground) และสีดำเป็นพื้นหลัง (Background) ดังภาพประกอบ 2-10

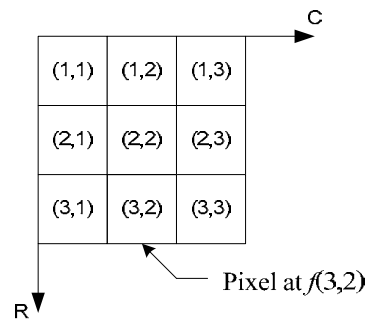
ภาพระดับเทา (Gray-scale image) บางครั้งเรียก Gray level image หรือ Intensity image เป็นภาพที่แต่ละพิกเซลมีค่าระหว่าง 0 (สีดำ) ถึง 255 (สีขาว) ดังภาพประกอบ 2-11 แต่ละพิกเซลใช้ 8 บิตหรือ 1 ไบต์ในการเก็บข้อมูล หรือในกรณี 16 บิตแต่ละพิกเซลมีค่าระหว่าง 0 (สีดำ) ถึง 65535 (สีขาว) ซึ่งมีความละเอียดมากเกินกว่าที่สายตามนุษย์แยกรายละเอียดได้ ดังนั้นจึงไม่พบเห็นมากนัก ในทางปฏิบัตินิยมปรับค่าความเข้มใหม่ให้มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ภาพระดับเทาสามารถแปลงเป็นภาพขาวดำได้โดยใช้เทคนิคเทสโธลด์ (Thresholding technique) โดยที่ค่าขีดแบ่ง (Threshold value) เป็นตัวกำหนดค่าเป็น 0 และ 1 โดยพิจารณาจากค่าความเข้มของภาพระดับเทา

ภาพสี RGB (Red-green-blue image) หรือ True color image เป็นภาพสีที่เกิดจากการรวมของ 3 เมตริกซ์ (3 สี) คือ สีแดง, สีเขียว, และสีน้ำเงิน ดังภาพประกอบ 2-12 แต่ละพิกเซลประกอบด้วยค่าของสีทั้ง 3 สี แต่ละสีมีค่าระหว่าง 0 ถึง 255 ตามระดับของความเข้ม แต่ละพิกเซลใช้ 24 บิตหรือ

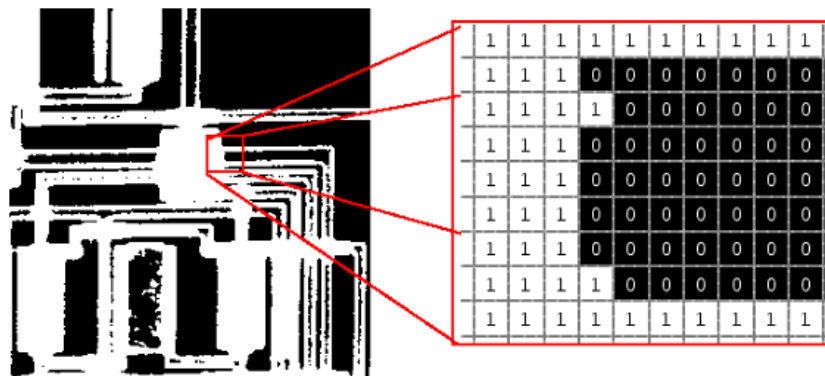
3 ไบต์ในการเก็บข้อมูล ดังนั้นภาพสีจึงมีระดับสีแตกต่างกัน $256^3 = 16,777,216$ ระดับ ภาพสี RGB สามารถแปลงเป็นภาพระดับเทาได้ ดังสมการ

$$I_g = (0.2989 \times R) + (0.5870 \times G) + (0.1140 \times B) \quad (2-2)$$

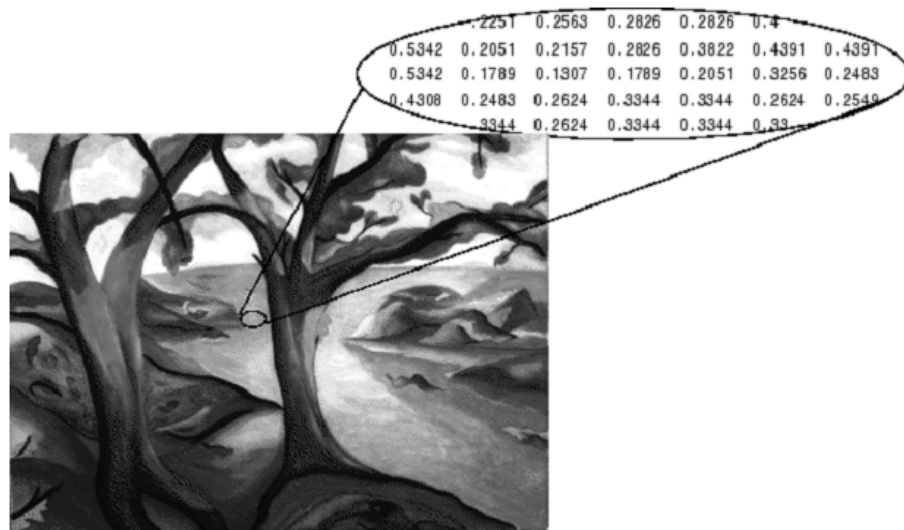
กำหนดให้ I_g คือ ค่าพิกเซลของภาพระดับเทา และ $R, G,$ และ B คือ ค่าพิกเซลของเมตริกซ์ของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ตามลำดับ [17]



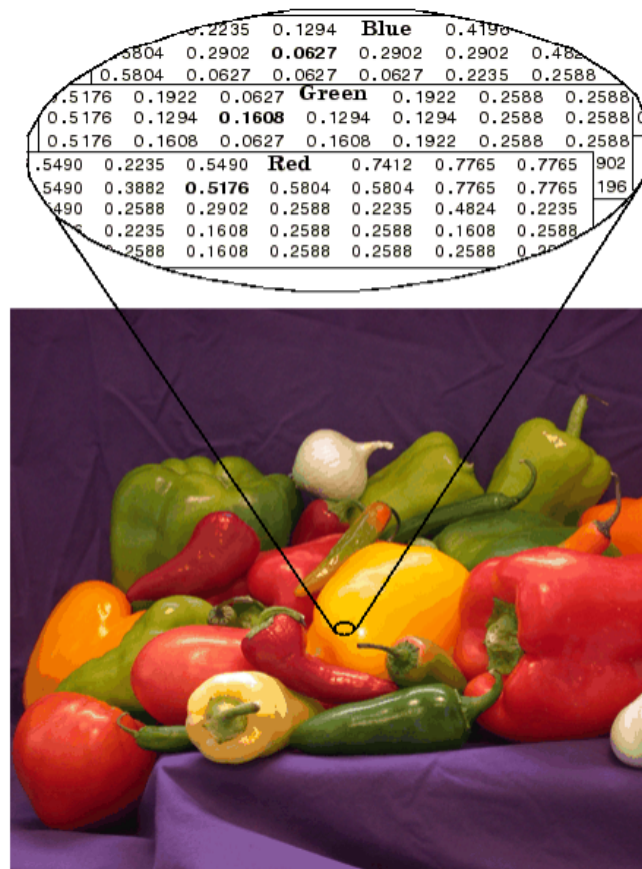
ภาพประกอบ 2-9 ภาพดิจิทัลอนพิกัด (x, y)



ภาพประกอบ 2-10 ตัวอย่างภาพระดับเทาและค่าของพิกเซล (Normalized value) [18]



ภาพประกอบ 2-11 ตัวอย่างภาพระดับเทาและค่าของพิกเซล [18]



ภาพประกอบ 2-12 ตัวอย่างภาพสี RGB และค่าของพิกเซล [18]

2.3 การวิเคราะห์ภาพ (Image analysis)

การวิเคราะห์ภาพมี 4 ขั้นตอน คือการประมวลผลภาพเบื้องต้น (Image preprocessing), การแยกภาพออกเป็นส่วนๆ (Image segmentation), การเลือกลักษณะเด่นของภาพ (Feature extraction), และการจัดกลุ่มภาพ (Image classification) ดังภาพประกอบ 2-13

2.3.1 การประมวลผลภาพเบื้องต้น

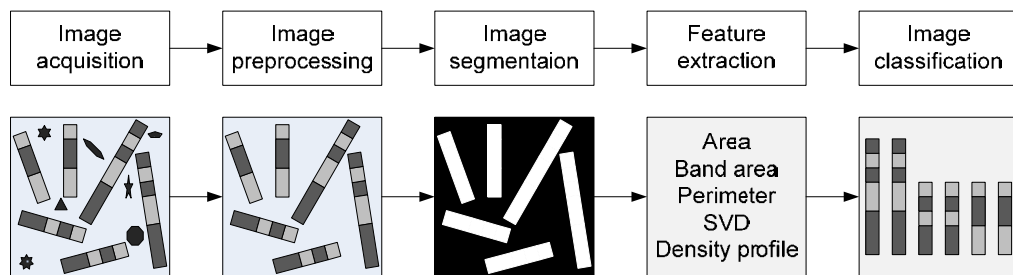
การประมวลผลภาพเบื้องต้นเป็นการเตรียมภาพไว้สำหรับกระบวนการต่างๆ เพื่อให้สอดคล้องกับการทำงาน เช่น การแปลงภาพถ่ายดิจิทัลจากเป็นภาพสีให้เป็นภาพระดับเทา หรือการปรับปรุงภาพถ่ายดิจิทัลที่มีรายละเอียดไม่ชัดเจน หรือมีสัญญาณรบกวน (Noise)

การใช้ตัวกรอง (Filter) เป็นวิธีพื้นฐานและนิยมใช้เพื่อปรับปรุงภาพ ประเภทหรือขนาดของตัวกรองควรเลือกให้เหมาะสมกับการใช้งาน ตัวกรองที่พบบ่อยมี 2 ประเภท คือตัวกรองที่กำจัดสัญญาณรบกวนออก (Smoothing filter) เป็นตัวกรองที่กำจัดหรือลดส่วนที่เป็นความถี่สูงของภาพ (Lowpass filter) และตัวกรองที่เพิ่มความคมชัดของของภาพ (Sharpening filter) เป็นตัวกรองที่กำจัดหรือลดส่วนที่เป็นความถี่ต่ำของภาพ (Highpass filter) [19]

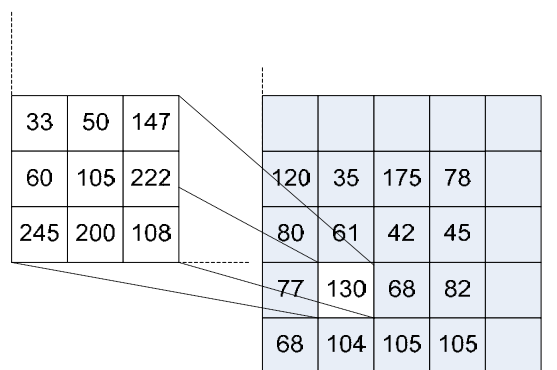
ตัวกรองแบบเฉลี่ย (Average filter) เป็นตัวกรองที่นิยมใช้สำหรับกำจัดสัญญาณรบกวน แต่ละพิกเซลมีค่าเป็น 1 ซึ่งขนาดของตัวกรองที่นิยมใช้มีขนาด 3x3 หรือ 5x5 ซึ่งหากมีขนาดใหญ่เกินไปจะทำให้ภาพไม่คมชัดหรือเบลอ (Blur) ตัวกรองเปรียบเสมือนกับหน้ากาก (Mask) ที่เคลื่อนที่ผ่านพิกเซลทุกพิกเซลของภาพดิจิทัล ดังภาพประกอบ 2-14 ค่าใหม่ที่ได้หลังจากการผ่านตัวกรองคำนวณได้จากสมการ

$$g(x, y) = \frac{1}{9} \times \sum (f(x+i, y+j)), i = -1, 0, 1; j = -1, 0, 1 \quad (2-3)$$

กำหนดให้ $g(x, y)$ คือค่าของพิกเซลใหม่ที่พิกัดแถว x และหลัก y หลังผ่านฟิลเตอร์ และ $\sum (f(x+i, y+j)), i = -1, 0, 1; j = -1, 0, 1$ คือผลรวมของค่าของพิกเซลใหม่ที่พิกัดแถว x และหลัก y และพิกเซลรอบๆ ทั้ง 8 พิกเซล



ภาพประกอบ 2-13 กระบวนการวิเคราะห์ภาพ



$$g(x, y) = \frac{1}{9} \times (33 + 50 + 147 + 60 + 105 + 222 + 245 + 200 + 108)$$

$$= 130$$

ภาพประกอบ 2-14 การใช้ตัวกรองแบบเฉลี่ย

2.3.2 การแยกภาพออกเป็นส่วนๆ

เทคนิคเทสโฮลด์ (Thresholding technique) เป็นการแปลงภาพระดับเทาให้เป็นภาพขาวดำ ซึ่งเป็นเทคนิคที่สำคัญและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการแยกข้อมูลภาพออกเป็นส่วนๆ (Image segmentation) [20] เทคนิคนี้มี 2 วิธีคือ การใช้ค่าขีดแบ่งค่าเดียวกันทั้งภาพ (Global thresholding) และการแบ่งภาพต้นฉบับออกเป็นภาพย่อยๆ แต่ละภาพย่อยจะใช้ค่าขีดแบ่งเฉพาะภาพย่อยนั้น (Adaptive thresholding หรือ Dynamic thresholding) [20]

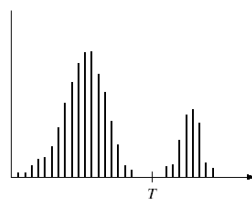
การแยกข้อมูลภาพนี้จะแยกภาพออกเป็นวัตถุ (สีขาว) และพื้นหลัง (สีดำ) โดยการกำหนดค่าความเข้มค่าหนึ่งเป็นค่าขีดแบ่ง (Threshold value) เพื่อแยกค่าความเข้มของแต่ละพิกเซลจากภาพระดับเทาว่าควรมีค่าเป็น 0 (สีดำ) หรือ 1 (สีขาว) [21] ค่าขีดแบ่งได้จากค่าที่แบ่งค่าฮิสโตแกรม (Histogram) ออกจากกันเปรียบเสมือนกับการแบ่งภูเขา 2 ชูด ดังภาพประกอบ 2-15 ค่าขีดแบ่งที่

นิยมใช้ได้จากวิธีของ Otsu (Otsu's Method) [22] ค่าขีดแบ่งที่ได้จากวิธีนี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามภาพแต่ละภาพ การแยกภาพเป็นส่วนๆ คำนวณได้จากสมการ

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & , f(x,y) > T \\ 0 & , f(x,y) \leq T \end{cases} \quad (2-4)$$

กำหนดให้ $g(x,y)$ คือค่าของพิกเซลหลังจากการเทสโธลด์ที่แถว x และหลัก y , $f(x,y)$ คือค่าความเข้มของพิกเซลที่แถว x และหลัก y ที่ต้องการเทสโธลด์ และ T คือค่าขีดแบ่งที่ได้จากวิธีของ Otsu [19]

ฮิสโตแกรม คือ กราฟแสดงจำนวนความถี่ของความเข้มของพิกเซลในแต่ละระดับโดยแกน x เป็นระดับของพิกเซล (ความเข้มสี) ตั้งแต่ 0 ถึง 255 และแกน y เป็นจำนวนความถี่ของความเข้มของพิกเซลในระดับนั้น ๆ ดังภาพประกอบ 2-15



ภาพประกอบ 2-15 ฮิสโตแกรมของภาพและค่าขีดแบ่ง [21]

ภาพขาวดำที่ได้จากการแปลงภาพระดับเทา ควรปรับแต่งภาพอีกครั้งตามความเหมาะสม เพื่อให้ภาพที่ได้ใกล้เคียงกับภาพต้นฉบับมากที่สุด ด้วยการปิดรูวัตถุ (Fill hole), เพิ่มขอบวัตถุ (Dilation), และลดขอบวัตถุ (Erosion)

2.3.3 การเลือกลักษณะเด่นของภาพ

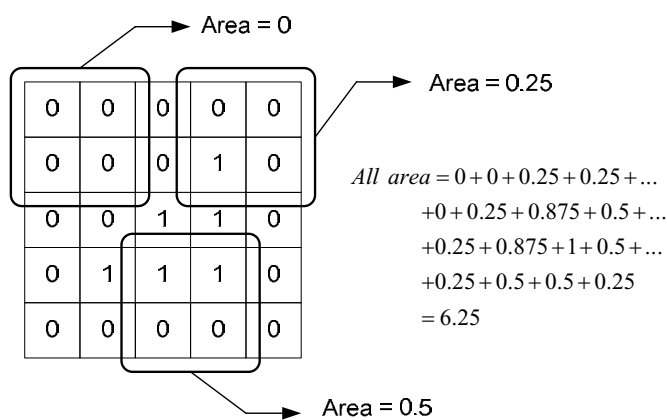
เป็นกระบวนการซึ่งเป็นการเลือกลักษณะเด่นของวัตถุ เช่น ขนาด รูปร่าง พื้นที่ ความยาว สี โดยที่ลักษณะเด่นเหล่านี้สามารถใช้จัดกลุ่มวัตถุโดยพิจารณาจากลักษณะเด่นที่เหมือนกันหรือต่างกัน ลักษณะเด่นที่เลือกใช้ควรมีความเหมาะสม และไม่น้อยหรือมากเกินไป เพราะจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการจัดกลุ่มภาพและระยะเวลาของการประมวลผล ลักษณะเด่นที่ใช้ในงานวิทยานิพนธ์มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

● **พื้นที่ของวัตถุ**

พื้นที่ของวัตถุเป็นลักษณะเด่นพื้นฐานที่นิยมใช้หาลักษณะเด่น โดยคำนวณหาพื้นที่จากการหาผลรวมของพื้นที่จากการเปรียบเทียบกับหน้ากาก (Mask) ขนาด 2x2 (2-by-2 neighborhood) ทั้ง 6 รูปแบบ ดังตารางประกอบ 2-1 [23] หน้ากากนี้จะเคลื่อนผ่านทุกๆพิกเซล ดังภาพประกอบ 2-16

ตารางประกอบ 2-2 ตารางเปรียบเทียบเพื่อหาพื้นที่ของภาพขาวดำ

ลักษณะของหน้ากากขนาด 2x2	ขนาดพื้นที่
มีค่าความเข้มเป็น 0 ทั้ง 4 พิกเซล	0
มีค่าความเข้มเป็น 1 เพียง 1 พิกเซล	0.25
มีค่าความเข้มเป็น 1 จำนวน 2 พิกเซล โดยเรียงตัวตามแนวตั้งหรือแนวนอน	0.5
มีค่าความเข้มเป็น 1 จำนวน 2 พิกเซล โดยเรียงตัวตามแนวทแยง	0.75
มีค่าความเข้มเป็น 1 จำนวน 3 พิกเซล	0.875
มีค่าความเข้มเป็น 1 ทั้ง 4 พิกเซล	1



ภาพประกอบ 2-16 ตัวอย่างการคำนวณหาพื้นที่ของวัตถุ

● **พื้นที่ของแถบลายโครโมโซม**

พื้นที่ของแถบลายโครโมโซมหาจากการแยกภาพเป็นส่วนๆ 2 ครั้ง โดยครั้งแรกจะแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลัง หลังจากนั้นแยกแถบลายโครโมโซมจากแท่งโครโมโซมที่เป็นส่วนที่แยกออกมาจากขั้นตอนแรก ซึ่งทั้ง 2 วิธีใช้เทคนิคเทสโฮลด์โดยใช้ค่าขีดแบ่งจากวิธีของ Otsu เมื่อได้แถบลายของโครโมโซมแล้วจึงหาพื้นที่ของภาพด้วยวิธีข้างต้น

$$A_{M \times N} = U_{M \times M} D_{M \times N} V_{N \times N}^T \quad (2-6)$$

กำหนดให้ $A_{M \times N}$ คือเมตริกซ์ต้นฉบับ, $U_{M \times M}$ และ $V_{N \times N}^T$ คือเมตริกซ์เชิงตั้งฉากปกติ (Orthonormal matrix), และ $D_{M \times N}$ คือเมตริกซ์ทแยงมุมที่สมาชิกในเมตริกซ์ที่ไม่ใช่ศูนย์จะมีค่าเป็นบวก (Non-negative rectangular diagonal matrix)

- **Density profile and band profile**

Density profile คือเส้นกลางของวัตถุที่แสดงค่าความเข้มของแต่ละพิกเซลตามแนวของเส้นกลาง บางกรณีไม่สามารถนำค่าความเข้มของเส้นกลางมาใช้ได้โดยตรง เนื่องจากเส้นกลางของวัตถุอาจไม่ชัดเจนหรือขาดหายไป ดังภาพประกอบ 2-18 จึงใช้วิธีการฉาย (Projection)

การหา Density profile ด้วยวิธีการฉาย โดยการหาค่าเฉลี่ยค่าความเข้มของแต่ละแถวของการฉาย หลังจากนั้นปรับค่าของ Density profile ใหม่ให้เป็น Band profile ซึ่งมีค่าเป็น 0 หรือ 1 ด้วยเทคนิคเทสโสลด์ เพื่อจำลองการเรียงลำดับของแถบลายโครโมโซม โดยค่าขีดแบ่งหาจากค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 75 ของฮิสโตแกรม และเนื่องจากรายละเอียดแถบลายของภาพถ่ายโครโมโซมมีลักษณะคล้ายคลึงกันในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นจึงสุ่มตัวอย่าง (Sampling) จากชุดข้อมูลของ Band profile เพื่อปรับจำนวนของข้อมูลให้เท่ากัน ลดขนาดของข้อมูลและเวลาของการประมวลผล

- **การปรับข้อมูลให้อยู่ในชุดรูปแบบเดียวกัน (Normalization)**

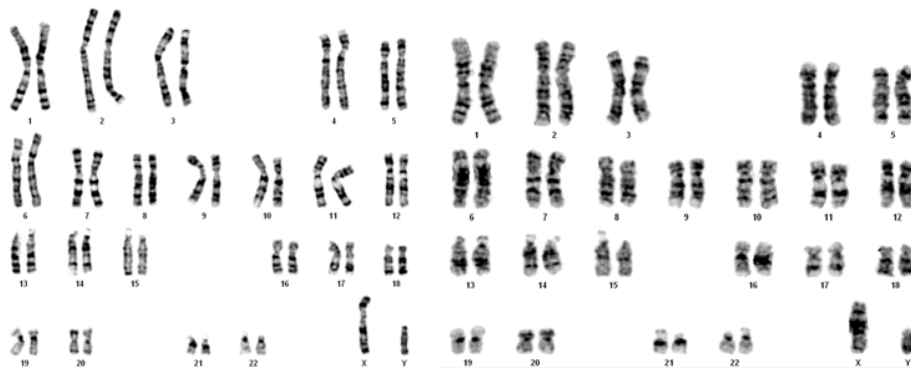
ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการเลือกลักษณะเด่นต้องปรับข้อมูลให้อยู่ในชุดรูปแบบเดียวกัน เนื่องจากภาพแต่ละภาพมีรายละเอียดที่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะเป็นกลุ่มเดียวกันก็ตาม เช่นพื้นที่ของโครโมโซมแต่ละประเภทเมื่อเทียบกับภาพอื่นๆ ดังภาพประกอบ 2-19 โดยให้ค่าต่ำสุดและสูงสุดของชุดข้อมูลแต่ละชุดเป็น 0 และ 1 ตามลำดับ โดยใช้สมการ

$$y = \frac{x - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (2-7)$$

กำหนดให้ y คือค่าใหม่ของข้อมูลหลังการปรับค่า, x คือค่าที่ต้องการปรับค่าข้อมูลใหม่, x_{\min} และ x_{\max} คือค่าต่ำสุดและสูงสุดของชุดข้อมูลที่ต้องการปรับค่า



ภาพประกอบ 2-18 ภาพโครโมโซมที่เส้นกลางหายไป (เริ่มเข้าสู่ระยะแยกตัว)



ภาพประกอบ 2-19 ลักษณะของภาพโครโมโซมที่ต่างกันจึงควรปรับข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบเดียวกัน

2.3.4 การจัดกลุ่มภาพ

เป็นกระบวนการที่ใช้จัดกลุ่มของวัตถุโดยพิจารณาจากลักษณะเด่นของภาพ วิธีการจัดกลุ่มที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ โครงข่ายประสาทเทียม (Artificial neural network) โครงข่ายประสาทเทียมเป็น โมเดลทางคณิตศาสตร์ที่นำมาใช้เพื่อทำนายผลลัพธ์ที่ได้โดยอาศัยข้อมูลต่างๆ จากฐานข้อมูล โครงข่ายประสาทเทียมมี 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ โครงข่ายประสาทเทียมแบบมีผู้สอน (Supervised neural network) และ โครงข่ายประสาทเทียมแบบไม่มีผู้สอน (Unsupervised neural network)

โครงข่ายประสาทเทียมแบบมีผู้สอนต้องการชุดข้อมูลของอินพุต (Input) และเอาต์พุต (Output) เพื่อใช้สอนโครงข่ายประสาทเทียม (Training) แต่โครงข่ายประสาทเทียมแบบไม่มีผู้สอนจะมีการสอนเพียงเฉพาะข้อมูลอินพุตเท่านั้น จากนั้นจะใช้ข้อมูลทางสถิติ โดยหาค่าสถิติของชุดฝึกสอน และจัดกลุ่มข้อมูลออกเป็นระดับต่างๆ โดยโครงข่ายจะหาค่าเอาต์พุตเองจากความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลอินพุตและเอาต์พุต

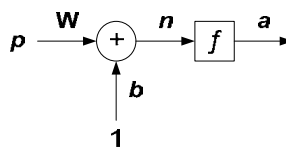
โครงข่ายประสาทเทียมเกิดจากเซลล์หลายๆเซลล์รวมตัวกันเป็นโครงข่าย เซลล์ของโครงข่ายประสาทเทียมดังกล่าวประกอบ 2-20 สามารถเขียนเป็นฟังก์ชันคณิตศาสตร์ ดังสมการ

$$n = Wp + b \quad (2-8)$$

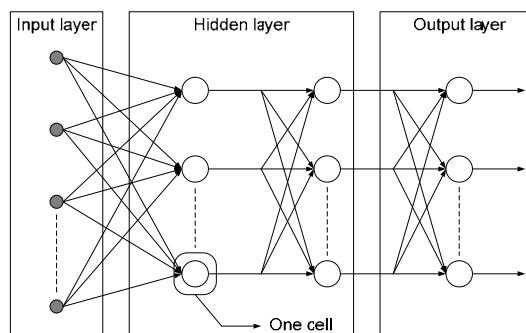
$$a = f(n) \quad (2-9)$$

กำหนดให้ W คืออินพุตน้ำหนัก (Weight input), p คืออินพุต (Input), b ไบอัส (Bias), n คืออินพุตโครงข่าย (Net input), a คือเอาต์พุตโครงข่าย และ $f(n)$ คือฟังก์ชันถ่ายโอน (Transfer function) ของอินพุตโครงข่าย

โครงข่ายประสาทเทียมประกอบ 3 ส่วนหลักๆ คือ ชั้นอินพุต (Input layer), ชั้นซ่อน (Hidden layer) และชั้นเอาต์พุต (Output layer) โดยที่เอาต์พุตของโครงข่ายชั้นก่อนหน้าเป็นอินพุตของโครงข่ายในชั้นถัดมา ดังภาพประกอบ 2-21 ชั้นอินพุตจะสัมพันธ์กับลักษณะเด่นของวัตถุ และชั้นเอาต์พุตจะสัมพันธ์กับจำนวนกลุ่มที่ต้องการจัด ส่วนชั้นซ่อนเปรียบเสมือนกล่องดำที่ไม่มีหลักการที่แน่นอนว่าควรมีเซลล์หรือชั้นซ่อนจำนวนเท่าใด ขนาดและประเภทของโครงข่ายประสาทเทียมขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพจากการลองผิดลองถูก (Trial and error) และความพึงพอใจของผู้ออกแบบ



ภาพประกอบ 2-20 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียม 1 เซลล์



ภาพประกอบ 2-21 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น

Probabilistic neural network เป็นโครงข่ายประสาทเทียมแบบไม่มีผู้สอน โครงข่ายประสาทเทียมจัดกลุ่มโดยใช้ความน่าจะเป็นจากฐานข้อมูล โครงข่ายประสาทเทียมนี้ใช้เวลาในการสอนน้อยกว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่กลับ [25], อัตราการจดจำ (recognition rate) ดีกว่า Maximum likelihood และ Back propagation neural network [11], และสามารถเพิ่มการเรียนรู้โดยเพิ่มข้อมูลได้ตลอดโดยไม่จำเป็นต้องสอน โครงข่ายประสาทเทียมใหม่ทั้งหมด [26, 27, 28, 29, 30]

Probabilistic neural network ประกอบด้วยชั้นอินพุต และโครงข่ายประสาทย่อย 2 ชั้นคือ radial basis layer และ competitive layer [31] ดังภาพประกอบ 2-22

ชั้นอินพุตเป็นลักษณะเด่นที่ผ่านการปรับข้อมูลให้อยู่ในชุดเดียวกันเพื่อนำมาใช้สอนโครงข่ายประสาทเทียม

อินพุตของโครงข่าย Radial basis layer คำนวณจากผลคูณของ Euclidean distance กับ ไรบัสด้วยวิธีการคูณกันของสมาชิกทั้ง 2 เวกเตอร์ที่ตำแหน่งเดียวกัน (Array multiplication, element by element) โดย Euclidean distance คำนวณจากสมการ

$$d = \sum ((W^1 - p) \cdot \wedge^2) \cdot \wedge^{0.5} \quad (2-10)$$

กำหนดให้ d คือ Euclidean distance, W^1 คืออินพุตน้ำหนัก, p คืออินพุต (ลักษณะเด่น), และ $x \cdot \wedge^y$ คือการยกกำลังของสมาชิกแต่ละตัวของ x ด้วยค่า y (Array power) [31]

ไรบัสของ Radial basis layer มีค่าเป็น $0.8236/\text{spread}$ โดย spread คือความคลาดเคลื่อนของฟังก์ชัน [25] ฟังก์ชันถ่ายโอน Radial basis มีลักษณะดังภาพประกอบ 2-23 สามารถเขียนเป็นสมการ

$$a = \text{radbas}(n) \quad (2-11)$$

$$a = e^{-n^2} \quad (2-12)$$

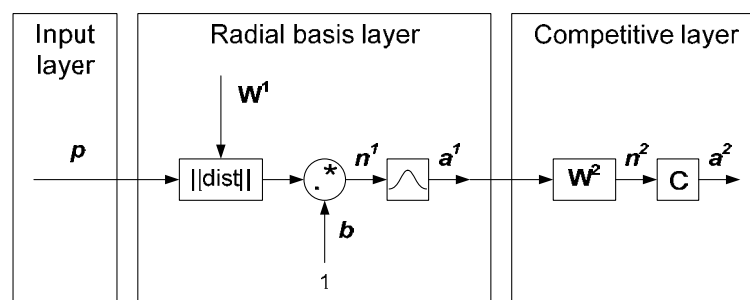
กำหนดให้ a คือ เอาต์พุตโครงข่าย, และ n คืออินพุตโครงข่าย [31]

Competitive layer มีอินพุตของโครงข่ายโดยคำนวณจากผลคูณจุด (Dot product) ของน้ำหนักกับเอาต์พุตของโครงข่าย Radial basis layer และชั้นนี้ไม่มีไรบัส ฟังก์ชันถ่ายโอน Compet

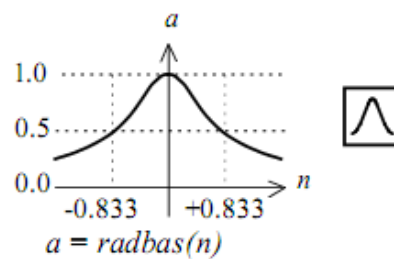
มีลักษณะดังภาพประกอบ 2-24 ซึ่งผลลัพธ์สุดท้ายของโครงข่ายมีค่าเป็น 1 หรือ 0 สามารถเขียนเป็นสมการ

$$a = \text{compet}(n) \tag{2-11}$$

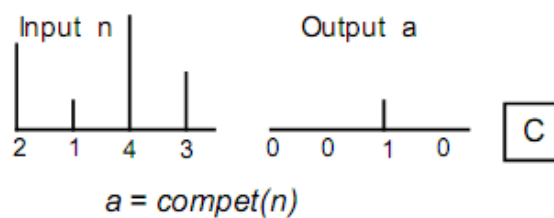
กำหนดให้ a คือ เอาต์พุตโครงข่าย, และ n คืออินพุตโครงข่าย



ภาพประกอบ 2-22 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมแบบ Probabilistic neural network



ภาพประกอบ 2-23 Radial basis transfer function [31]



ภาพประกอบ 2-24 Competitive transfer function [31]

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

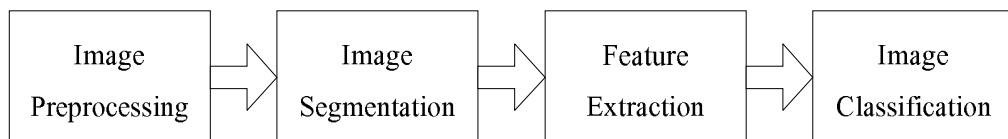
ในบทนี้กล่าวถึงอุปกรณ์และวิธีการของงานวิจัย ได้แก่ภาพโครโมโซม วิธีการทดลองและวิธีการทดสอบประสิทธิภาพ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.1 ภาพดิจิทัล

ภาพโครโมโซมที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัลซึ่งรับภาพที่ขยายจากกล้องจุลทรรศน์ โดยที่ภาพโครโมโซมอยู่ในช่วงการแบ่งเซลล์ระยะเมตาเฟส และเป็นภาพที่ผ่านการทำการรีโธปแล้วในรูปแบบ JPEG ขนาดของภาพต้นฉบับไม่แน่นอนขึ้นกับการกระจายตัวและขนาดของโครโมโซม ภาพโครโมโซมที่ใช้ทดลองทั้งหมด 60 ภาพ เป็นชาย 30 ภาพ และหญิง 30 ภาพ

3.2 การทดลอง

กระบวนการวิเคราะห์ภาพมี 4 ขั้นตอน ดังภาพประกอบ 3-1 ซึ่งประกอบไปด้วยการประมวลผลภาพเบื้องต้น การแยกภาพเป็นส่วนๆ การเลือกลักษณะเด่น และการจัดกลุ่มภาพ โดยมีแผนภาพการทำงานของโปรแกรม ดังภาพประกอบ 3-2



ภาพประกอบ 3-1 กระบวนการทำงานของการวิเคราะห์ภาพ

- การประมวลผลภาพเบื้องต้น

ขั้นตอนนี้เริ่มจากการแปลงภาพสีเป็นภาพระดับเทา แล้วปรับปรุงภาพโดยจัดภาพให้อยู่ในรูปแบบเดียวกันพร้อมกับกำจัดสัญญาณรบกวน

- การแยกภาพเป็นส่วนๆ

ขั้นตอนนี้ นำภาพระดับเทาจากขั้นตอนนี้ก่อนหน้าแปลงเป็นภาพขาวดำด้วยเทคนิคเทสโฮสต์ ซึ่งภาพที่ได้จะนำไปหาพื้นที่ภาพโครโมโซมและความยาวเส้นรอบรูป และเทสโฮสต์อีกครั้งจากภาพโครโมโซมที่แยกออกจากพื้นหลังก่อนหน้าเพื่อหาพื้นที่แถบลายโครโมโซม

- การเลือกลักษณะเด่น

ขั้นตอนนี้เป็นการหาลักษณะเด่นจากภาพโครโมโซมที่เป็นภาพระดับเทาและภาพขาวดำโครโมโซม (ภาพระดับเทา) เพื่อหา Band profile จากการหาค่าขีดแบ่งจาก Density profile ที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 75 และหาค่าสูงสุดของ Singular value โดย Singular value ได้จากวิธี Singular value decomposition (SVD) และ ภาพโครโมโซม (ภาพขาวดำ) เพื่อหาพื้นที่ภาพโครโมโซม และพื้นที่แถบลายโครโมโซมด้วยวิธีการเปรียบเทียบกับหน้ากาก [23] และหาความยาวเส้นรอบรูปโครโมโซมจากการหา Chain code [19]

หลังจากนั้นปรับข้อมูลของชุดข้อมูลทั้งหมดให้อยู่ในรูปแบบเดียวกันพร้อมกับการเลือกลักษณะเด่นเพื่อเตรียมไว้สำหรับขั้นตอนการจัดกลุ่มภาพในขั้นตอนนี้ถัดไป ดังสมการ

$$x_f = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \\ x_5 \end{bmatrix}, \quad (3-1)$$

กำหนดให้ x_f คือลักษณะเด่นที่เตรียมไว้เป็นอินพุตของโครงข่ายประสาทเทียม x_1, x_2, x_3, x_4 , และ x_5 คือพื้นที่ภาพโครโมโซม, ความยาวเส้นรอบรูป, ค่าสูงสุดของ Singular value จากวิธี SVD, พื้นที่แถบลายโครโมโซม และ Band profile ที่ชักตัวอย่างจากชุดข้อมูลทั้งหมดตามลำดับ

● การจัดกลุ่มภาพ

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการทดลองเพื่อจัดกลุ่มภาพโครโมโซมด้วยวิธีแยกโครโมโซมที่ 46 แบ่งเป็นกลุ่มย่อย 6 กลุ่มก่อนที่จะแยกเป็นโครโมโซมที่ 24 ประเภท ซึ่งโครโมโซมที่ 6 กลุ่มนี้พิจารณาจากลักษณะเด่นจากการทดลองในหัวข้อสารลักษณะเด่น คือพื้นที่ของแถบลายและภาพโครโมโซม ความยาวเส้นรอบรูปโครโมโซม และ ค่าสูงสุดของ Singular value พบว่าโครโมโซมสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ประมาณ 6 กลุ่ม กลุ่มโครโมโซมที่ 6 กลุ่มนี้แสดงดังตารางที่ 3-1 และทดลองหาจำนวนการชักตัวอย่างจากค่า Band profile ที่เหมาะสม โดยชักตัวอย่างมา 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่างจากชุดข้อมูลของโครโมโซมแต่ละแท่ง

ลักษณะเด่นที่ใช้จัดกลุ่มภาพของ Classifier ทั้ง 7 ตัว (Classifier M และ Classifier G1-G6) พิจารณาจากผลการทดลองเรื่องการเลือกลักษณะเด่น ซึ่งผลการทดลองนี้เป็นค่าทางสถิติของลักษณะเด่นต่างๆจากภาพทั้งหมด 60 ภาพ โดยแบ่งเป็นชายและหญิงอย่างละ 30 ภาพ (ดูผลการทดลองจากบทที่ 4)

Classifier M เมื่อพิจารณาจาก X_1, X_2, X_3 จะพบว่าข้อมูลสามารถเป็นเป็นกลุ่มๆ ได้ประมาณ 6 กลุ่ม ซึ่งค่าของข้อมูลค่อนข้างจะแยกจากกัน ดังนั้นการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมเป็น 6 กลุ่มนี้จึงเป็นขั้นแรก ซึ่งหลังจากนี้ จะใช้รายละเอียดของแถบลายโครโมโซมในรูปแบบ Band profile (x_5) เพื่อเพิ่มรายละเอียดของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมที่ 24 ประเภทอีกครั้ง

Classifier G1 เมื่อพิจารณาจาก X_2 จะพบว่า X_2 มีค่าของข้อมูลค่อนข้างจะแยกจากกัน ซึ่งต่างจากลักษณะเด่นอื่นๆ

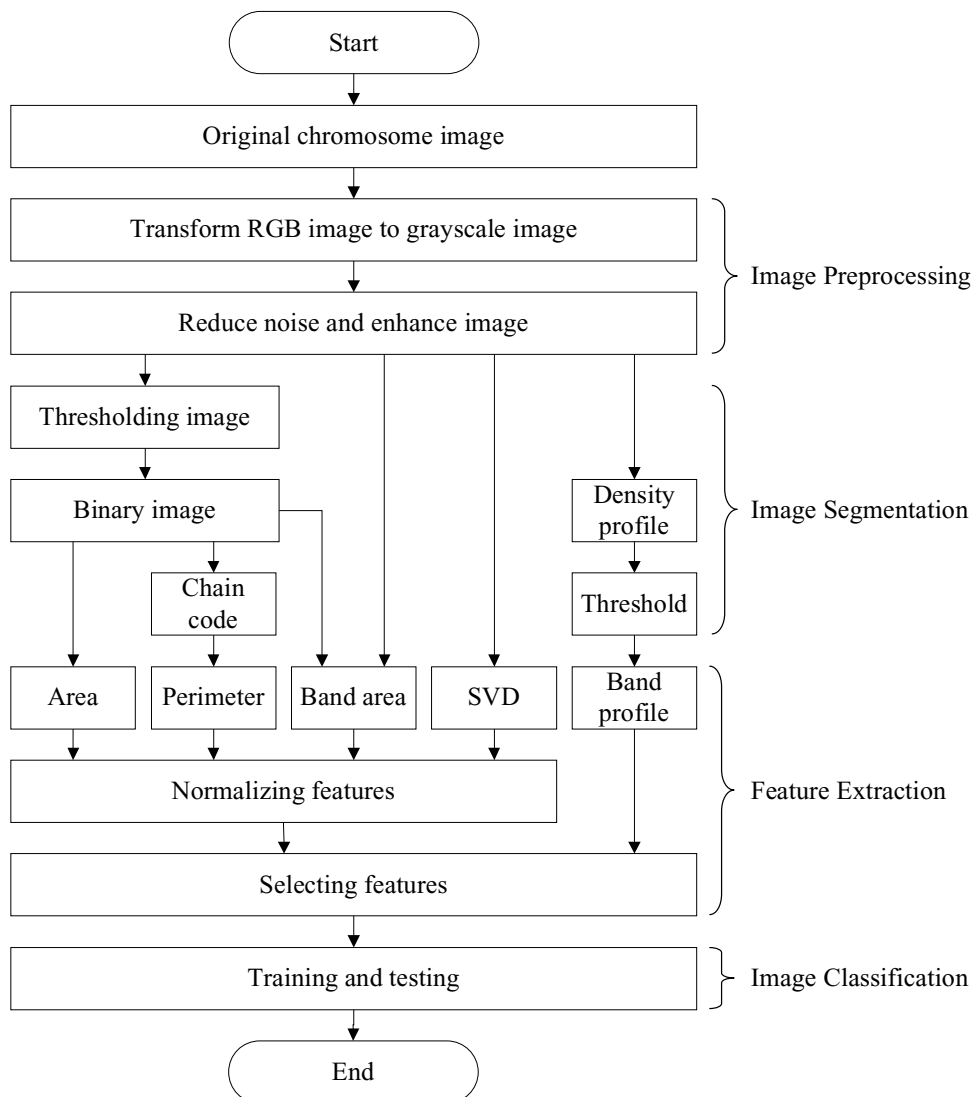
Classifier G2 เมื่อพิจารณาจากลักษณะเด่นแต่ละตัวแล้วค่าของข้อมูลไม่ต่างกันมากนัก จึงใช้ลักษณะเด่นทั้งหมด แต่ลักษณะเด่นเรียงกันเป็นลำดับ

Classifier G3 เมื่อพิจารณาจากลักษณะเด่นแต่ละตัวแล้วค่าของข้อมูลไม่ต่างกันมากนัก จึงใช้ลักษณะเด่นทั้งหมด แต่ลักษณะเด่นมีช่วงข้อมูลใกล้เคียงกันมาก

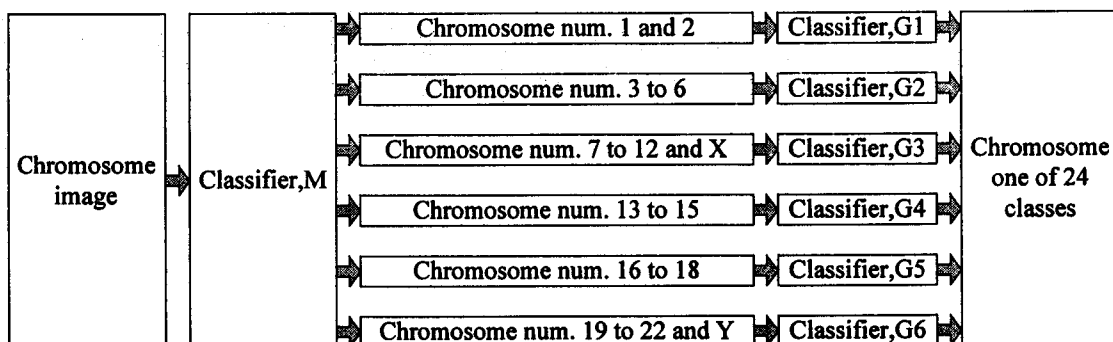
Classifier G4 เมื่อพิจารณาจาก X_4 จะพบว่า X_4 จะแยกข้อมูลโครโมโซมคู่ที่ 13, 14 และ 15 ค่อนข้างดี

Classifier G5 เมื่อพิจารณาจาก X_1, X_2, X_4 จะพบว่า X_1, X_2 จะแยกข้อมูลโครโมโซมคู่ที่ 18 และ X_4 จะแยกข้อมูลโครโมโซมคู่ที่ 17 ค่อนข้างดี

Classifier G6 เมื่อพิจารณาจากลักษณะเด่นแต่ละตัวแล้วค่าของข้อมูลค่อนข้างเกาะกลุ่มกัน และแต่ละช่วงข้อมูลของแต่ละกลุ่มในกลุ่มเดียวกันห่างกันไม่มากนัก จึงใช้ลักษณะเด่นทั้งหมด



ภาพประกอบ 3-2 แผนภาพการทำงานของโปรแกรม



ภาพประกอบ 3-3 แผนภาพการจัดกลุ่มภาพแบบ 2 ชั้น

ตารางประกอบ 3-1 ลักษณะเด่นที่ใช้ของแต่ละ Classifier

Classifier	Features
M	x_1, x_2, x_3
G1	x_2, x_3
G2	x_1, x_2, x_3, x_4, x_5
G3	x_1, x_2, x_3, x_4, x_5
G4	x_4, x_5
G5	x_1, x_2, x_4, x_5
G6	x_1, x_2, x_3, x_4, x_5

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพ

การทดลองแบ่งภาพโครโมโซมออกเป็น 2 ชุด (ชาย 15 ภาพ และหญิง 15 ภาพ ต่อ 1 ชุด) โดยแต่ละชุดจะผลัดกันเป็นชุดที่ใช้สอนและชุดที่ใช้ทดสอบสำหรับโครงข่ายประสาทเทียม(2-fold cross validation)

ผลการทดลองเมื่อวัดเป็นประสิทธิภาพ (Efficiency, *eff*) ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของภาพโครโมโซม 1 ภาพ ดังสมการ

$$eff = \frac{correct}{46} \times 100\% \quad (3-2)$$

กำหนดให้ *correct* คือจำนวนโครโมโซมที่จัดกลุ่มถูกต้องเมื่อเปรียบเทียบกับ 24 ประเภท และ *eff* เปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

เนื่องจากการทดลองจัดกลุ่มภาพโครโมโซมมีการแบ่งการจัดกลุ่มเป็น 2 ขั้นตอน ดังนั้นจึงพิจารณาเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของกลุ่มย่อยทั้ง 6 กลุ่มเพิ่มเติม ดังสมการ

$$real = \frac{correct}{(numgroup)} \times 100\% \quad (3-3)$$

$$ignore = \frac{correct}{(numgroup - incorrect)} \times 100\% \quad (3-4)$$

กำหนดให้ *correct* คือจำนวนโครโมโซมของกลุ่มย่อยที่จัดกลุ่มถูกต้อง, *numgroup* คือจำนวนโครโมโซมทั้งหมดของกลุ่มย่อยทั้ง 6 กลุ่มดังตารางประกอบ 3-2, *incorrect* คือจำนวนโครโมโซมที่จัดกลุ่มผิดของแต่ละกลุ่มย่อยนั้นๆ และ *real* และ *ignore* คือเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการจัดกลุ่มภาพย่อยแต่ละกลุ่มแบบธรรมดาและแบบไม่คิดโครโมโซมที่จัดกลุ่มผิดพลาดจากการจัดกลุ่มขั้นแรก ตามลำดับ

ตัวอย่างเช่น เมื่อพิจารณา Classifier G1 ซึ่งโครโมโซมคู่ที่ 1 และ 2 อยู่ในกลุ่มนี้ ดังนั้นจึงมีโครโมโซมในกลุ่มนี้ทั้งหมด 4 แท่ง (*numgroup* = 4) แต่จัดกลุ่มภาพโครโมโซมถูก 3 แท่งและแท่งที่ผิดถูกจัดไปอยู่กลุ่มอื่นซึ่งเกิดจากความผิดพลาดของ Classifier M ดังนั้นเมื่อพิจารณา

ประสิทธิภาพของ โปรแกรมเมื่อคิดเฉพาะกลุ่มนี้จะได้ 75 เปอร์เซ็นต์ $\left(real = \frac{3}{4} \times 100\% = 75\% \right)$
 แต่เมื่อ ไม่คิดแห่งที่ถูกลัด ไปอยู่กลุ่มอื่นเพื่อพิจารณาประสิทธิภาพจริงๆของ Classifier G1 จะได้ 100
 เปอร์เซ็นต์ $\left(ignore = \frac{3}{(4-1)} \times 100\% = 100\% \right)$

ตารางประกอบ 3-2 ตารางแสดงค่า numgroup ของแต่ละกลุ่มทั้งชายและหญิง

Classifier	Class	numgroup (female)	numgroup (male)
G1	1,2	4	4
G2	3-6	8	8
G3	7-12, X	14	13
G4	13-15	6	6
G5	16-18	6	6
G6	19-22, Y	8	9

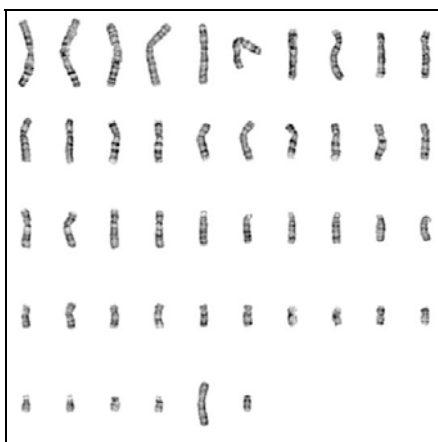
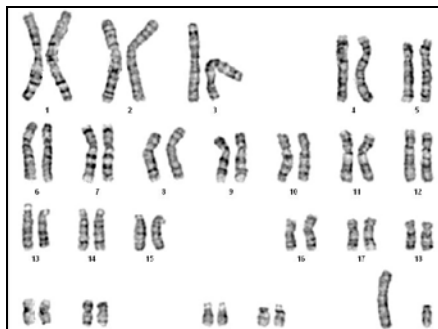
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ในบทนี้กล่าวถึงผลการวิจัยตามขั้นตอนของกระบวนการวิเคราะห์ภาพ ซึ่งมี 4 ขั้นตอน ได้แก่ การประมวลผลภาพเบื้องต้น, ผลของการแยกภาพเป็นส่วนๆ, ผลของการเลือกลักษณะเด่น และผลของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม ดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 ผลของการประมวลผลภาพเบื้องต้น

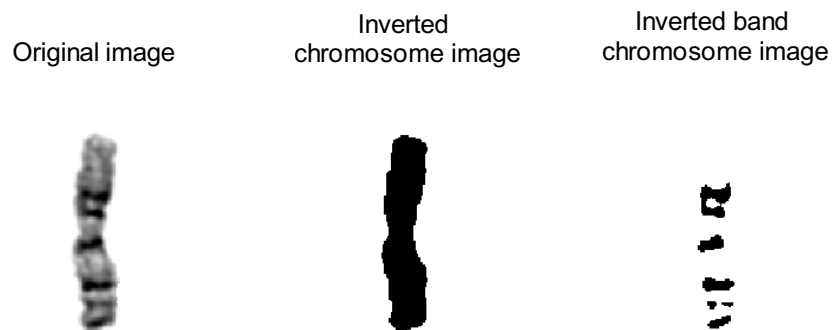
ขั้นตอนนี้เป็นการแปลงจากภาพสีเป็นภาพขาวเทา พร้อมกับจัดภาพในรูปแบบเดียวกันเพื่อ
ง่ายต่อการประมวลผล โดยภาพโครโมโซมแต่ละแท่งหลังการจัดมีขนาดภาพเป็น 300x150 พิกเซล
รวมถึงการกำจัดสัญญาณรบกวนออกด้วยตัวกรองแบบเฉลี่ยขนาด 3x3 ดังภาพประกอบ 4-1



ภาพประกอบ 4-1 การจัดภาพให้อยู่รูปแบบเดียวกัน

4.2 ผลของการแยกภาพเป็นส่วนๆ

ขั้นตอนนี้เป็น การแยกภาพออกเป็นส่วนๆ โดยการแยกภาพโครโมโซมออกจากพื้นหลังโดยใช้เทคนิคเทสโธลด์ และค่าขีดแบ่งได้จากวิธีของ Otsu ซึ่งฮิสโตแกรมที่ใช้ได้จากภาพทั้งภาพ หลังจากนั้นจะแยกภาพออกเป็นส่วนๆด้วยเทคนิคเทสโธลด์อีกครั้ง และค่าขีดแบ่งได้จากวิธีของ Otsu แต่ฮิสโตแกรมที่ใช้เฉพาะที่เป็นแท่งโครโมโซม ดังภาพประกอบ 4-2



ภาพประกอบ 4-2 ตัวอย่างการแยกภาพเป็นส่วนๆ

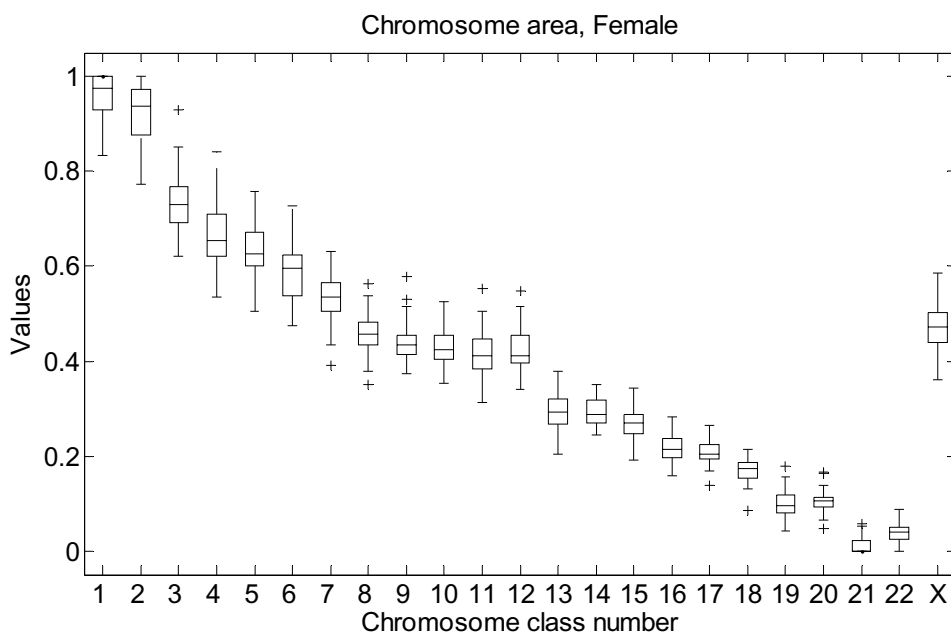
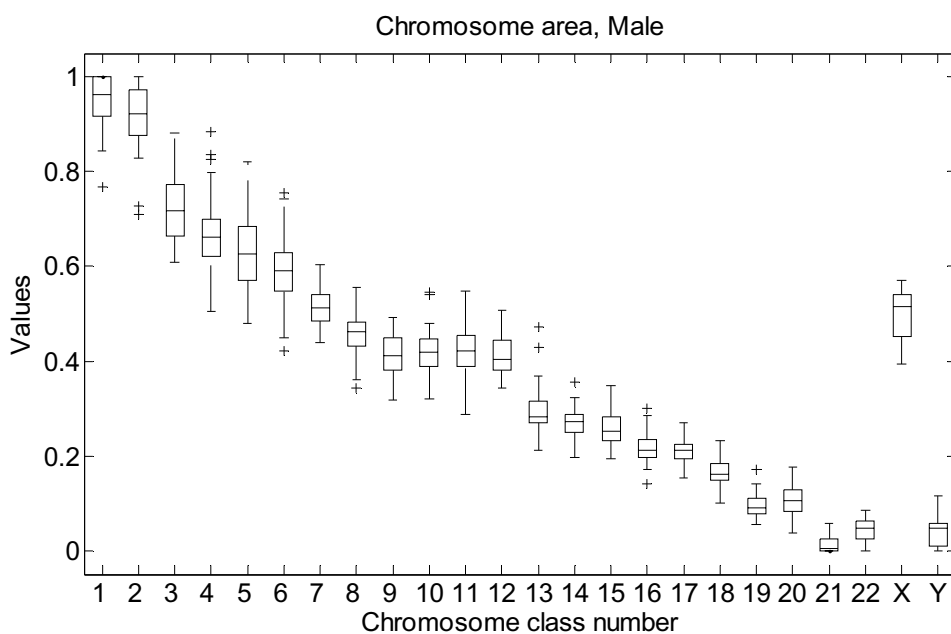
4.3 ผลของการเลือกลักษณะเด่น

ขั้นตอนนี้เป็น การหาลักษณะเด่นของโครโมโซมทั้ง 24 ประเภท (ออโตโซม 22 คู่ และโครโมโซม X และ Y) โดยลักษณะเด่นที่เลือกใช้มี 5 ชนิด คือ พื้นที่ภาพโครโมโซม, พื้นที่แถบลายโครโมโซม, ความยาวเส้นรอบรูปโครโมโซม, ค่าสูงสุดของ Singular value จากวิธี Singular Value Decomposition (SVD) และ Band profile

ลักษณะเด่นที่เป็นพื้นที่ภาพโครโมโซม, พื้นที่แถบลายโครโมโซม, ความยาวเส้นรอบรูปโครโมโซม, และค่าสูงสุดของ Singular value จะแสดงข้อมูลเป็นกราฟทางสถิติเพื่อพิจารณาว่าโครโมโซมแต่ละประเภทจะมีข้อมูลของลักษณะเด่นแต่ละอย่างอยู่ในช่วงใด ส่วน Band profile จะแสดงเป็นตัวแทนของแถบลายโครโมโซม

- พื้นที่ภาพโครโมโซม

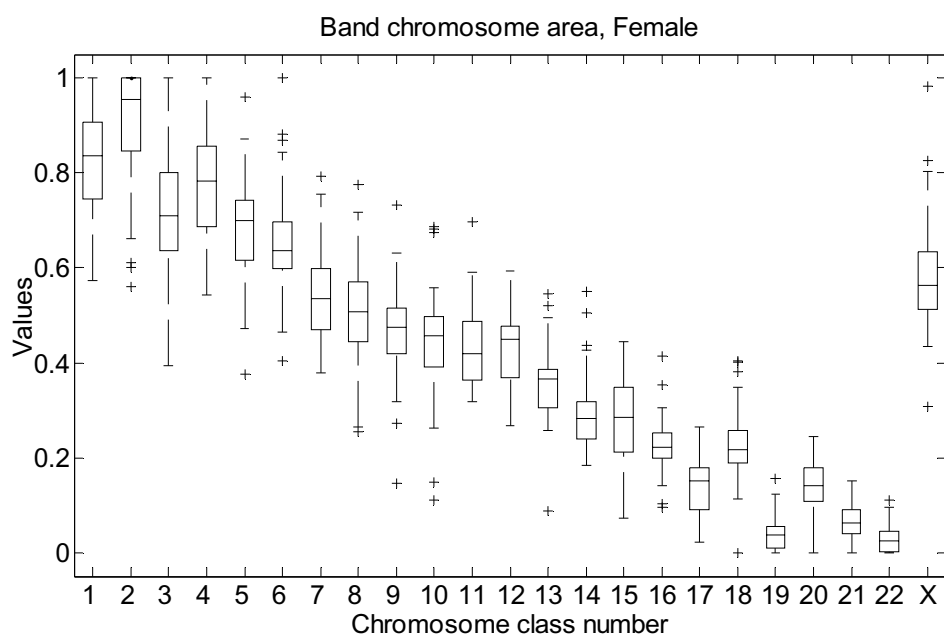
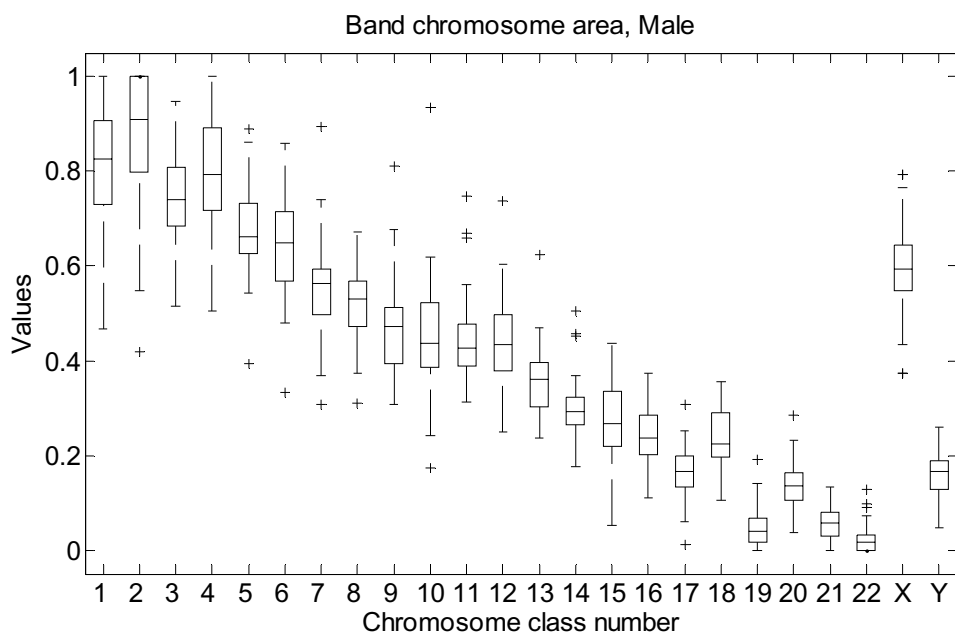
พื้นที่ภาพโครโมโซมไล่จากขนาดใหญ่ไปหาเล็กจากคู่ที่ 1 จนถึงคู่ที่ 22 แต่โครโมโซม X จะอยู่ในช่วงประมาณกึ่งกลางของข้อมูล และโครโมโซม Y มีขนาดเล็กที่สุด ดังภาพประกอบ 4-3



ภาพประกอบ 4-3 ข้อมูลสถิติของพื้นที่ภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง

- พื้นที่แถบลายโครโมโซม

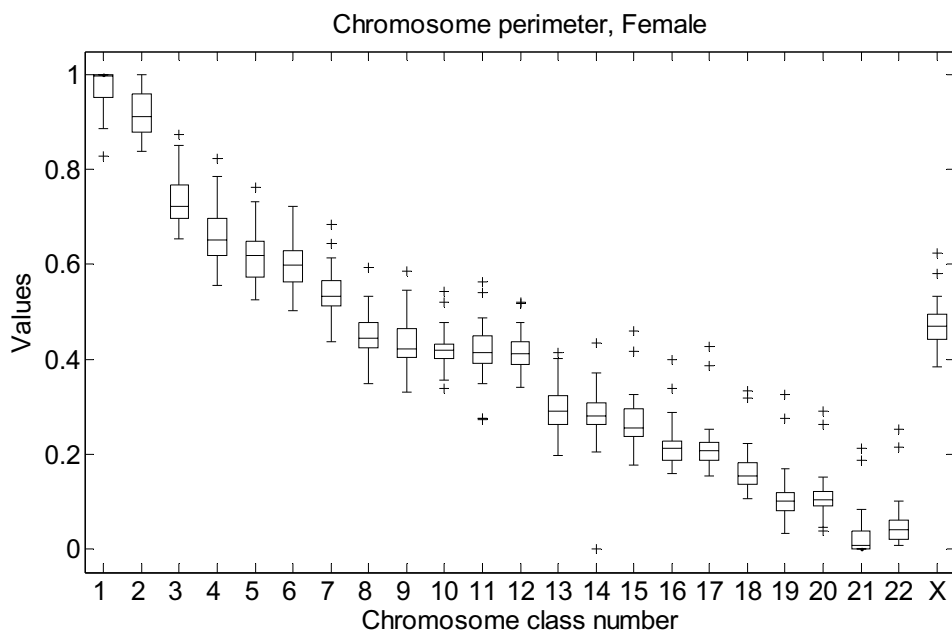
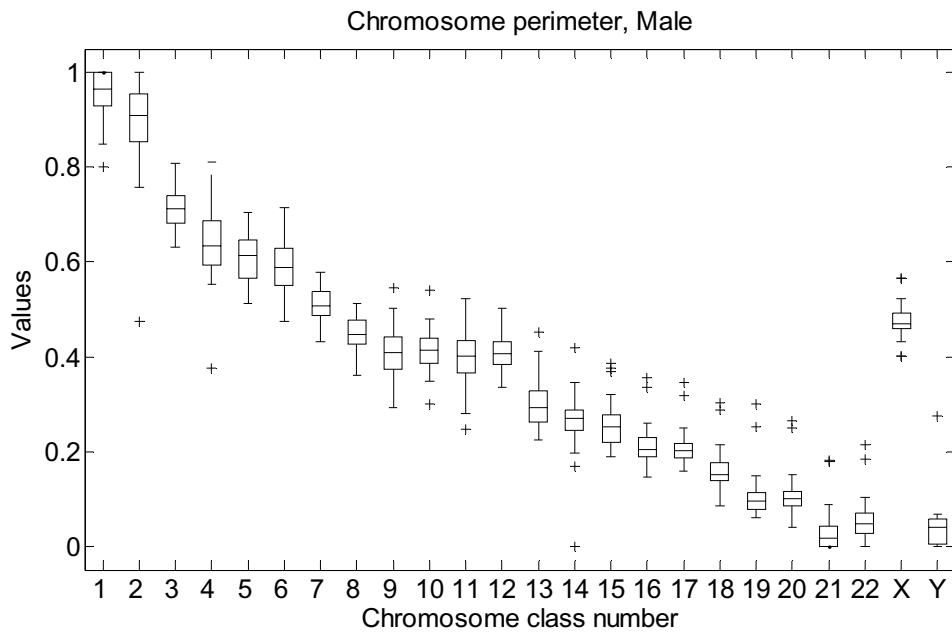
พื้นที่แถบลายโครโมโซมไม่ค่อยเรียงเป็นลำดับ แต่สามารถที่จะแบ่งชุดข้อมูลได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดข้อมูลของพื้นที่ภาพโครโมโซม เช่นกลุ่มข้อมูลโครโมโซมคู่ที่ 19 และ 20 ดังภาพประกอบ 4-4



ภาพประกอบ 4-4 ข้อมูลสถิติของพื้นที่แถบลายภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง

- ความยาวเส้นรอบรูป

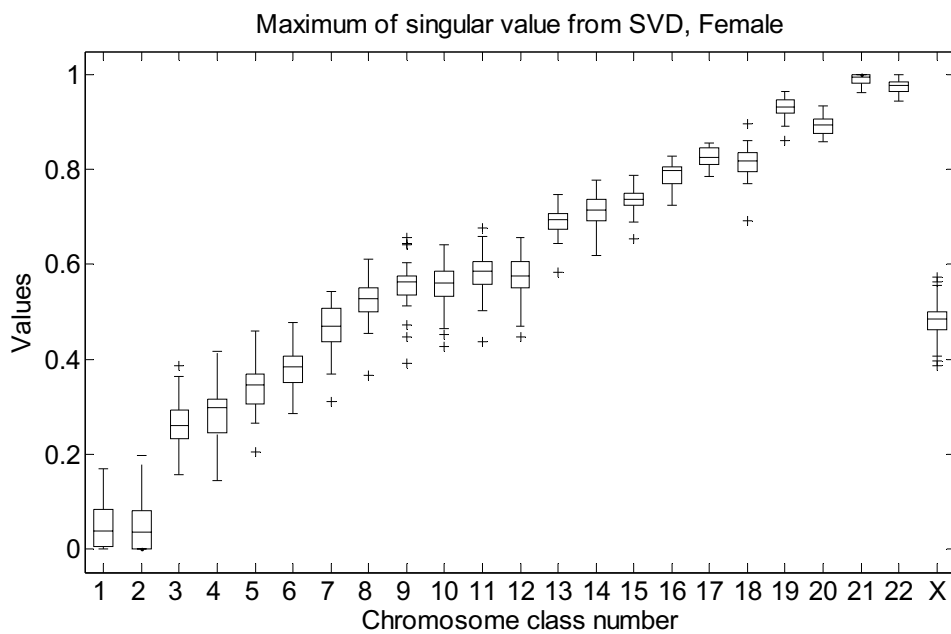
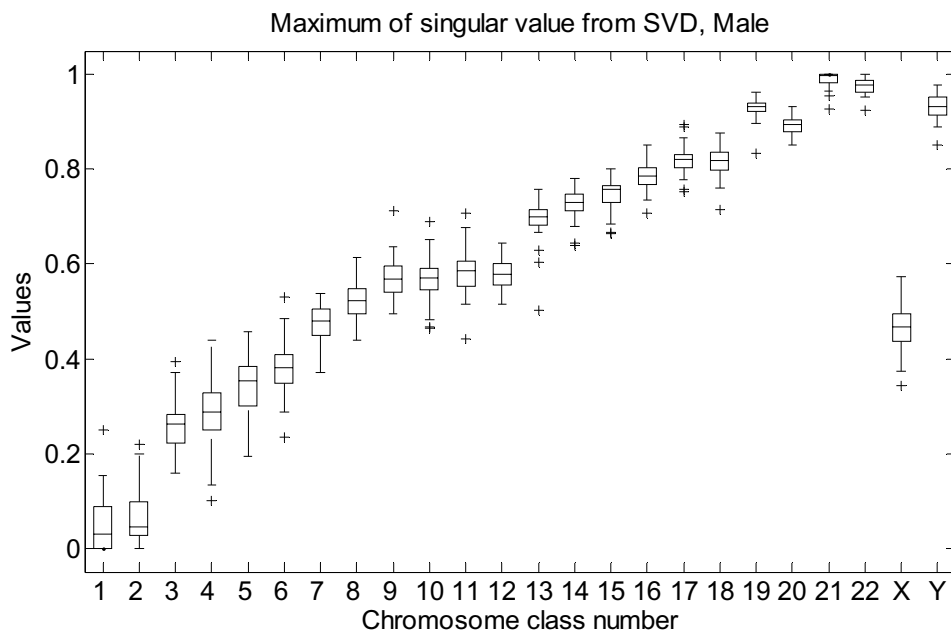
ความยาวเส้นรอบรูปของภาพโครโมโซมไล่จากขนาดใหญ่ไปหาเล็กจากคู่ที่ 1 จนถึงคู่ที่ 22 แต่โครโมโซม X จะอยู่ในช่วงประมาณกึ่งกลางของข้อมูล และโครโมโซม Y มีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มเดียวกับพื้นที่ภาพโครโมโซม ดังภาพประกอบ 4-5



ภาพประกอบ 4-5 ข้อมูลสถิติของความยาวเส้นรอบรูปภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง

- **Singular value decomposition**

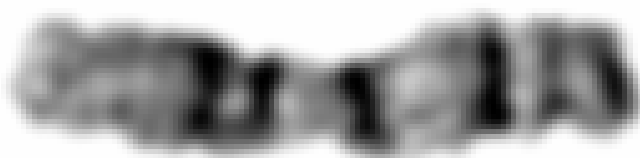
ค่าสูงสุดของ Singular value จากวิธี SVD ของภาพโครโมโซมไล่จากค่าต่ำไปหาค่าสูงจากคู่ที่ 1 จนถึงคู่ที่ 22 แต่โครโมโซม X จะอยู่ในช่วงประมาณกึ่งกลางของข้อมูล และโครโมโซม Y มีค่ามากที่สุด ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มตรงกันข้ามกับพื้นที่ภาพโครโมโซม ดังภาพประกอบ 4-6



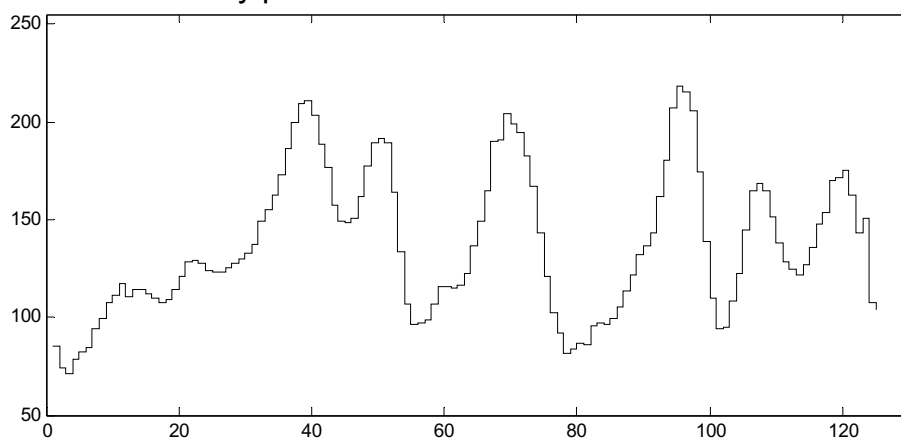
ภาพประกอบ 4-6 ข้อมูลสถิติของค่าสูงสุดของ Singular value ของภาพโครโมโซมทั้งชายและหญิง

- **Band profile**

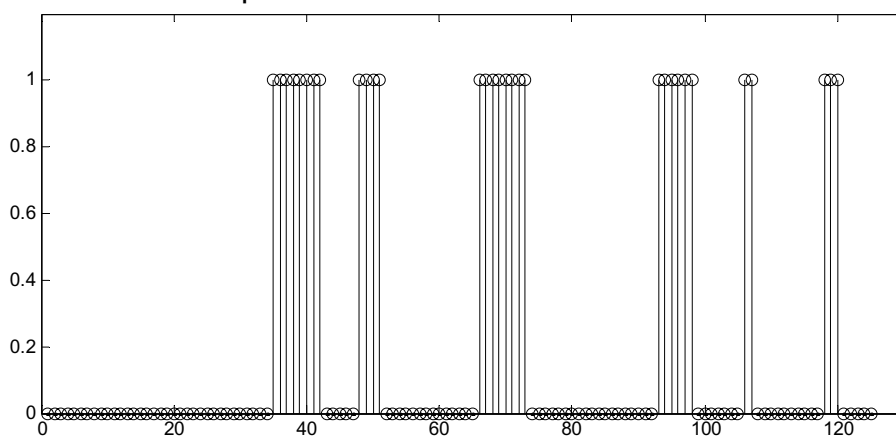
ภาพประกอบ 4-7 แสดงตัวอย่างการหา Density profile และ Band profile จากโครโมโซมคู่ที่ 1 ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับลักษณะแถบลายของโครโมโซม และชักตัวอย่าง Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง ดังภาพประกอบ 4-8



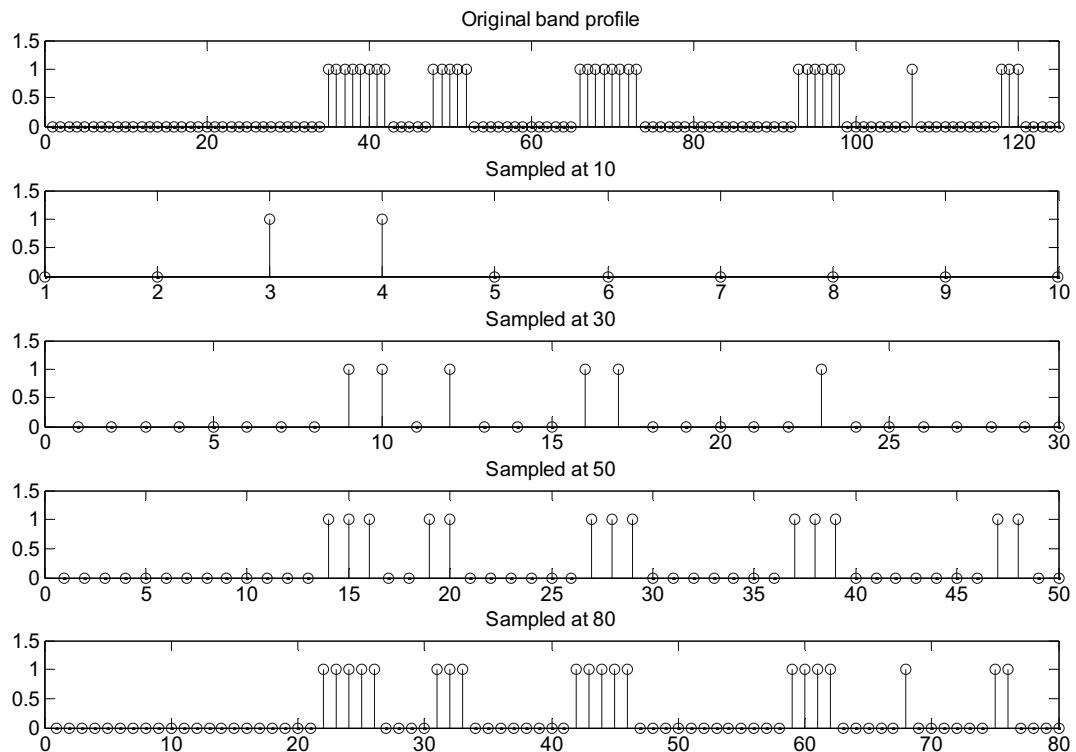
Density profile of Chromosome class number 1



Band profile of Chromosome class number 1



ภาพประกอบ 4-7 Density profile และ Band profile ของ โครโมโซมคู่ที่ 1



ภาพประกอบ 4-8 การชักตัวอย่าง Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง

4.4 ผลของการจัดกลุ่มภาพ

ประสิทธิภาพของโครงข่ายประสาทเทียมของการจัดกลุ่มขั้นแรกของชายและหญิง คือ 92.39% และ 89.49% ตามลำดับ (การจัดกลุ่มภาพขั้นแรกไม่มีการชักตัวอย่างจาก Density profile ดังนั้นประสิทธิภาพของขั้นแรกจะเท่ากันหมด)

ผลการจัดกลุ่มของขั้นที่ 2 (Final result) พบว่าประสิทธิภาพที่ดีที่สุด คือ 68.19% (สำหรับเพศหญิง เมื่อชักตัวตัวอย่างมา 30 ตัวอย่าง) และ 61.30% (สำหรับเพศชาย เมื่อชักตัวตัวอย่างมา 50 ตัวอย่าง) ดังตารางที่ 4-1

จำนวนการชักตัวอย่างมีผลต่อการจัดกลุ่มภาพซึ่งจากการทดลอง เมื่อชักตัวอย่างเป็น 10 และ 80 ตัวอย่างพบว่า ประสิทธิภาพเริ่มลดลง ซึ่งอาจเป็นเพราะจำนวนการชักตัวอย่างที่มากหรือน้อยเกินไป

เวลาที่ใช้ประมวลผลจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนการชักตัวอย่างเพิ่มขึ้น (ซึ่งส่งผลให้อินพุตของโครงข่ายประสาทเทียมมากขึ้น) แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อมากนักเนื่องจากช่วงเวลาต่างกัมน้อยมาก

การจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิงสูงกว่าเพศชายเนื่องจากจำนวนประเภทของโครโมโซมของเพศชายมากกว่าเพศหญิง (เพศหญิงมี 23 ประเภทแต่เพศชายมี 24 ประเภท)

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพทั้ง 6 กลุ่ม โดยเปรียบเทียบรายละเอียดต่างๆ (Real) และไม่คิดการจัดกลุ่มที่ความผิดพลาดจากชั้นแรก (Ignore) ดังตารางที่ 4-2

เนื่องจากเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพจากตารางประกอบ 4-1 พบว่าการชักตัวอย่างที่ค่า 30 และ 50 ตัวอย่างเป็นค่าที่ให้ประสิทธิภาพดี และเอาข้อมูลที่เกี่ยวข้องจากตารางประกอบ 4-2 มาพิจารณาดังตารางประกอบ 4-3 และตารางประกอบ 4-4

เมื่อชักตัวอย่างจาก Band profile ที่ 30 ตัวอย่าง ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของ Classifier G1, G4 และ G5 มีประสิทธิภาพดี และ Classifier G2, G3 ค่อนข้างดี แต่ Classifier G6 มีประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มค่อนข้างต่ำ ดังตารางประกอบ 4-3

เมื่อชักตัวอย่างจาก Band profile ที่ 50 ตัวอย่าง ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของ Classifier G1, G4 และ G5 มีประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มดี (ยกเว้น Classifier G1 เมื่อใช้กับเพศชาย ค่าที่ได้อยู่ในกลุ่มค่อนข้างดี) และ Classifier G2, G3 ค่อนข้างดี แต่ Classifier G6 มีประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มค่อนข้างต่ำ ดังตารางประกอบ 4-4

ผลที่ได้จากตารางประกอบ 4-3 และตารางประกอบ 4-4 มีแนวโน้มค่อนข้างไปทางเดียวกันเดียวกันทั้งเพศชายและหญิง คือเมื่อชักตัวอย่าง Band profile ที่ 30 ตัวอย่าง Classifier G1 จะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าชักตัวอย่าง Band profile ที่ 50 ตัวอย่าง แต่เมื่อพิจารณา Classifier G2 และ G3 พบว่าควรชักตัวอย่าง Band profile ที่ 50 ตัวอย่าง จะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าชักตัวอย่าง Band profile ที่ 30 ตัวอย่าง ส่วน Classifier G4, G5 และ G6 ยังไม่ชัดเจนว่าการชักตัวอย่างที่ค่าใดจะดีกว่ากัน ดังภาพประกอบ 4-9

ตารางประกอบ 4-1 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

Density profile (sample number)	Female			Male		
	Efficiency (%)		Time (second)	Efficiency (%)		Time (second)
	1st classifier	2nd classifier		1st classifier	2nd classifier	
10	92.39	57.68	3.53	89.49	52.75	3.58
30	92.39	68.19	3.54	89.49	60.29	3.58
50	92.39	67.03	3.55	89.49	61.30	3.59
80	92.39	53.48	3.57	89.49	48.04	3.60

ตารางประกอบ 4-2 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมในชั้นที่ 2

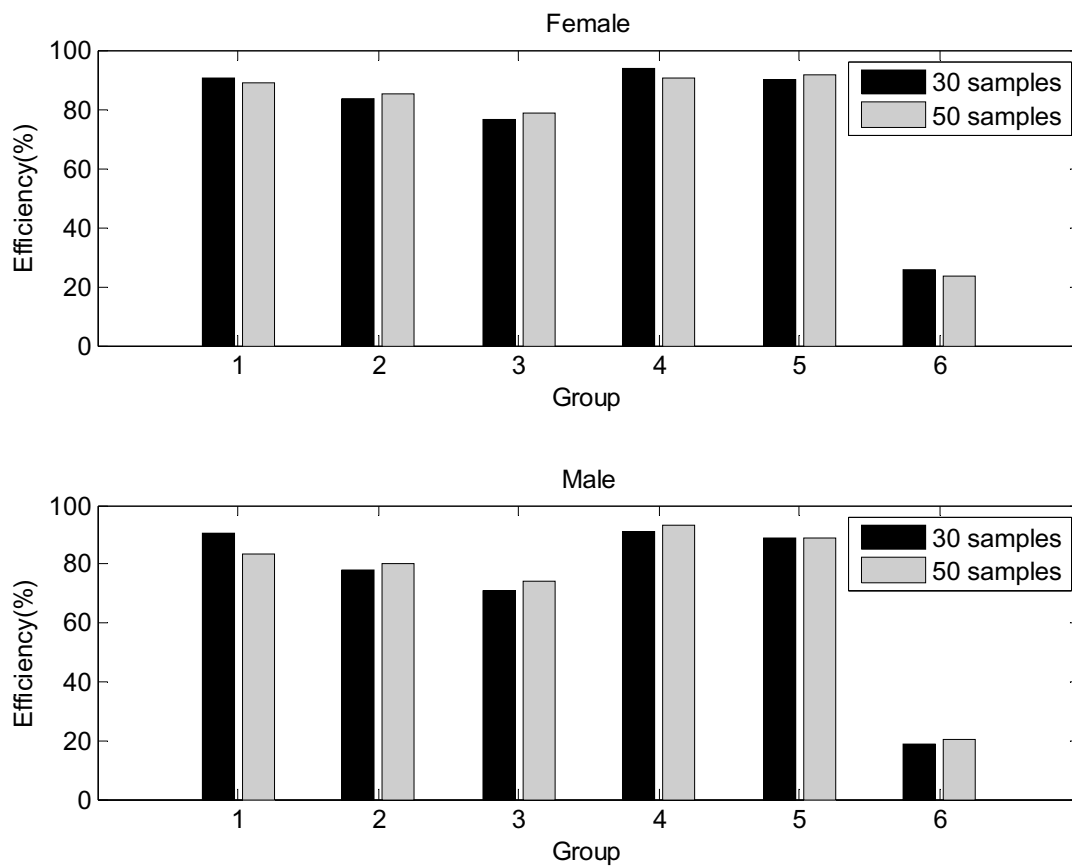
Density profile (sample number)	Group	Efficiency, Female (%)		Efficiency, Male (%)	
		(Real)	(Ignore)	(Real)	(Ignore)
10	1	83.33	84.03	79.17	82.61
	2	57.08	61.43	48.33	54.46
	3	62.14	64.29	54.10	55.82
	4	75.56	82.93	68.89	86.11
	5	71.67	92.14	65.56	92.19
	6	20.83	22.22	30.00	31.27
30	1	90.00	90.76	86.67	90.43
	2	77.50	83.41	69.17	77.93
	3	74.05	76.60	68.72	70.90
	4	84.44	93.83	72.78	90.97
	5	70.00	90.00	63.33	89.06
	6	24.17	25.78	18.15	18.92
50	1	88.33	89.08	80.00	83.48
	2	79.17	85.20	71.25	80.28
	3	75.95	78.38	72.05	74.34
	4	81.67	90.74	74.44	93.06
	5	71.11	91.43	63.33	89.06
	6	22.08	23.56	19.63	20.62
80	1	55.00	55.00	58.33	60.87
	2	50.42	54.26	42.08	47.42
	3	60.95	63.05	59.23	61.11
	4	67.78	75.31	57.22	71.53
	5	64.44	82.86	57.22	80.47
	6	24.17	25.78	19.63	20.54

ตารางประกอบ 4-3 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพในชั้นที่ 2 เมื่อชักตัวอย่าง Band profile ที่ 30

Group	Female		Male	
	(Real)	(Ignore)	(Real)	(Ignore)
1	90.00	90.76	86.67	90.43
2	77.50	83.41	69.17	77.93
3	74.05	76.60	68.72	70.90
4	84.44	93.83	72.78	90.97
5	70.00	90.00	63.33	89.06
6	24.17	25.78	18.15	18.92

ตารางประกอบ 4-4 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพในชั้นที่ 2 เมื่อชักตัวอย่าง Band profile ที่ 50

Group	Female		Male	
	(Real)	(Ignore)	(Real)	(Ignore)
1	88.33	89.08	80.00	83.48
2	79.17	85.20	71.25	80.28
3	75.95	78.38	72.05	74.34
4	81.67	90.74	74.44	93.06
5	71.11	91.43	63.33	89.06
6	22.08	23.56	19.63	20.62



ภาพประกอบ 4-9 ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมโดยแจกแจงเป็น 6 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบการชักตัวอย่างจาก Band profile จำนวน 30 และ 50 ตัวอย่าง ทั้งเพศชายและหญิง

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ในบทนี้กล่าวถึงบทสรุปของการวิจัยและข้อเสนอแนะสำหรับผู้ต้องการนำงานวิจัยนี้ไปอ้างอิงหรือพัฒนาต่อ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

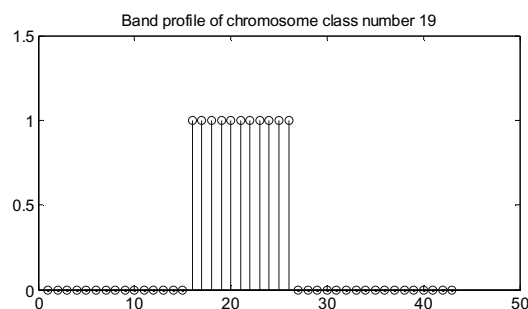
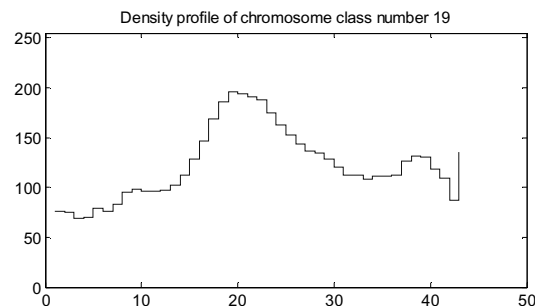
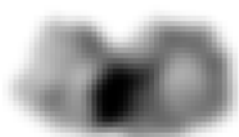
5.1 บทสรุป

การแบ่งกลุ่มภาพโครโมโซมเป็นกลุ่มย่อยในขั้นแรก ก่อนใช้โครงข่ายประสาทเทียมในการจัดเรียงกลุ่มภาพโครโมโซมออกเป็น 24 ประเภท เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้กับโครงข่ายประสาทเทียม โดยการแบ่งตามลักษณะเด่นอย่างคร่าวๆก่อน เพื่อลดกลุ่มของการจัดให้ลดลง ซึ่งลักษณะเด่นที่ใช้ คือ พื้นที่ของภาพโครโมโซม พื้นที่ของแถบลายภาพโครโมโซม ความยาวของเส้นรอบรูป และค่าสูงสุดจาก Singular value แต่โครโมโซมที่จัดผิดกลุ่มในขั้นแรกไม่ได้ถูกนำไปจัดผิดกลุ่มที่ถูกต้อง ซึ่งส่วนใหญ่ความผิดพลาดของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมเกิดจากข้อมูลของภาพโครโมโซมเอง เช่น การย้อมสีของแถบลายโครโมโซม หรือจุดที่ซ้อนทับกันของโครโมโซม 2 แท่งขึ้นไป หรือจอห์นซ้อนทับตัวเอง ทำให้รายละเอียดของภาพไม่ชัดเจนหรือเสียหาย หรือในกรณีลักษณะของภาพโครโมโซมที่อยู่ในประเภทเดียวกันก็มีข้อมูลที่แตกต่างกันถึงแม้ว่าจะมาจากเซลล์เดียวกันก็ตาม แต่ก็แก้ไขโดยการปรับข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบเดียวกัน แต่ยังคงพบปัญหาในส่วนของแถบลายโครโมโซม คือจำนวนข้อมูลและแถบลายของโครโมโซมไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงชักตัวอย่างข้อมูลมาเพื่อลดจำนวนข้อมูลและปรับให้เท่ากันและเนื่องจากจำนวนประเภทของเพศหญิงน้อยกว่าเพศชายจึงทำให้ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มของเพศหญิงดีกว่าเพศชาย

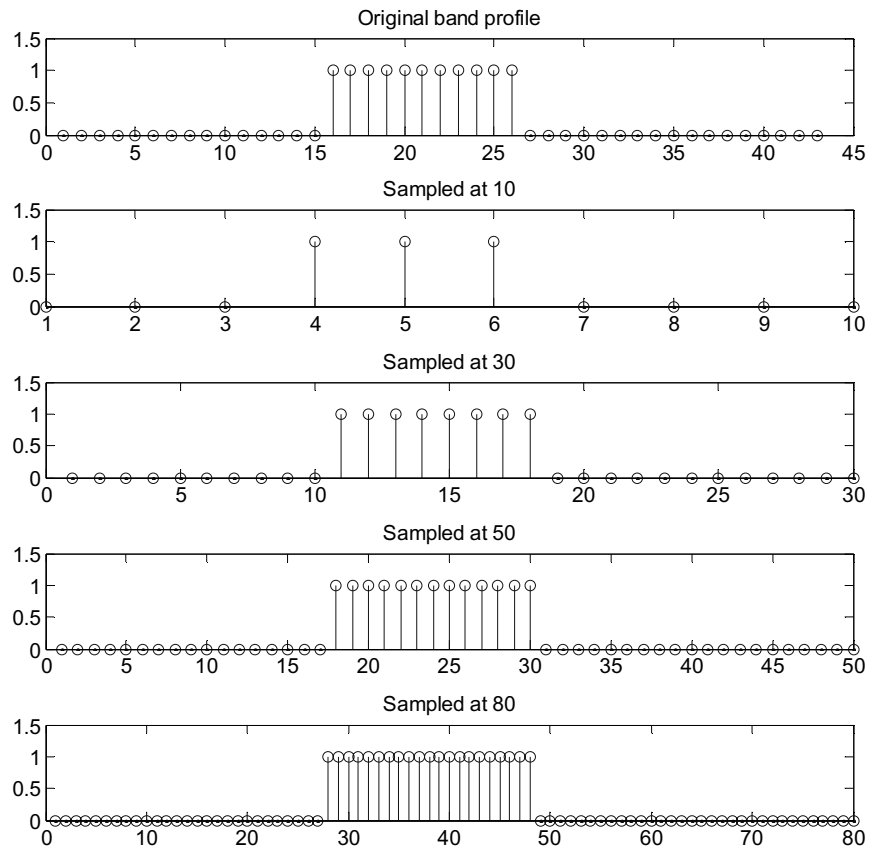
ประสิทธิภาพของการแบ่งกลุ่มภาพโครโมโซมทั้ง 6 กลุ่มย่อย พบว่าหากชักตัวอย่างมากเกินไปหรือน้อยเกินไปก็ส่งผลต่อประสิทธิภาพ ซึ่งการทดลองได้ผลดีจากการชักตัวอย่างที่ 30 และ 50 ตัวอย่าง โดยที่จำนวนการชักตัวอย่างของแต่ละกลุ่มย่อยก็ได้ประสิทธิภาพที่ต่างกันด้วย คือเมื่อต้องการใช้จัดกลุ่มภาพโครโมโซมของกลุ่มที่ 1 ควรชักตัวอย่างที่ 50 ตัวอย่าง แต่ภาพโครโมโซมกลุ่มที่ 2 และ 3 ควรชักตัวอย่างที่ 30 ตัวอย่าง แต่กลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ยังไม่สามารถระบุให้ชัดเจนได้ ดังนั้น หากเปลี่ยนโครงสร้างของโปรแกรมโดยใช้จำนวนการชักตัวอย่างที่เหมาะสมกับภาพโครโมโซมแต่ละกลุ่ม อาจทำให้ประสิทธิภาพของการจัดกลุ่มภาพโดยรวมเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม

ข้อมูลที่ได้นี้เป็นผลจากการทดลองจากภาพทั้งหมด 60 ภาพและลักษณะเด่นดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งหากมีการเปลี่ยนแปลงส่วนใดส่วนหนึ่ง ผลที่ได้ อาจมีการเปลี่ยนแปลง

เมื่อลองพิจารณาในกลุ่ม 6 พบว่าโครโมโซมที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ มีความยาวค่อนข้างสั้น นิสัยมาก และลักษณะของแถบลายค่อนข้างต่างกันมากเมื่อเปรียบเทียบกับภาพที่มีรูปแบบใกล้เคียงกัน ซึ่งในส่วนที่มีความยาวที่สั้นเกินไปได้ทำการสร้างค่าจำลองขึ้นมาใหม่คล้ายๆกับการทำอินเตอร์โพลเดต เพื่อให้ความยาวของข้อมูลมีความยาวที่เท่ากันของแต่ละชุดข้อมูล ซึ่งวิธีนี้ดีกว่าการเติมค่าศูนย์ (Zero padding) เนื่องจากหากเติมศูนย์เพิ่มไปในชุดข้อมูลจะมีผลเหมือนกับเพิ่มส่วนของโครโมโซมที่ย้อมสีไม่ติดดังภาพประกอบ 5-1 และภาพประกอบ 5-2 และเมื่อพิจารณาในส่วนของแถบลายพบว่า แถบลายของโครโมโซมกลุ่มที่ 6 นี้ ถึงแม้ว่ามีน้อย แต่เมื่อเทียบความยาวให้เท่ากัน แถบลายของโครโมโซมกลุ่ม 6 นี้จะกว้างมาก ดังนั้นหากลักษณะของแถบลายของโครโมโซมกลุ่มนี้มีความยาวหรือตำแหน่งของแถบลาย(หลังการปรับชุดข้อมูล) ต่างกันเพียงไม่กี่พิกเซลก็อาจมีผลต่อรูปแบบที่ใช้สอนและทดสอบเมื่อใช้โครงข่ายประสาทเทียมได้



ภาพประกอบ 5-1 Density profile และ Band profile ของโครโมโซมคู่ที่ 19

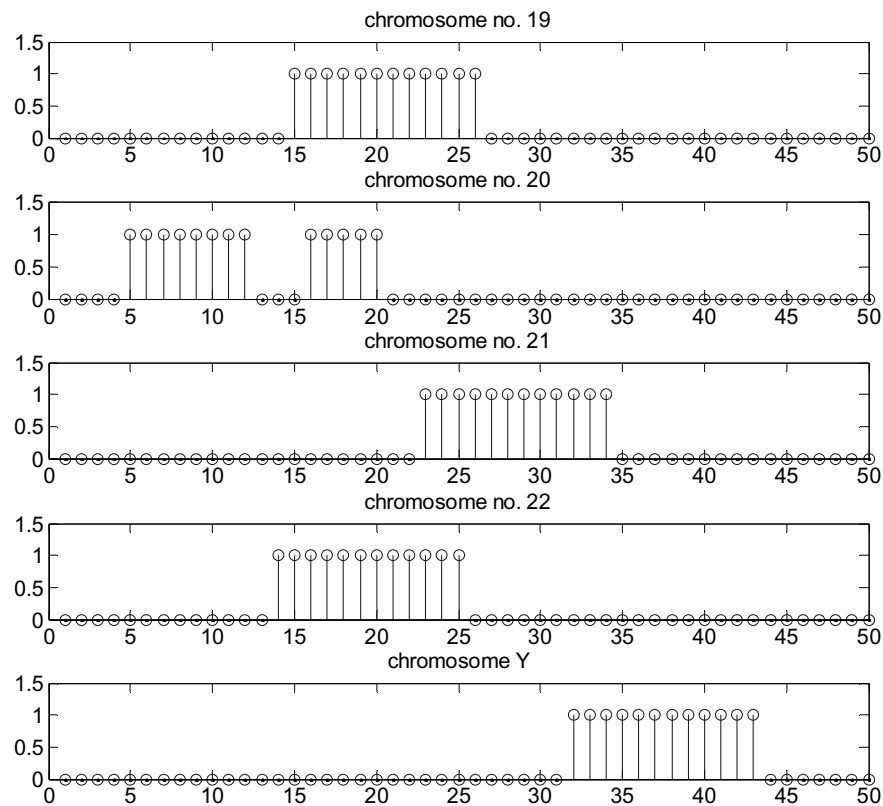


ภาพประกอบ 5-2 การซ้กตัวอย่าง Band profile ที่ 10, 30, 50 และ 80 ตัวอย่าง

เมื่อลองพิจารณากลุ่ม 6 โดยเปรียบเทียบในกลุ่มเดียวกัน รูปภาพของโครโมโซมแต่ละแท่ง และลักษณะของ Band profile ค่อนข้างใกล้เคียงกัน ดังภาพประกอบ 5-3 และ ภาพประกอบ 5-4



ภาพประกอบ 5-3 ตัวอย่างภาพโครโมโซมคู่ที่ 19, 20, 21, 22 และโครโมโซม Y



ภาพประกอบ 5-4 ตัวอย่างการชักตัวอย่าง Band profile ที่ 50 ตัวอย่างของโครโมโซมคู่ที่ 19, 20, 21, 22 และ โครโมโซม Y

5.2 ข้อเสนอแนะ

ภาพโครโมโซมที่ใช้สอนและทดสอบมีรายละเอียดของแถบลายโครโมโซมและลักษณะของโครโมโซมที่โค้งงอเกินไป ซึ่งควรมีภาพโครโมโซมซึ่งเป็นมาตรฐานเพื่อใช้ทดสอบที่ดีกว่านี้ แต่ก็ค่อนข้างยากที่จะได้ภาพที่มีรายละเอียดดีพอ ดังนั้นเมื่อได้ภาพที่มีรายละเอียดชัดเจนควรเก็บข้อมูลไว้เป็นฐานข้อมูล หรือสร้างไว้เป็นมาตรฐานสำหรับงานที่จะพัฒนาต่อไปในอนาคต

ภาพโครโมโซมที่โค้งงอเกินไปควรมีการปรับภาพโครโมโซมให้ตรงและมีการพัฒนาการแยกภาพโครโมโซมที่ซ้อนทับกันออกจากกันเพื่อให้ระบบคอมพิวเตอร์ช่วยเหลือนี้ มีความเป็นอัตโนมัติมากขึ้น

ลักษณะของแถบลายโครโมโซมเป็นส่วนสำคัญของการจัดกลุ่มภาพ แต่ส่วนใหญ่พบว่าแถบลายของโครโมโซมค่อนข้างต่างกันตามระยะการแบ่งเซลล์ แต่ก็ยังคงมีส่วนที่ใกล้เคียงบ้าง ดังนั้น

หากก่อนจัดกลุ่มภาพโครโมโซมให้เลือกจำนวนแถบลายตามระยะแบ่งเซลล์(ตามการประมาณผลรวมของจำนวนแถบลายทั้งหมดของภาพแฮพลอยด์เซต) อาจแบ่งเป็น 5 กลุ่ม (300, 400, 550, 700 และ 850 แถบ) หลังจากนั้นจึงค่อยผ่านกระบวนการวิเคราะห์ภาพอาจเพิ่มประสิทธิภาพได้แต่ต้องมีตัวอย่างที่มากพอสำหรับเป็นฐานข้อมูลของโปรแกรม

บรรณานุกรม

- [1] J. H. Tjio and A Levan., “The chromosome number in man”, *Hereditas* 42, 1956. pp. 1-6.
- [2] J. Piper, E. Granum, D. Rutovitz and H. Ruttledge, “Automation of chromosome analysis”, *Signal Process* 2, 1980. pp. 203-221.
- [3] G. M. Hampton, et al., “subregional mapping of chromosome 4 in cervical carcinoma Sci. 93”, *Simultaneous assessment of loss of heterozygosity at multiple microsatellite loci using semi-automated fluorescence-based detection, Proc. Natl Acad.*, U.S.A., 1996. pp. 6704-6709.
- [4] K Truong, et al., “Quantitative fish determination of chromosome 3 arm imbalances in lung tumors by automated image cytometry”, *Med. Sci. Monit.* 10, 2004. pp. 426-432.
- [5] D. Boehm, et al. “Rapid detection of subtelomeric deletion/duplication by novel real-time quantitative PCR using SYBR-Green dye”, *Human Mutation* 23, 2004. pp. 368-378.
- [6] J. M. Kyan, L. Guan, R. M. Amison, and J. C. Cogswell. “Feature extraction of chromosomes from 3D confocal microscope images 1999” *Int. Conf. on Image processing Vol. 2*, 1999. pp. 24-28.
- [7] G. L. Shaff, N. Tommerup “An International system for human cytogenetic nomenclature (2005)”, S. Karger, Basel. 2005. pp. 6-31.
- [8] X. Wang, et al., “Development and evaluation of automated systems for detection and classification of banded chromosomes”, *current status and future perspectives, Journal of physics D: Applied physics*, 2005. pp. 2536-2542.
- [9] S. Delshadpour, “Reduced size multilayer perceptron neural network for human chromosome classification” *Proceedings of the 25th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Cancun, Mexico, September 17-21, 2003. pp. 2249-2252.
- [10] J. Cho, Y. S. Ryu, and H. S. Woo, “A study for the hierarchical artificial neural network model for giemsa stained human chromosome classification”, *Proceedings of the 26th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, San Francisco, CA, U.S.A., September 1-5, 2004, 2004. pp. 4588-4591.
- [11] P. W. Sweeney Jr., T. M. Musavi, and N. J. Guidi, “Classification of chromosomes using a probabilistic neural network”, *Cytometry* 16, 1994. pp. 17-24.

- [12] A. M. BUDAWI, “Chromosomes classification based on neural networks, fuzzy rule based and template matching classifiers” *IEEE*, 2004. pp 383-387.
- [13] ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, *วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน*, 2539.
- [14] National Human Genome Research Institute (NHGRI). (2008, Nov.). *Chromosome Picture* [Online]. Available: <http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/chromosome.php>
- [15] University of Washington, Department of Pathology. (2008, Nov.). *Idiogram Album : Human* [Online]. Available: <http://www.pathology.washington.edu/research/cytopages/idiograms/human/>
- [16] R. F. Graf, *Modern Dictionary of Electronics*, Oxford: Newnes, 1999. pp. 569.
- [17] A. McAndrew, “Introduction to Digital Image Processing with MATLAB”, Thomson Learning, Inc., Massachusetts, USA, 2004. pp. 378-379.
- [18] The MathWorks™. (2008, Oct.). *Image Processing Toolbox™ 6 User's Guide* [Online]. Available: http://www.mathworks.com/access/helpdesk/help/pdf_doc/images/images_tb.pdf
- [19] G. J. Awcock, and R. Thomas, *Applied Image Processing*, Singapore: McGraw-Hill, Inc., 1995.
- [20] M. Sonka, V. Hlavac, and R. Boyle, *Image Processing, Analysis, and Machine Vision, 3rd ed.*, Ontario: Thomson Learning, 2008.
- [21] R. C. Gonzalez, and R. E. Woods, *Digital Image Processing, 2nd ed.*, New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 2001.
- [22] Otsu, N. 1979. “A threshold selection method from gray-level histograms”, *IEEE Trans, Systems, Man and Cybernetics*, vol. 9, no. 1, pp. 62-66.
- [23] K. William, Pratt., *Digital Image Processing*, New York, John Wiley & Sons, Inc., 1991. pp. 634.
- [24] J. M. Conroy, et al., “Chromosome identification using hidden markov model: comparison with neural networks, singular value decomposition, principle component analysis, and fisher discriminant analysis”. *Laboratory Investigate, November, Vol. 80, No. 11*, 2000. pp. 1629-1641.

- [25] P. D. Wasserman., *Advanced methods in neural computing*, Van, Nostrand Reinhold, New York, 1993. pp. 35-55.
- [26] T. Masters., *Practical neural network recipes*, Wiley, New York, 1993. Chapter 12.
- [27] T. Masters., *Advanced algorithms for neural networks: A C++ Sourcebook*, Wiley, New York, 1995. Chapter 4.
- [28] M. T. Musavi., *Pattern Recogn.* 25, 1992. pp. 1241-1251.
- [29] D.F. Specht., *Neural networks 1., IEEE Trans.*, 1990. pp.111-121.
- [30] D.F. Specht., *Probabilistic neural networks (original contribution), Neural networks, Vol. 3, No. 1*, 1990. pp. 109-118.
- [31] The MathWorksTM. (2008, Oct.). *Neural Network ToolboxTM 6 User's Guide* [Online]. Available: http://www.mathworks.com/access/helpdesk/help/pdf_doc/nnet/nnet.pdf

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซม

ตารางที่ ก-1 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครงโมไซมของพศชายเมื่อชักตัวอย่าง Density profile ที่ 10

		Actual																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
den10M	1	51	11	2																					
	2	9	44	2																					
	3		1	37	9	9	7																		
	4			6	26	11	1	1				1												1	
	5			10	21	28	9																		
	6		4	3	2	9	25	3																	3
	7				1	2	10	32	7	4	5	2	1	1											4
	8						1	14	37	12	6	2	1	2											1
	9						2	3	4	22	16	3	13	2		2									
	10						1	2	6	10	26	7	3		3		1								
	11				1		1	1	1	2	2	38	6	1											
	12					1	3	3	4	9	3	6	36	2		2									1
	13											1		48	2	8	13		1						
	14										1				41	4	5	5							
	15									1				3	4	34	4								
	16												1	1	6	34	2	3	1	6					
	17														3		49								
	18														6	3	3	40	2	1					
	19																	37	23	52	15				1
	20																	1	4	1	25	4	36		5
	21																		12	19	3	4	7		20
	22																						2		4
	23								2	1														50	
	24										1														30

Predicted

ตารางที่ ก-4 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครโมโซมของเพศหญิงเมื่อชักตัวอย่าง Density profile ที่ 30

den30F		Actual																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Predicted	1	55	6																					
	2	5	53	2																				
	3		1	55	3	1	2	3		1														
	4			2	44	8	4																	
	5				8	48	2	1	1															3
	6			1	4	2	39	3																
	7						6	36	9	6	1	1	1	1										1
	8						1	8	40	5		1	1	1	1									2
	9						3	7	3	41	3	1	1	1										3
	10						3	2	2	1	52	2	2	2	1	1								1
	11										52	3	3	3										1
	12					1				1	4	3	47											8
	13											2	49					9	4					
	14												3	51	1	16			1					
	15												3	3	52	3								
	16															3	30		1	6	2	4		
	17												1					50	1		7			
	18														5	1	2	3	47		1			
	19																			37	21	56	14	
	20																		2	1	17	21	3	33
	21																			4	4	6	1	13
	22																							0
	23				1					5	3		4	3	1		2							42

ตารางที่ ก-7 Confusion matrix ของการจัดกลุ่มภาพโครงโมไซมของเพศชายเมื่อชักตัวอย่าง Density profile ที่ 80

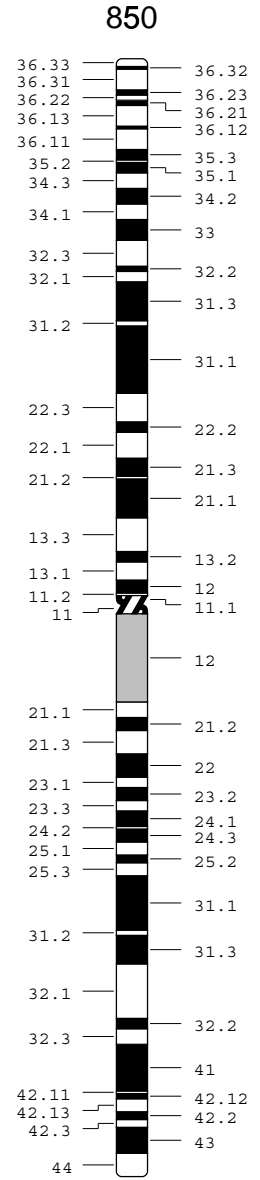
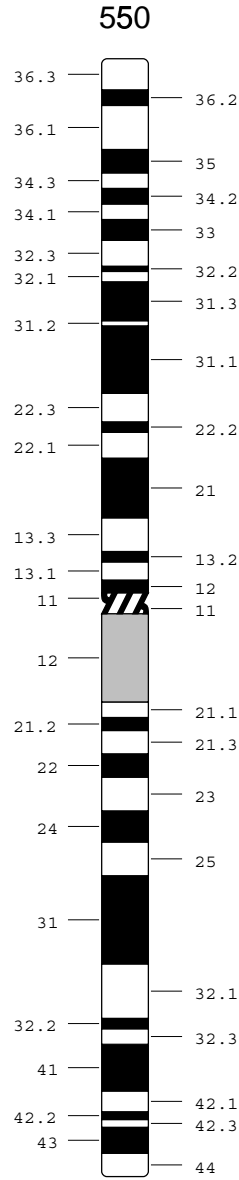
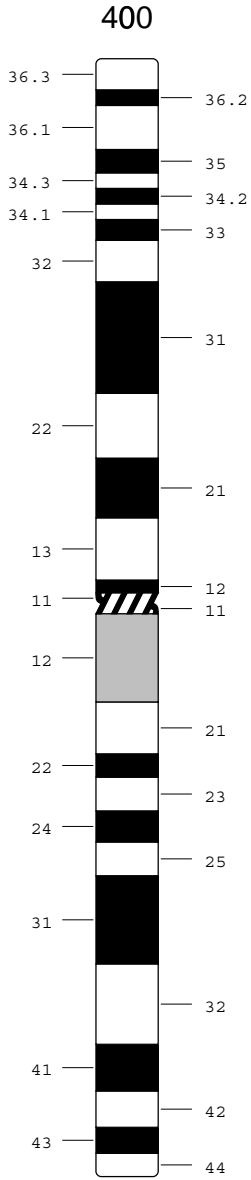
		Actual																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
den80M	1	59	44	4																					
	2	1	13																						
	3	3	54	44	33	33	4				1													4	
	4			14																					
	5			2	24	18																			
	6						9																		
	7				2	2		48	22	27	24	11	7	6	1	5									11
	8							3	32	10			1												1
	9							4	9	19			1	1											2
	10										34				2			1							1
	11											43	4												
	12					1				2		4	48												
	13									1	1	1		48	10	23	23	3	1						
	14														35	1	2	2							
	15													3	2	22	3								
	16													1	4	8	26	12	6	2	6				
	17														4	4	1	41	1	1	2				1
	18														2	1	4	1	36	1					
	19																	3	38	48	45	35			
	20																	1	1	3	2	25			9
	21																		12	16	1	13			16
	22																					0			4
	23							1	1	1	1													11	
	24																								0

Predicted

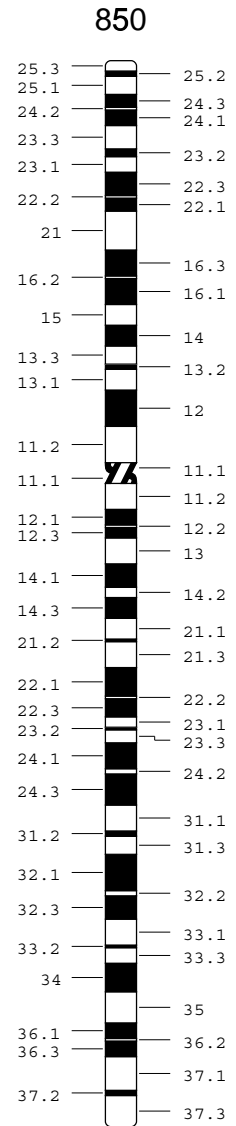
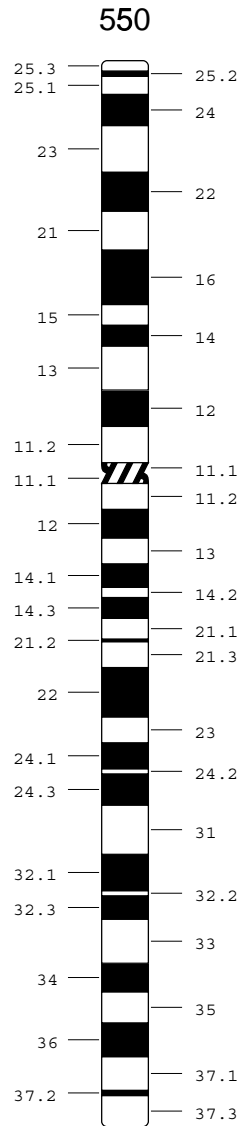
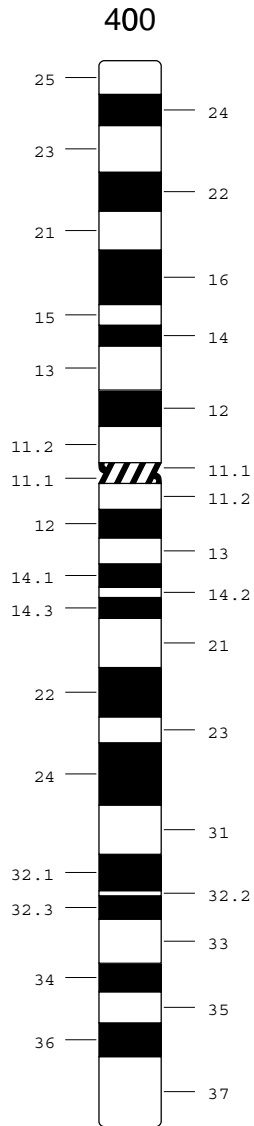
ภาคผนวก ข

แผนภาพแถบตายโครโมโซม

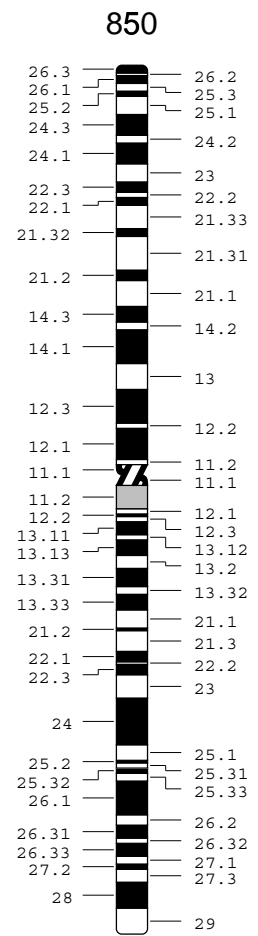
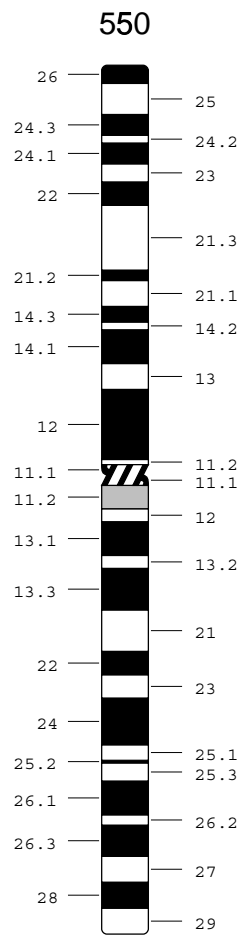
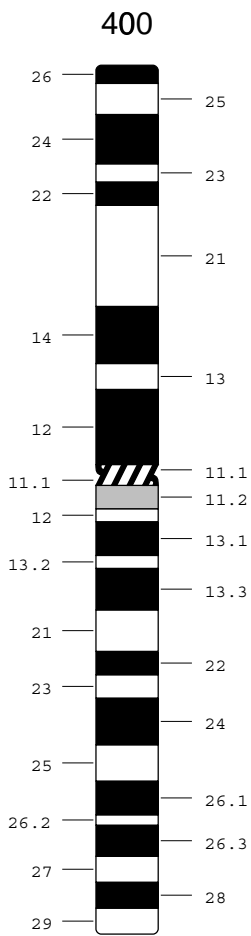
CHROMOSOME 1



CHROMOSOME 2



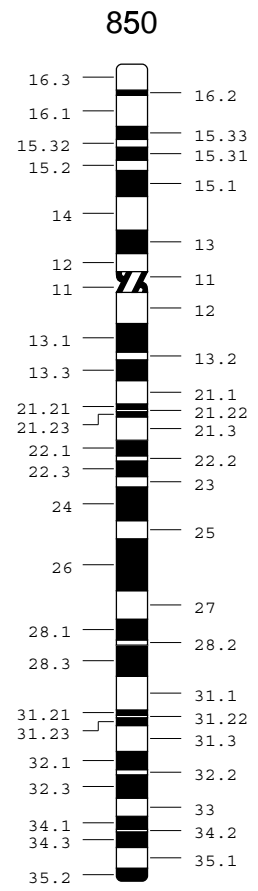
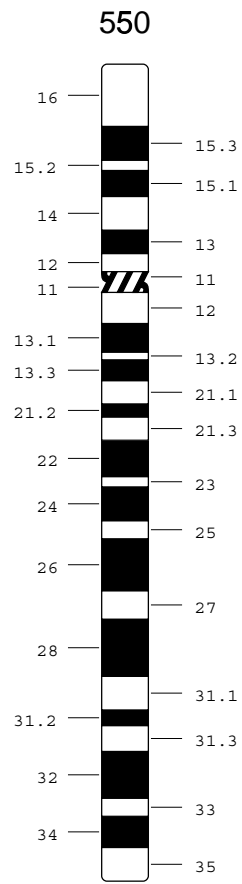
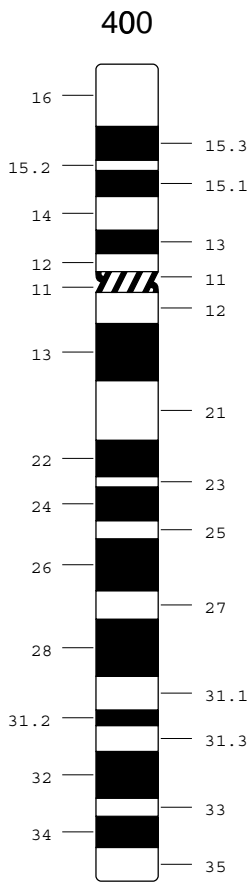
CHROMOSOME 3



p

q

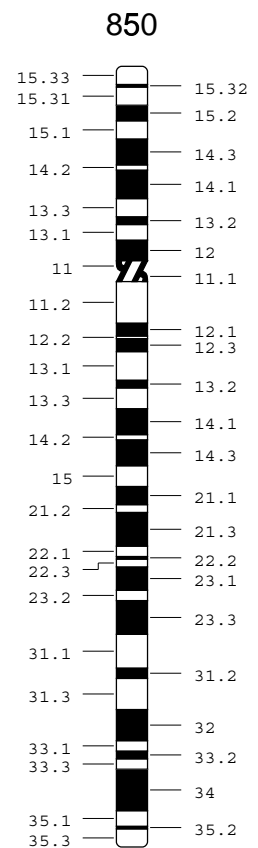
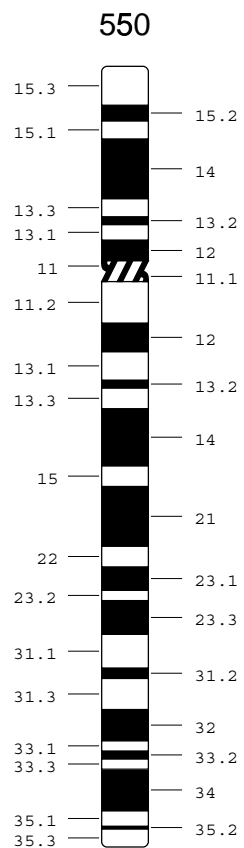
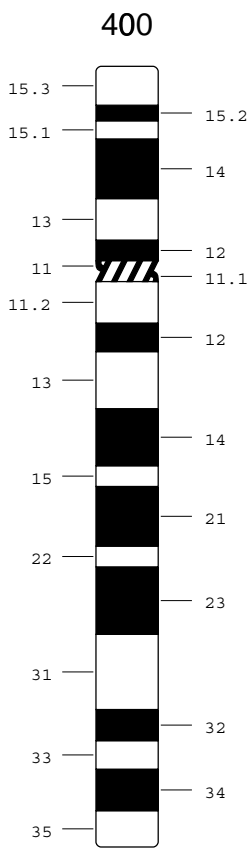
CHROMOSOME 4



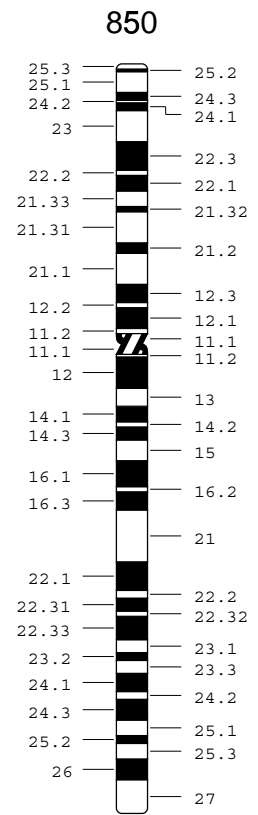
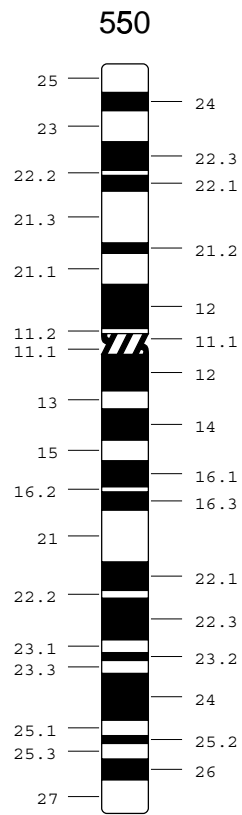
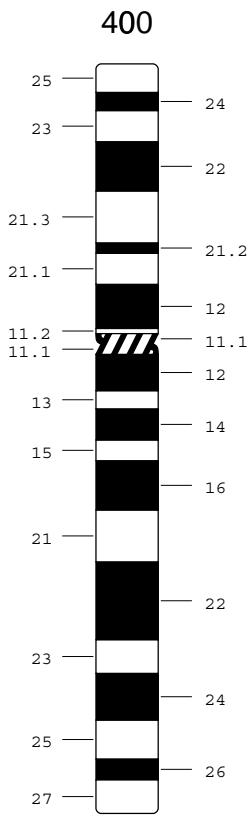
p

q

CHROMOSOME 5



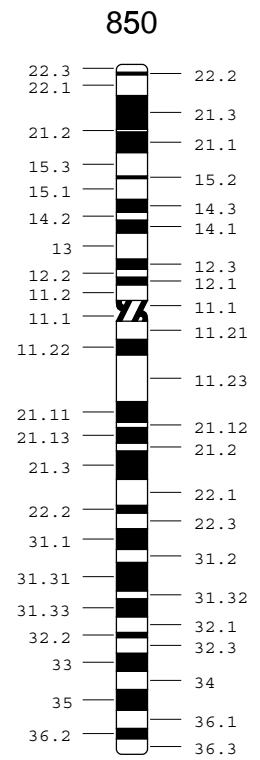
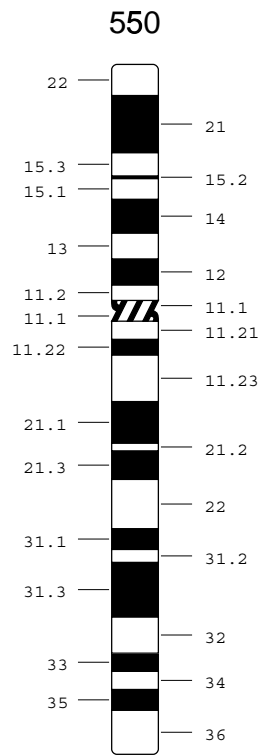
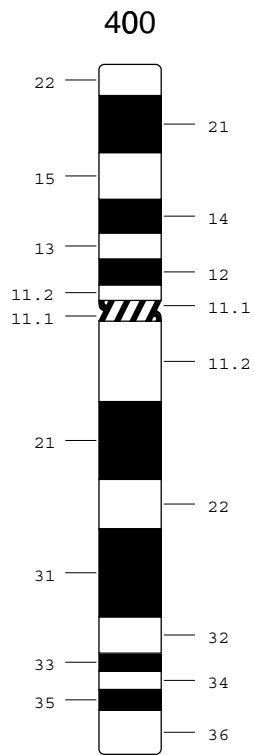
CHROMOSOME 6



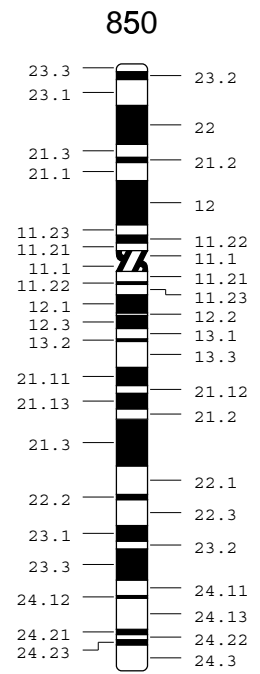
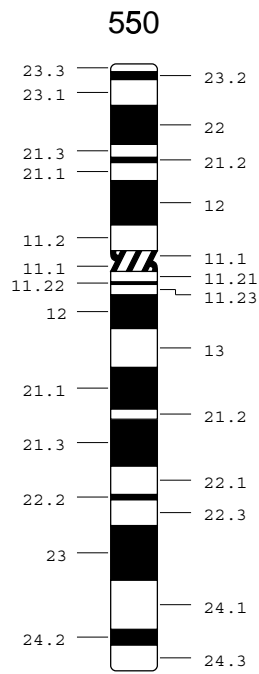
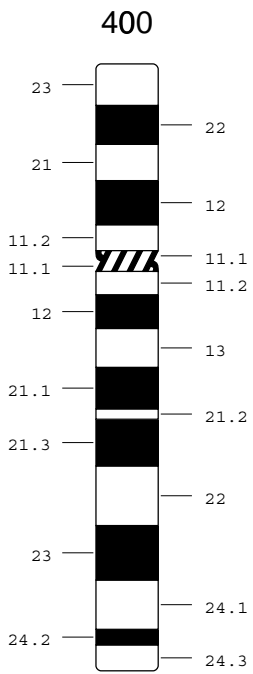
p

q

CHROMOSOME 7



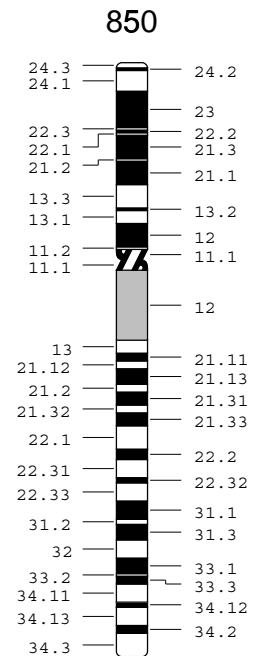
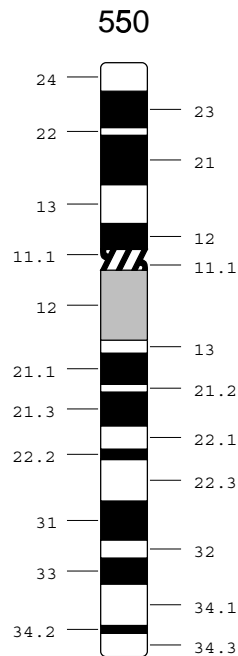
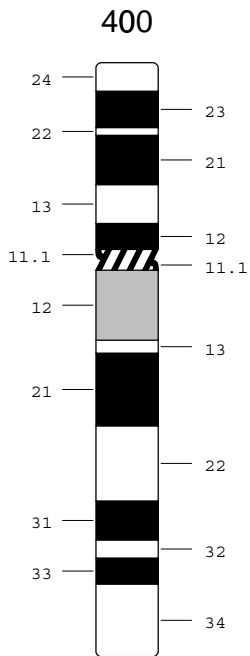
CHROMOSOME 8



p

q

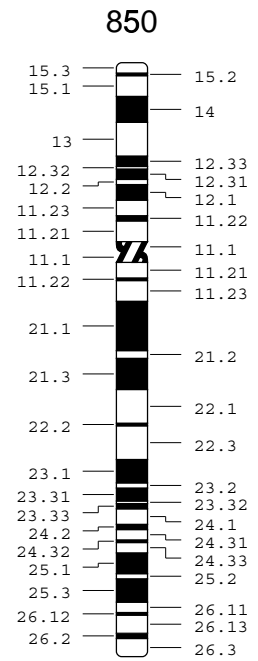
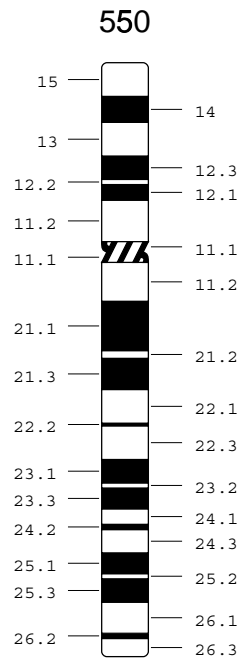
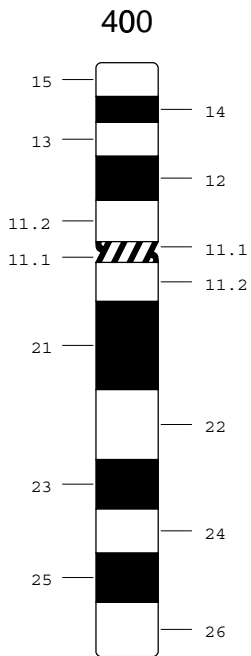
CHROMOSOME 9



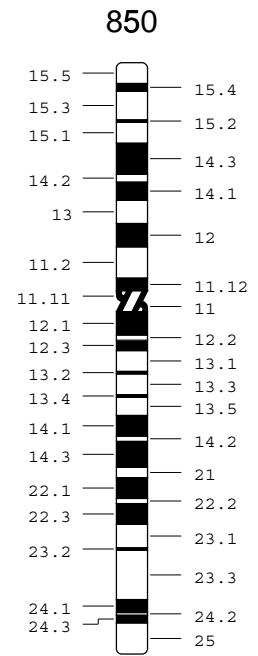
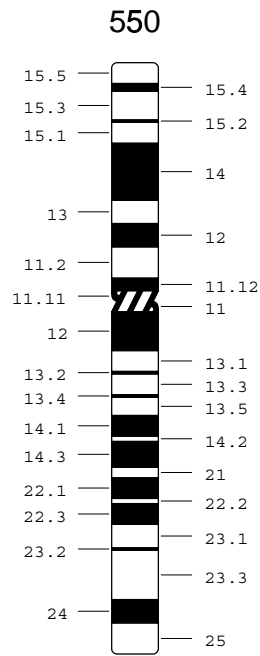
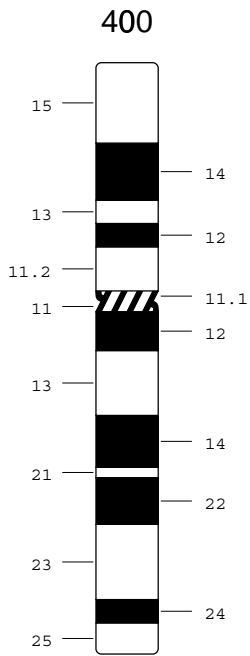
p

q

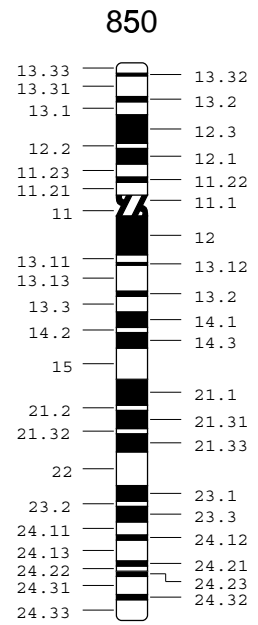
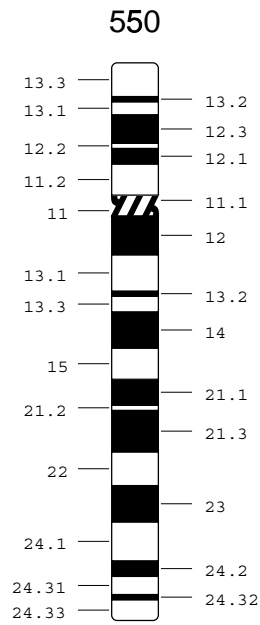
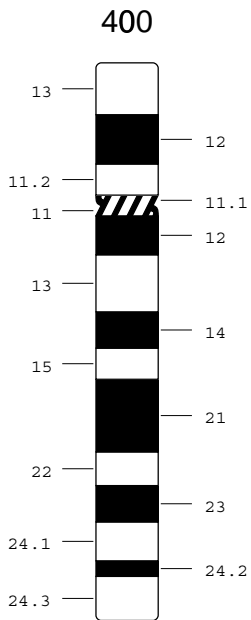
CHROMOSOME 10



CHROMOSOME 11



CHROMOSOME 12

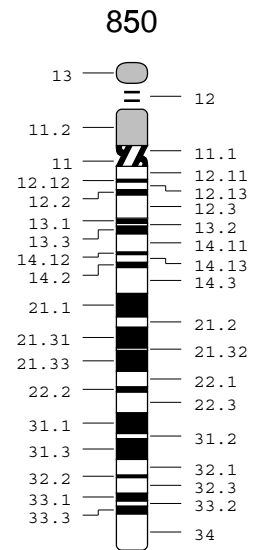
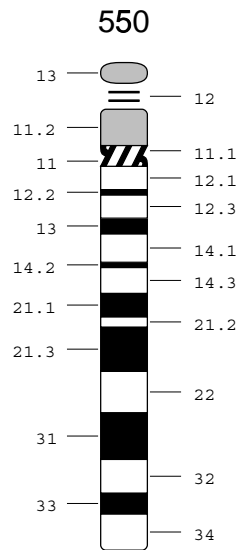
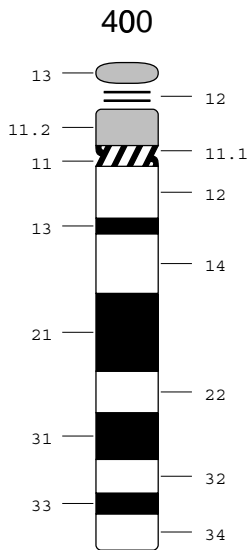


p

q

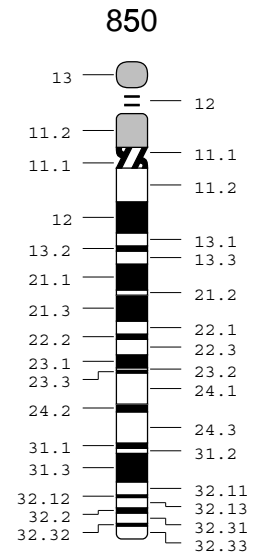
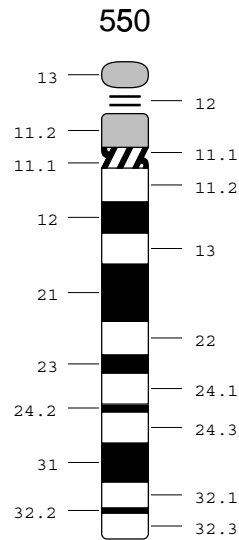
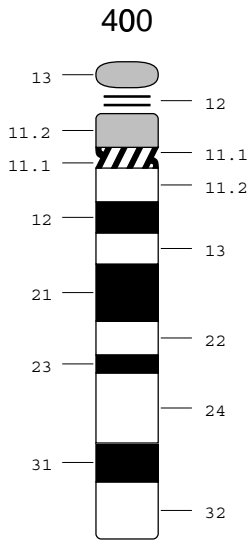
CHROMOSOME 13

p
q



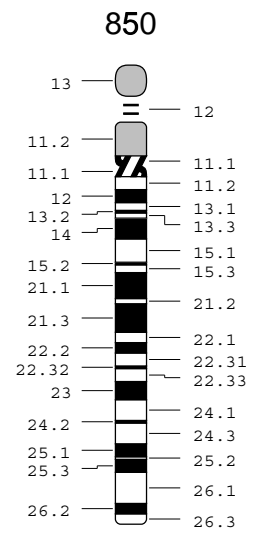
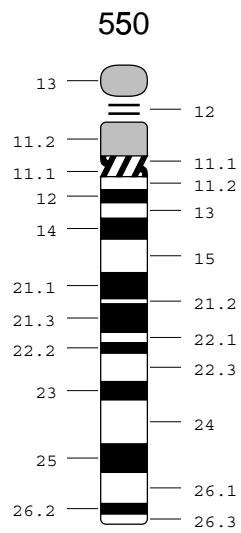
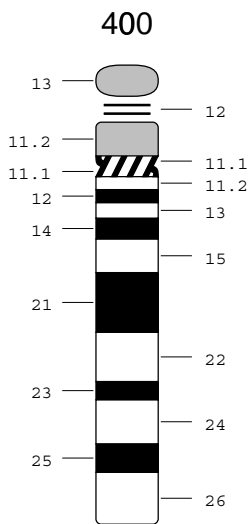
CHROMOSOME 14

p
q

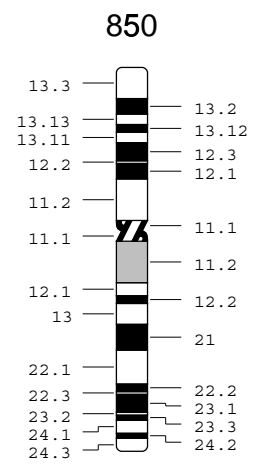
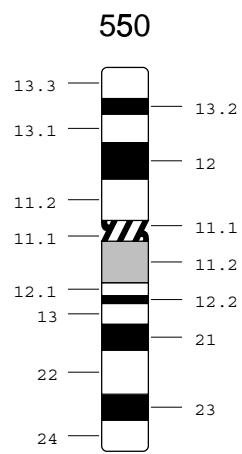
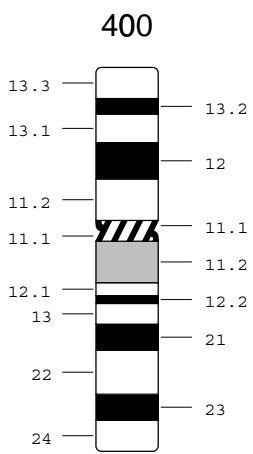


CHROMOSOME 15

p
q



CHROMOSOME 16



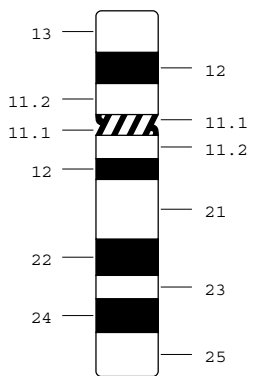
p

q

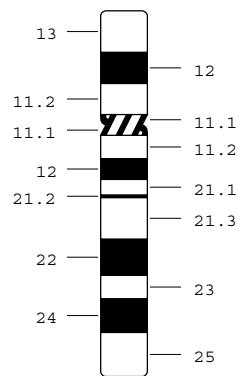
CHROMOSOME 17

p
q

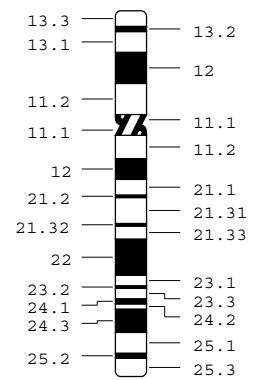
400



550



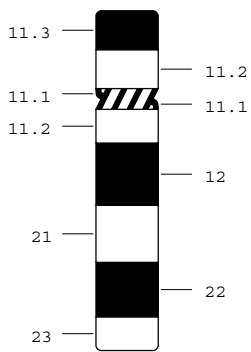
850



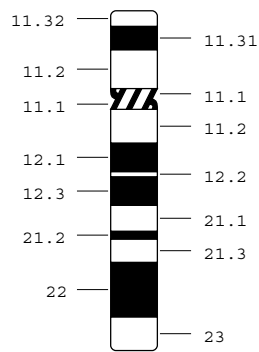
CHROMOSOME 18

p
q

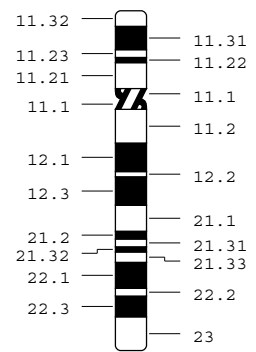
400



550



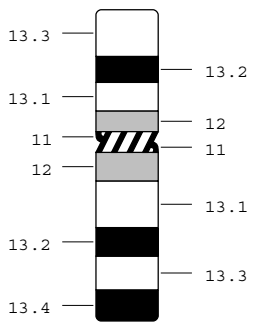
850



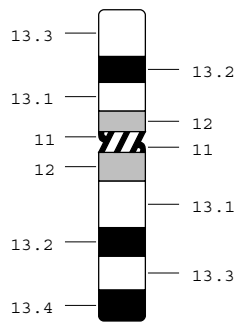
CHROMOSOME 19

p
q

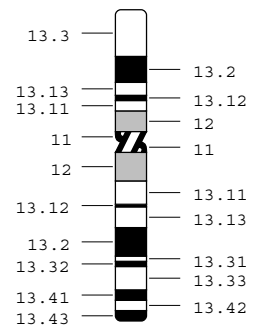
400



550



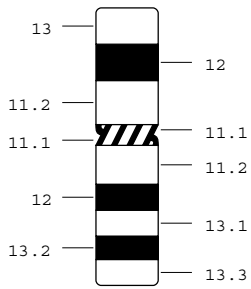
850



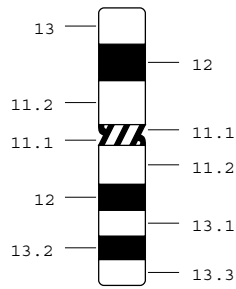
CHROMOSOME 20

p
q

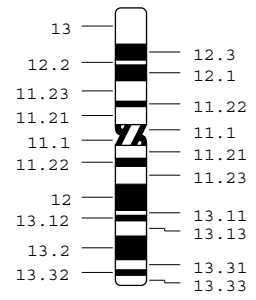
400



550

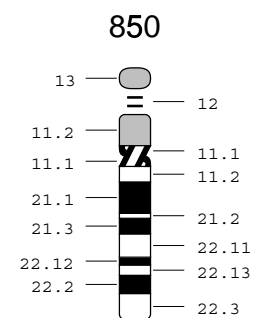
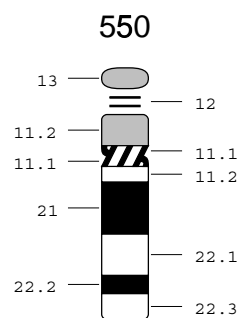
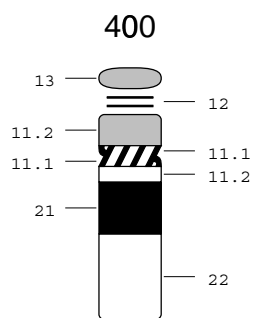


850



CHROMOSOME 21

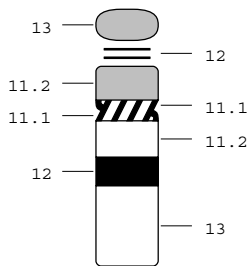
p
q



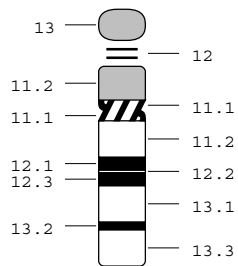
CHROMOSOME 22

p
q

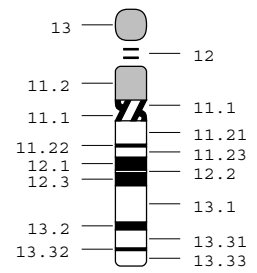
400



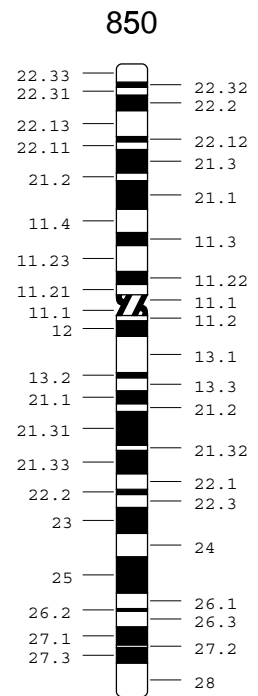
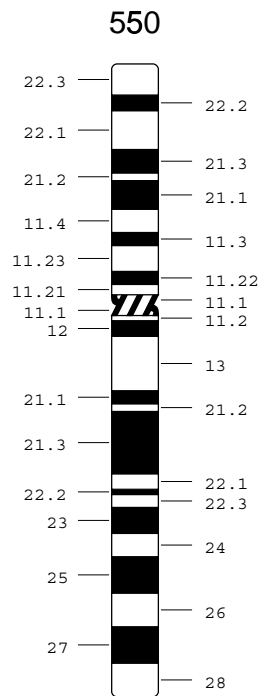
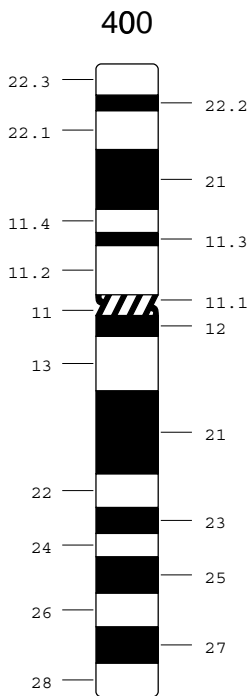
550



850



X CHROMOSOME

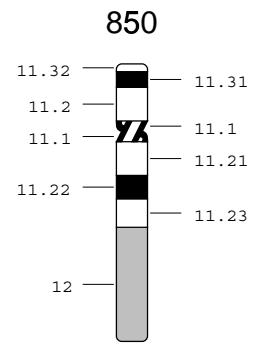
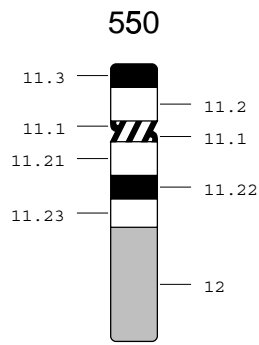
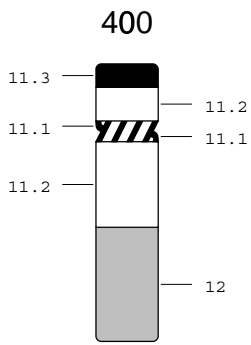


p

q

Y CHROMOSOME

— p
—
— q



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นายสุนทร รุ่งเรืองไพบยอก	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5010120078	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมไฟฟ้า)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2545

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนผู้ช่วยวิจัย คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

สุนทร รุ่งเรืองไพบยอก, พรชัย พฤษภักทรานนต์, “การปรับปรุงวิธีจัดเรียงกลุ่มภาพโครโมโซมโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียม,” การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ครั้งที่ 7, สงขลา, 21-22 พฤษภาคม 2552, หน้า 235-240.