

Indice

1	Introduzione.....	3
1.1	Il dominio del problema.....	3
1.2	Lavori precedenti.....	3
1.3	Sistemi adattativi per la visione artificiale.....	5
1.4	Mediare tra ontologie: un inquadramento metodologico.....	7
2	Risultati.....	9
2.1	Il linfonodo sentinella.....	9
2.1.1	Le immagini istologiche.....	10
2.1.2	L'ontologia visuale degli esperti umani.....	11
2.2	Codifica dell'immagine tramite rete autorganizzante.....	12
2.2.1	Segmentazione sfumata.....	13
2.2.2	Organizzazione della rete di codifica.....	14
2.3	Rappresentazione delle caratteristiche tramite formazione di aggregazioni attive.....	17
2.3.1	Elementi caratteristici della rete di codifica.....	18
2.3.2	Formazione delle aggregazioni attive.....	19
2.3.3	Organizzazione delle reti di rappresentazione.....	20
2.4	Visualizzazione sintetica delle rappresentazioni.....	20
2.4.1	Costruzione della mappa analitica.....	22
2.4.2	L'interpretazione dei risultati.....	25
2.4.2.1	Esempi di immagini negative riconosciute.....	25
2.4.2.2	Esempi di immagini positive riconosciute.....	26
2.4.2.3	Esempi di falsi positivi.....	30
2.4.2.4	Problemi riscontrati.....	30
3	Tecniche utilizzate.....	33
3.1	L'ontologia dell'esperto umano.....	33
3.1.1	La classe <i>Anatomy</i>	35
3.1.1.1	La classe <i>MacroscopicComponent</i>	35
3.1.1.2	La classe <i>StructuralComponent</i>	36
3.1.1.2.1	La classe <i>ConnectiveTissue</i>	37
3.1.1.2.2	La classe <i>LymphoidTissue</i>	37
3.1.1.2.2.1	La classe <i>LymphaticFollicle</i>	38
3.1.1.2.3	La classe <i>LymphaticSinus</i>	39
3.1.1.2.3.1	La classe <i>MarginalSinus</i>	39
3.1.1.2.3.2	La classe <i>MedullarySinus</i>	40
3.1.1.2.4	La classe <i>Lumen</i>	41
3.1.1.2.5	La classe <i>Endothelium</i>	42
3.1.1.2.6	La classe <i>TunicaMedia</i>	42
3.1.1.2.7	La classe <i>Vessel</i>	43
3.1.1.2.7.1	La classe <i>BloodVessel</i>	44
3.1.1.2.7.2	La classe <i>LymphaticVessel</i>	46
3.1.1.3	La classe <i>HistologicalComponent</i>	46
3.1.2	La classe <i>Visual</i>	47
3.1.3	La classe <i>Abnormality</i>	48
3.1.3.1	La classe <i>AbnormalFinding</i>	48
3.1.3.1.1	La classe <i>FatMetaplasia</i>	49
3.1.3.1.2	La classe <i>FollicularHyperplasia</i>	50

3.1.3.1.3	Le classi <i>MarginalSinusHistiocytosis</i> e <i>MedullarySinusHistiocytosis</i>	51
3.1.3.1.4	La classe <i>ParacorticalHistiocytosis</i>	53
3.1.4	La classe <i>Pathology</i>	53
3.1.4.1	La classe <i>PathologicalFinding</i>	55
3.2	Acquisizione delle immagini istologiche.....	57
3.2.1	Allestimento dei preparati istologici.....	57
3.2.2	Il microscopio <i>Nikon Coolscope</i>	58
3.2.3	Applicazione delle classi ontologiche alla base di immagini.....	59
3.3	Produzione del segnale organizzante la rete di codifica.....	62
3.3.1	La mappa di rilevanza.....	64
3.3.2	Campionamento del segnale 3D.....	64
3.4	L'algoritmo <i>LGWR</i> per la costruzione della rete di codifica.....	65
3.4.1	Le reti autorganizzanti di Kohonen.....	65
3.4.2	Il Growing Neural Gas di Fritzke.....	67
3.4.3	La rete <i>Grow-When-Required</i> di Marsland.....	68
3.4.4	L'evoluzione da GWR a LGWR.....	71
3.4.4.1	I nodi attivi.....	71
3.4.4.2	La disassuefazione.....	72
3.4.4.3	Il vincolo della superficie deformabile.....	74
3.5	Le affinità selettive.....	76
3.5.1	Le caratteristiche elementari locali.....	76
3.5.2	Il ciclo dell'eccitazione.....	77
3.5.2.1	La connotazione.....	77
3.5.2.2	La risonanza.....	78
3.5.2.3	L'emissione di segnale.....	80
3.5.3	Tipi di affinità.....	81
3.6	L'algoritmo <i>GWR</i> modificato per la costruzione delle reti di rappresentazione.....	86
3.7	La mappa analitica.....	87
3.7.1	Le risposte di riconoscimento.....	87
3.7.2	Deduzione della classificazione di un nodo dalle risposte di riconoscimento.....	88
3.8	L'ontologia della macchina.....	90
3.8.1	La classe <i>VisualLandscape</i>	91
3.8.2	La classe <i>HistologicalAnalysis</i>	92
4	<i>LayeredHistologicalTool</i>	94
4.1	Il passo di segmentazione.....	95
4.2	Il passo di codifica.....	96
4.3	Il passo di rappresentazione.....	98
4.4	Il passo di sintesi.....	100
4.5	Funzioni aggiuntive.....	100
5	Conclusioni.....	103
6	Bibliografia.....	106

1 Introduzione

1.1 Il dominio del problema

L'anatomia patologica è quella branca specialistica della medicina che studia le malattie del corpo umano esaminandone gli organi, i tessuti e le cellule. In questa specialità occupa un posto di rilievo l'analisi al microscopio, a scopo diagnostico, di tessuti asportati chirurgicamente.

Nella diagnostica istopatologica si hanno esempi importanti di *screening* estensivo, eseguito cioè su un elevato numero di preparati allo scopo di verificare, sull'intera base dell'indagine, l'assenza o la presenza di elementi indicativi di una patologia. Indagini di questo tipo sono necessarie, per esempio, in molti esami oncologici, giacché l'esito della diagnosi può dipendere dal ritrovamento o meno di materiale tumorale di ridotte dimensioni. Le loro caratteristiche di ripetitività e di standardizzazione le rendono un candidato interessante per lo sviluppo di sistemi per l'analisi e la diagnosi automatiche o, meno ambiziosamente, di software per l'assistenza all'analisi e alla diagnosi.

In questo lavoro si applicano tecniche di analisi automatica all'esame al microscopio di immagini di preparati istologici ricavati da sezioni di linfonodi sentinella. I linfonodi sentinella sono esaminati dagli anatomopatologi alla ricerca di eventuali colonizzazioni metastatiche, ma il software che abbiamo sviluppato ha anche l'obiettivo di riconoscere, nelle immagini istologiche, altri oggetti che sono individuati dagli anatomopatologi nella struttura dell'organo.

1.2 Lavori precedenti

Esistono numerose ricerche su sistemi di analisi e diagnosi automatica del cancro basati su immagini istologiche.

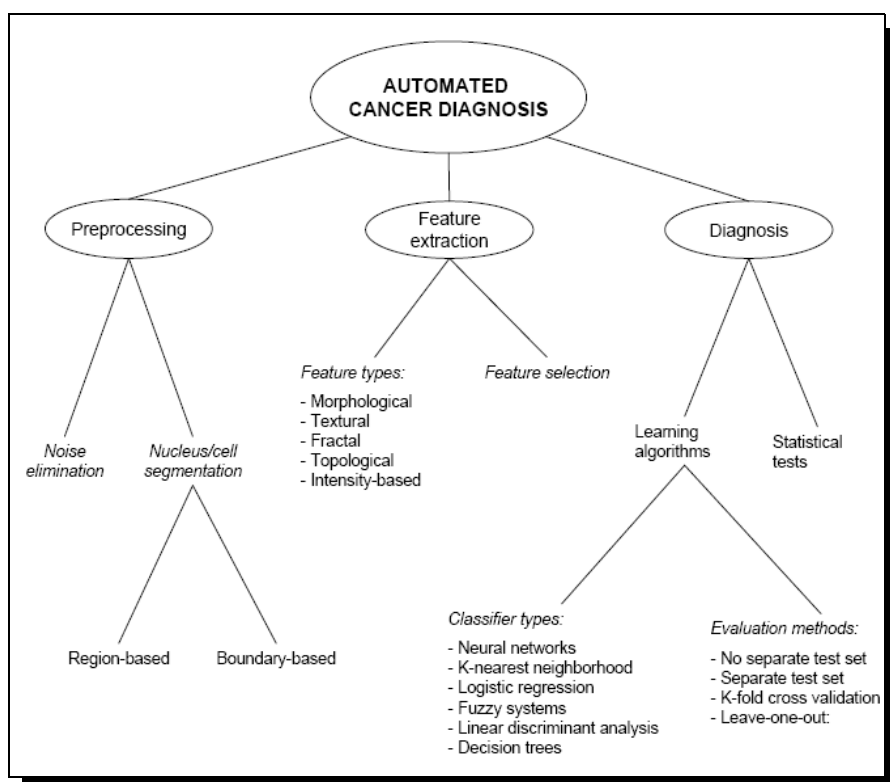


Fig. 1: – Classificazione secondo Demir e Yener delle tecniche usate nella diagnosi automatica del cancro.

In [Demir 2005] si trova una sintesi ed una classificazione sistematica di decine di studi in questo campo relativi ad 11 diversi tipi di cancro, in cui i metodi utilizzati sono ricondotti ad un comune paradigma a tre stadi: *pre-processing*, *feature extraction*, *diagnosis*. In genere il primo stadio realizza un filtraggio ed una segmentazione dell'informazione mediante tecniche di elaborazione dell'immagine, il secondo stadio estrae le caratteristiche salienti basandosi sull'output del primo stadio, mentre nel terzo stadio gli studi esaminati utilizzano analisi statistiche o macchine ad apprendimento automatico di vario tipo per giungere al risultato diagnostico.

Nel secondo stadio si registra la maggiore varietà di tecniche utilizzate, le quali tuttavia hanno in tutti gli studi considerati carattere deterministico e sequenziale. Il nostro lavoro si mantiene nel paradigma dei tre stadi, utilizzando tuttavia nel secondo stadio (*feature extraction*) tecniche di tipo stocastico e distribuito (reti autorganizzanti); il terzo stadio, inoltre, nel nostro caso non è propriamente di diagnosi: il risultato finale dell'elaborazione non è un responso diagnostico bensì una mappa visuale in cui sono rappresentati gli oggetti riscontrati nell'immagine, raggruppati in alcune grandi categorie.

Nel lavoro citato si distinguono anche i sistemi che operano a livello di cellula ed i sistemi che operano a livello di tessuto. Il nostro lavoro si colloca nettamente sul versante dell'analisi a livello

di tessuto, in quanto i livelli di risoluzione in cui è possibile individuare la singola cellula non vengono presi in considerazione.

Questa tesi si pone sulla scia di esperienze precedenti svolte presso il Laboratorio di Visione Artificiale della Facoltà di Ingegneria dell'Università degli Studi di Pavia. In [Fostini 2003], oltre ad un approfondimento su diverse teorie della visione umana, sono stati posti i fondamenti di un indirizzo di ricerca sull'utilizzo di reti adattative per la visione artificiale applicato all'istopatologia. Con [Portinari 2003] si ha lo sviluppo di un primo strumento software completo. Con [Sacchetti 2005] si approfondisce la ricerca e lo sviluppo software focalizzandosi, come oggetto di studio, sul linfonodo sentinella; viene introdotta una prima segmentazione *fuzzy* dell'immagine istologica e si tenta l'individuazione di criteri diagnostici basati sulle caratteristiche topologiche della rete adattativa costruita sulla base dell'informazione di segmentazione. Tutti questi studi si sono dimostrati promettenti, anche agli occhi degli anatomopatologi che hanno fiancheggiato le ricerche. Il presente lavoro ha quindi ribadito e per certi versi approfondito questo indirizzo. Un'altra tesi [Mapelli 2006], di prossima presentazione, vi ha dato infine un contributo cruciale per quanto riguarda la fase di segmentazione.

1.3 Sistemi adattativi per la visione artificiale

Un sistema adattativo è una struttura che si adatta dinamicamente ad un contesto (input).

L'idea di utilizzare sistemi adattativi per la visione artificiale trae origine dallo studio dell'attività visiva e visuale¹ degli organismi viventi. Il cervello umano, per esempio, modifica la sua configurazione e la sua attività sulla base dei segnali nervosi provenienti dalla retina (che è la sua interfaccia con lo stimolo luminoso proveniente dal mondo esterno). Analogamente, un sistema adattativo per la visione artificiale, a prescindere dai suoi dettagli, prevederà la conversione dell'immagine (statica o dinamica) in un flusso di segnali e l'invio di questo flusso di segnali ad una qualche "struttura" (virtuale, cioè una struttura di dati, o anche fisica nei casi in cui il sistema di visione artificiale abbia un'implementazione hardware) che subirà una conseguente modificazione.

La struttura che si adatta al segnale è in genere di tipo reticolare (ancora una volta in analogia al *network* costituito dai neuroni biologici connessi attraverso le sinapsi): l'esempio più noto sono le

¹ Un'operazione *visuale* è un'operazione compiuta dal sistema di *visione*, ossia quella parte dell'intelligenza umana (ed animale) dedicata all'interpretazione delle immagini percepite dal sistema *visivo*, ossia dagli organi sede del senso della *vista*. La visione non è una conseguenza passiva degli stimoli luminosi che colpisce la retina, bensì un'attività mentale fondamentalmente costruttiva. [Hoffman 1998]

reti neurali. Si distinguono due categorie fondamentali di reti neurali: supervisionate e autorganizzanti (o non supervisionate).

Nel primo caso è necessario un supervisore esterno, che indichi alla rete l'output atteso per un insieme di input di riferimento (*training set*); sulla base di queste informazioni, la rete viene progressivamente addestrata (modificandone le caratteristiche) a ridurre la differenza tra output effettivo ed output atteso, con l'obiettivo di poter successivamente essere utilizzata (dopo averne fissato le caratteristiche così come si sono evolute al termine dell'addestramento) per rispondere, secondo le medesime "regole empiriche" apprese, ad un input non facente parte del *training set*.

Le reti autorganizzanti, invece, non utilizzano un output atteso: si adattano progressivamente e spontaneamente sulla base del solo input. Nel nostro lavoro utilizziamo reti autorganizzanti per codificare in forma reticolare l'informazione significativa per i nostri scopi contenuta in un'immagine istologica e, ad un livello ulteriore, per rappresentare vari tipi di elementi visuali presenti nell'immagine. L'elaborazione dell'informazione, a diversi livelli, viene realizzata in forma distribuita dai nodi delle reti autorganizzanti.

In questo lavoro ci siamo infatti attenuti ad un criterio di plausibilità biologica. Con *plausibilità biologica* non intendiamo *emulazione dei processi che avvengono all'interno degli organismi biologici*, bensì un principio più debole: il rispetto di alcuni vincoli nelle scelte metodologiche, vincoli che si ispirano ad alcune proprietà molto generali dei sistemi biologici (ed in particolare dei sistemi visivo e nervoso degli esseri umani). Il criterio della plausibilità biologica, dunque, implica:

- L'utilizzo di metodi stocastici piuttosto che di metodi deterministici.
- L'utilizzo di metodi distribuiti piuttosto che di metodi centralizzati.
- L'utilizzo di metodi in parallelo (o simulati tali) piuttosto che di metodi sequenziali.
- L'utilizzo frequente della logica *fuzzy* piuttosto che della logica binaria.
- Una certa modularità delle strutture utilizzate.
- Una stratificazione in vari livelli di elaborazione.

Va registrato che il rispetto di questi criteri non ha ostacolato, ha anzi spesso fortemente semplificato il processo di sviluppo di un modello di sistema adattativo e della sua implementazione software, indirizzandolo verso soluzioni semplici e, spesso, eleganti.

1.4 Mediare tra ontologie: un inquadramento metodologico

In ambito informatico, per *ontologia*² si intende la specificazione formale di una concettualizzazione, vale a dire una definizione attraverso un formalismo di tipo logico dei termini usati per descrivere e rappresentare la conoscenza in un particolare campo. Nella pratica, un'ontologia è un documento, scritto in un linguaggio di tipo logico con una struttura grammaticale esatta, particolarmente adatta al trattamento automatico, che elenca questi termini in modo strutturato come sistema di classi e relazioni. I costrutti fondamentali di un'ontologia formale sono infatti le classi e le relazioni tra classi.

Assumere un'ontologia comune è fondamentale per la condivisione di conoscenza tra agenti diversi, è la base di una comunicazione non ambigua. Questa constatazione, applicata alla comunicazione *sui generis* tra uomo e macchina, è alla base dell'impostazione metodologica di questo lavoro.

Una macchina ad intelligenza artificiale possiede una propria rappresentazione interna, per quanto limitata e spesso implicita, del proprio dominio di conoscenze. Questo vale anche nel caso di sistemi di visione artificiale mediante strutture adattative. Definire formalmente le classi e le relazioni ontologiche implicitamente utilizzate dalla macchina nel suo operare è necessario per una effettiva comprensione del funzionamento della macchina (e quindi per una sua eventuale modifica); se poi, come in questo caso, lo scopo del sistema è assistere o parzialmente emulare processi cognitivi di esseri umani, la definizione dell'ontologia della macchina e il suo confronto con quell'ontologia che rappresenta la concettualizzazione umana del dominio del problema è il compito fondamentale dello sviluppatore.

Il progresso di un progetto di intelligenza artificiale o, più in particolare, di visione artificiale può essere espresso in termini del grado di vicinanza tra l'ontologia della macchina e quella degli esseri umani esperti in quell'ambito. Questo punto di vista non avanza ipotesi alcuna sulla somiglianza dei meccanismi alla base dei processi cognitivi né di una qualche forma di rappresentazione interna. Al contrario, l'intrinseca differenza tra essere umano e macchina obbliga il ricercatore di intelligenza artificiale ad un continuo lavoro di mediazione tra le due ontologie.

In questa ricerca abbiamo definito l'ontologia del linfonodo dal punto di vista dell'esperto umano. In ciò si è fatto riferimento a [Bertaiola 2004], in cui è affrontata la definizione di un'ontologia che ha come dominio la patologia polmonare. Il linfonodo è uno degli organi meno strutturati del corpo umano eppure gli anatomopatologi vi distinguono una quantità notevole di oggetti; l'ontolo-

² Dal greco antico, “discorso sull'essere”. In ambito informatico il termine assume un significato tecnico diverso da quello consueto in ambito filosofico e umanistico.

gia si è infatti rapidamente popolata di un ampio numero di classi e di relazioni ed ha costituito la pietra di paragone per il sistema di visione artificiale che è stato sviluppato. Via via che quest'ultimo veniva perfezionato, è stato possibile esplicitare "l'ontologia della macchina", enormemente più semplice di quella umana. L'ontologia della macchina spiega "cosa vede" il sistema. Il confronto tra due oggetti omogenei, come le due ontologie, ha notevolmente facilitato l'analisi dei risultati ed il miglioramento progressivo delle prestazioni.

Questa impostazione ci ha indotti a sviluppare la macchina nella direzione di attribuirle capacità di distinguere operativamente quelle categorie che potevano essere facilmente riscontrate negli elementi costituenti della sua rappresentazione interna (la rete autorganizzante di codifica). Le categorie che abbiamo "insegnato" alla macchina (tramite modifica diretta delle caratteristiche della rete) sono state scelte con un occhio all'obiettivo (l'analisi di immagine istologiche alla ricerca di particolari elementi, definiti dall'ontologia dell'esperto umano) e uno ai vincoli posti dalla rappresentazione interna della macchina: per esempio, questa macchina non vede differenze di trama, quindi è semplicemente impossibile che rappresenti internamente questo tipo di informazione; viceversa, nella rete autorganizzante immersa in uno spazio 3D, che è al centro del sistema visuale artificiale sviluppato, è possibile vedere geometrie e morfologie. Come vedremo, saranno questi gli ingredienti essenziali dell'ontologia di questa macchina.

2 Risultati

2.1 Il linfonodo sentinella

I **linfonodi** sono noduli di tessuto linfoide, situati lungo il decorso dei vasi linfatici, costituenti punti verso i quali converge la linfa di una regione o di più distretti.

Nel progresso dei tumori, il sistema linfatico è nel corpo umano una via privilegiata per la diffusione di metastasi. Nel caso specifico delle neoplasie mammarie, si dimostra che, se il primo linfonodo nel cavo ascellare raggiunto dalla linfa in uscita dalla mammella non ospita metastasi, si può escludere con buonissima probabilità che si sia già realizzata un'evoluzione metastatica del tumore.

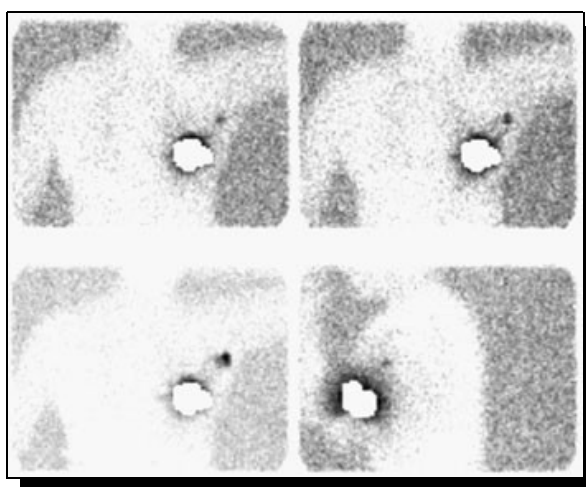


Fig. 2 – Linfoscintigrafia che illustra la localizzazione del linfonodo sentinella (il punto scuro) con l'uso di un tracciante. Sul seno è stata posta una protezione di piombo.

Per questa ragione il primo linfonodo della stazione linfonodale è detto **linfonodo sentinella**; una volta individuato (tipicamente mediante colorazione artificiale e, più recentemente, anche utilizzando un tracciante radioattivo) e asportato chirurgicamente il linfonodo sentinella, se la biopsia effettuata sul materiale biologico rimosso dà esito negativo non è necessaria alla diagnosi l'asportazione di altri linfonodi di quella stazione. [Borsatti 2004]

Per l'importanza pratica che ha questo tipo di analisi istologica, oltre che per l'elevata standar-

dizzazione raggiunta dalla comunità scientifica nella procedura bioptica, in particolare per quanto riguarda i metodi di colorazione artificiale, il linfonodo sentinella è stato scelto come oggetto del nostro lavoro.

2.1.1 Le immagini istologiche

Il linfonodo sentinella, asportato tramite procedura bioptica allo scopo di verificare se in esso siano presenti localizzazioni metastatiche, deve essere sottoposto ad una serie di operazioni volte a renderlo adatto all'ispezione al microscopio.

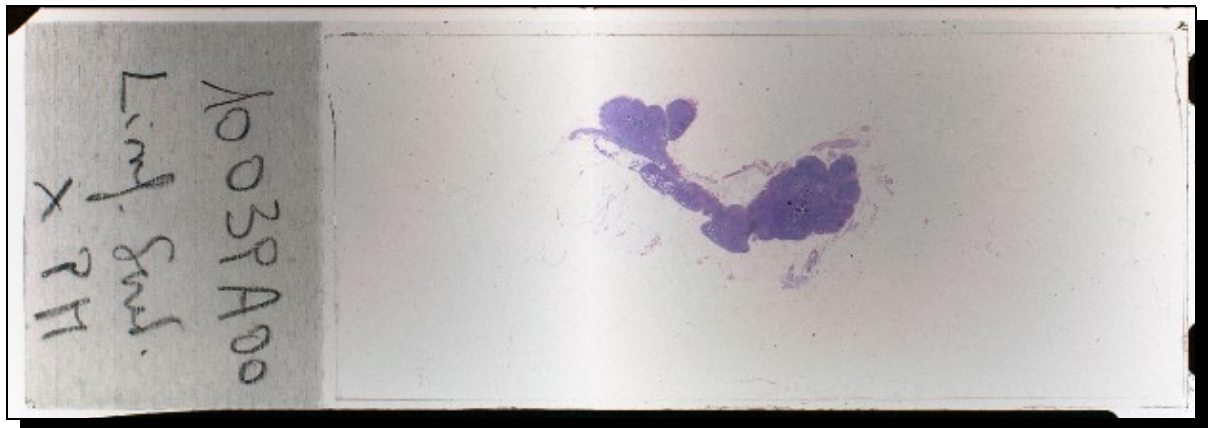


Fig. 3 – Preparato istologico.

Al termine di questo procedimento, sono disponibili all'anatomopatologo una serie di **preparati istologici** (comunemente detti “vetrini”) che contengono sezioni del linfonodo (di uno spessore di pochi micrometri, paragonabile al diametro di una cellula) del linfonodo in cui sono opportunamente evidenziate, grazie alle reazioni chimiche con i coloranti, alcune caratteristiche strutturali degli oggetti presenti al suo interno.

I coloranti utilizzati costituiscono uno standard internazionale in ambito istopatologico e sono l'**ematossilina**, a prevalenza basica, e l'**eosina**, a prevalenza acida; la prima attribuisce un colore tra il blu e il viola e la seconda un colore tra il rosa e il rosso. [Sacchetti 2005]

Nel nostro lavoro abbiamo utilizzato batterie di immagini istologiche acquisite mediante un microscopio ottico computerizzato (il *Nikon CoolScope I*). Per l'acquisizione è stata seguita una procedura ben definita in tutti i suoi passi in modo da avere una base coerente composta da 6 insiemi di immagini, riferite ad altrettanti vetrini campione; ciascuna immagine contiene una parte del vetrino ad ingrandimento 5×; sono state così ricavate 262 immagini in formato *bitmap* a colori delle dimensioni di 256×256 pixel, in grado di rappresentare i diversi aspetti del dominio del problema.

2.1.2 L'ontologia visuale degli esperti umani

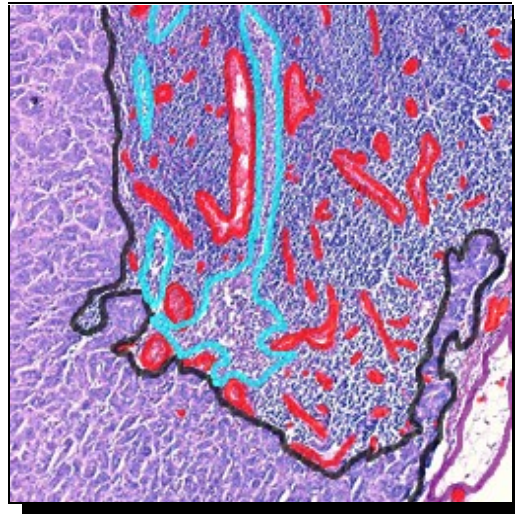


Fig. 4 – Immagine annotata da un anatomopatologo. La zona delimitata dal contorno nero è metastatica, quella nei contorni azzurri presenta una forma di istiocitosi, le zone rosse sono vasi sanguigni e la zona viola è la capsula del linfonodo.

Esplorando il vetrino al microscopio, l'anatomopatologo è in grado di riconoscere gli elementi anatomici del linfonodo e le alterazioni (eventualmente di origine patologica) subite rispetto alla sua configurazione normale.

L'anatomopatologo, ad esempio, riconosce nell'immagine la **capsula** che circonda il **parenchima**, i **vasi** che attraversano il linfonodo, le trame e i colori tipici del tessuto sano, metastatizzato o interessato da **istiocitosi**.

L'analisi preliminare del vetrino, che gli esperti effettuano in genere “percorrendo” al microscopio l'intero linfonodo lungo la capsula, si basa su criteri di colore (che recuperano l'informazione sull'acidità/basicità palesata dalla diversa fissazione dei due coloranti), di posizione reciproca degli elementi, di trama e, soprattutto, morfologici. Talvolta l'informazione ottenuta ad una prima osservazione del vetrino è integrata da una successiva ispezione, tipicamente ad ingrandimento maggiore, delle aree più interessanti; talvolta si arriva anche ad un livello di analisi di tipo *citologico*, vale a dire della forma e configurazione delle singole cellule. Occorre precisare che l'analisi di maggiore dettaglio non è stata affrontata in questo lavoro, che si concentra invece sul livello *istologico*.

Per **ontologia** si intende, in ambito informatico, la descrizione tassonomica, tramite un linguaggio formale, di un dominio di conoscenza in termini di una gerarchia di classi e di relazioni logiche tra le stesse. Esiste una famiglia di logiche (**DL**, *description logics*) espressamente concepite allo scopo di descrivere ontologie, fondate sulla logica dei predicati del primo ordine (di cui sono sottoinsiemi). In questo lavoro, è stato utilizzato il linguaggio **OWL** (*Web Ontology Language*), che si

basa sul formalismo XML, e per la precisione il suo sottolinguaggio OWL-DL che equivale ad una particolare DL chiamata SHOIN(Dn). [Bertaiola 2004]

Abbiamo ritenuto necessario rappresentare in forma esplicita l'ontologia utilizzata dall'anatomopatologo nell'indagine visuale di un preparato istologico. La descrizione formale ottenuta grazie alla collaborazione degli esperti coinvolti costituisce l'ontologia qui denominata *LymphNode*.

2.2 Codifica dell'immagine tramite rete autorganizzante

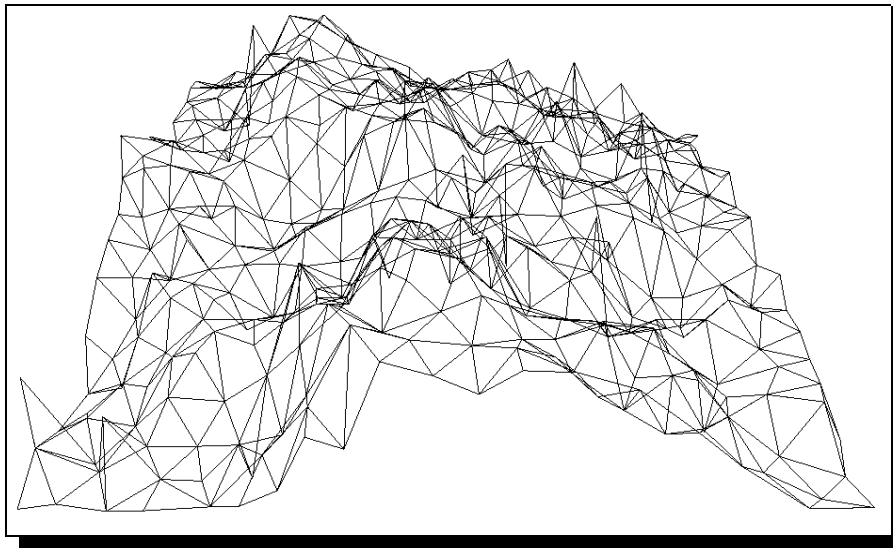


Fig. 5 – Rete in uno spazio 3D.

Il primo passo del nostro sistema di analisi automatica consiste nella traduzione dell'informazione contenuta nell'immagine in un nuovo formato. Il formato di destinazione è una rete in uno spazio 3D, ossia un grafo non orientato i cui nodi sono caratterizzati dai valori di tre coordinate. Questo oggetto viene chiamato **rete di codifica** e si organizza come una superficie.

La codifica è realizzata progressivamente a partire da un segnale ottenuto tramite campionamento stocastico dell'immagine di partenza. L'algoritmo che regola la costruzione e il comportamento della rete è qui denominato **LGWR** (*Layered GWR*, cioè *GWR* stratificato), una variante dell'algoritmo *GWR* (*Grow-When-Required*) per lo sviluppo di reti autorganizzanti (*self-organizing networks*) con adattamento non supervisionato.

2.2.1 Segmentazione sfumata³

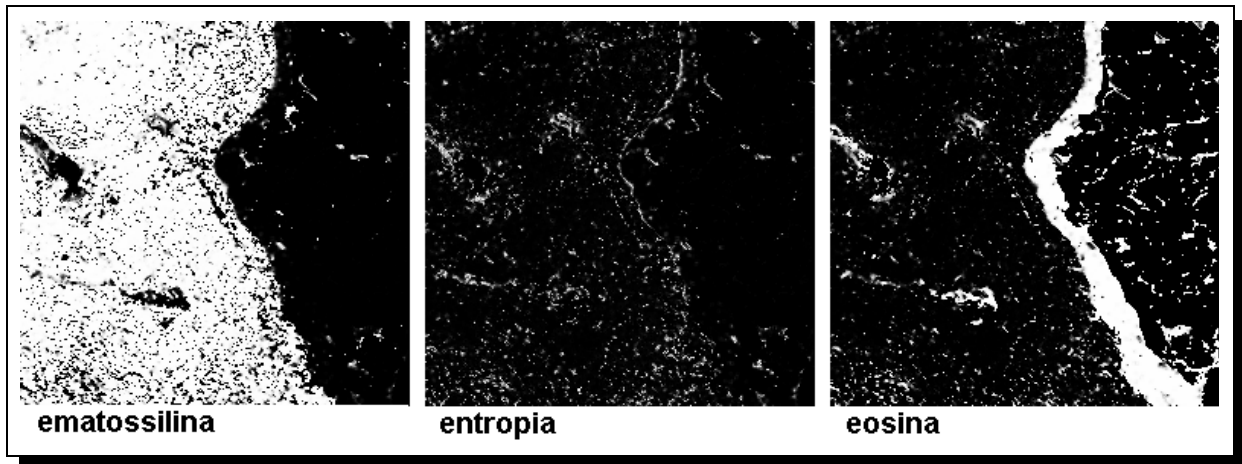


Fig. 6 – Esempio di segmentazione. In questo caso abbiamo pochissima ambiguità: il parenchima ha fissato l'ematossilina, la capsula e i vasi hanno fissato l'eosina, la mappa dell'entropia registra pochi pixel con appartenenza mista ai due segmenti.

L'aspetto principale del *pre-processing* a cui è sottoposta l'immagine istologica è costituito dalla **segmentazione**.

La segmentazione di un'immagine in senso classico è la partizione dell'insieme dei suoi punti in diversi sottoinsiemi disgiunti (*cluster* o segmenti) sulla base di una qualche proprietà dei punti stessi. Per *segmentazione sfumata* (*fuzzy segmentation*) si intende invece l'attribuzione ad ogni punto di un valore di **appartenenza fuzzy** ad uno dei possibili sottoinsiemi *fuzzy*; se nella logica binaria un oggetto può appartenere oppure no ad un insieme, nella logica sfumata l'appartenenza ad un insieme *fuzzy* può essere parziale. In sostanza la segmentazione *fuzzy* di un'immagine attribuisce a ciascun punto un valore di appartenenza, incluso tra 0 ed 1, rispetto a ciascun *cluster*.

Nel nostro lavoro ci siamo basati su un algoritmo per la segmentazione *fuzzy* in due *cluster*, ciascuno corrispondente ad uno dei due coloranti ematossilina ed eosina. In questo modo sono state estratte tre mappe in cui a ciascun pixel è attribuito un valore in una scala discreta (ogni mappa viene visualizzata come un'immagine a livelli di grigio): la mappa dell'appartenenza al *cluster* dell'ematossilina, la mappa dell'appartenenza al *cluster* dell'eosina e la mappa dell'**entropia fuzzy**, derivata dalle altre due, che rappresenta l'ambiguità nell'attribuzione di un pixel ad uno o all'altro *cluster*⁴.

L'algoritmo utilizzato è una variante del metodo **FCM** (*Fuzzy C Means*), il quale cerca di mini-

³ Questa componente fondamentale del sistema è l'oggetto di [Mapelli 2006].

⁴ La mappa dell'entropia avrà valore massimo per quei punti aventi il medesimo valore di appartenenza 0,5 rispetto ad entrambi i *cluster*.

mizzare la funzione obiettivo

$$J = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^C u_{ij}^m \|x_i - c_j\|^2$$

dove N è il numero dei dati, C è il numero di *cluster*, u_{ij} è l'appartenenza del dato i al cluster j , l'esponente m è un valore maggiore di 1 che indica la *fuzziness*, ovvero quanto il metodo attribuisce valori di appartenenza netti e $\|\cdot\|$ esprime la somiglianza tra il dato x_i e c_j (centro del *cluster* j). In genere per $\|\cdot\|$ si usa la distanza euclidea.

La variante utilizzata, **AFCM** (*Adaptive Fuzzy C Means*), utilizza al posto della distanza tra i dati e i centri dei *cluster* una funzione che dipende da un intorno del pixel considerato, sfruttando la forte correlazione tra pixel vicini tipica delle immagini non sintetiche. [Liew 2005]

Insieme alla validità dell'algoritmo usato, la scelta di opportuni centri dei *cluster* ha avuto un'importanza decisiva per l'efficienza complessiva del sistema.

2.2.2 Organizzazione della rete di codifica

Sulla base della segmentazione *fuzzy* è possibile attribuire un valore di “quota” a ciascun pixel dell'immagine iniziale, intesa come appartenenza relativa del pixel ai due segmenti. In altri termini, mentre la posizione dei pixel è espressa dalle usuali coordinate x ed y nel piano dell'immagine, i valori di appartenenza ai segmenti *fuzzy* sono tradotti in una terza dimensione, che indichiamo come coordinata z . Per convenzione, la quota z pari a 0 indica la completa appartenenza del pixel al segmento dell'eosina e la quota massima (un parametro che può essere regolato) la completa appartenenza al segmento dell'ematossilina.

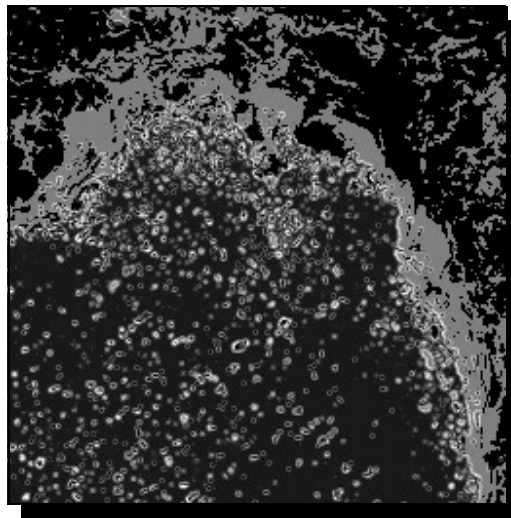


Fig. 7 – Mappa di rilevanza. Le zone più chiare hanno maggiore probabilità di emettere segnale e quindi genereranno un addensamento di nodi nella regione corrispondente della rete di codifica (cfr. Fig. 8).

Il segnale che organizza la rete di codifica è il risultato di una campionatura⁵ stocastica sullo spazio tridimensionale così costruito. La distribuzione di probabilità utilizzata per il campionamento stocastico è funzione delle coordinate x ed y e non è uniforme: alcune regioni dell'immagine risultano infatti essere più rilevanti ai fini dell'analisi e devono quindi avere una probabilità maggiore di emettere segnale⁶. La funzione che attribuisce ad ogni pixel una probabilità di emissione di segnale è detta **mappa di rilevanza** ed è costruita a partire dall'immagine e dai due segmenti *fuzzy*. [Sacchetti 2005]

Ad ogni iterazione dell'algoritmo *LGWR* viene elaborato un singolo segnale. La posizione del nodo “vincitore” (cioè quello più vicino al segnale) viene corretta ed avvicinata alla posizione del segnale nello spazio 3D; anche i nodi facenti parte del vicinato topologico del nodo vincitore vengono avvicinati in maniera analoga, anche se in misura decisamente inferiore.

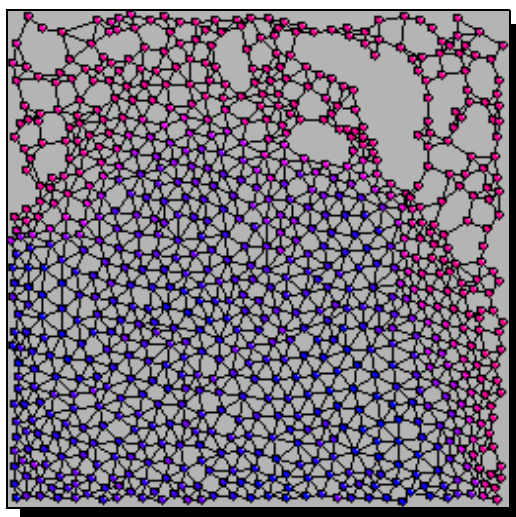


Fig. 8 – Rete di codifica al termine del processo di organizzazione. In questa visualizzazione, la quota z è rappresentata dal colore dei nodi (in rosso i nodi a prevalente colorazione di eosina, in blu i nodi a prevalente colorazione di ematossilina).

La rete di codifica in sostanza si adatta al segnale cercando quindi di “coprirlo” al meglio con i nodi e gli archi più vicini ed eventualmente, secondo le regole previste dall'algoritmo, generando nuovi nodi e nuovi archi o rimuovendo archi e nodi poco utili. Il processo di autorganizzazione tende quindi a riprodurre in una forma diversa (e più sintetica) alcune caratteristiche fondamentali dell'immagine di partenza. Una delle ipotesi centrali, su cui si basa il nostro lavoro, è che quelle caratteristiche dell'immagine che sono decisive per l'analisi istologica si riflettano in corrispondenti

5 Questa campionatura non va intesa come estrazione di un sottoinsieme dei dati di partenza: il numero di campioni utilizzato è molto superiore al numero di pixel dell'immagine campionata.

6 In questo lavoro, sono considerate più rilevanti le regioni con maggiore variazione di colorazione ematossilina/eosina e quelle maggiormente eosinofile. Nel lavoro precedente, il criterio di costruzione della mappa di rilevanza era differente.

caratteristiche topologiche e geometriche della rete di codifica.

L'ipotesi di efficacia della codifica utilizzata si basa su [Sacchetti 2005]. Al termine di quel lavoro, sono esposti i risultati di un test effettuato su 10 medici con esperienza pluriennale in anatomia patologica: dopo una spiegazione dei meccanismi che permettono la costruzione delle reti sulla base delle immagini istologiche, è stato chiesto ai partecipanti (a cui non è stato mostrato l'insieme di immagini originali utilizzate ma solamente una raffigurazione delle reti al termine del processo di autorganizzazione) di fornire per ciascuna rete un responso diagnostico indicando gli elementi salienti su cui si basava la loro valutazione. Questo test ha messo in luce che la rete autorganizzata è una codifica sufficientemente ricca e che quindi la traduzione al nuovo formato, sebbene *lossy* (con perdita), non comporta la perdita di informazioni significative rispetto agli scopi preposti. Al contrario, riteniamo che il nuovo formato evidenzi al massimo gli aspetti decisivi per rendere possibile ed agevole l'analisi automatica.

Un altro aspetto degno di nota è che la rete di codifica ha *risoluzione variabile*, nel senso che è più dettagliata (ha maggiore densità di nodi) in alcune regioni che in altre. La maggiore o minore risoluzione della codifica non dipende solo dalla mappa di rilevanza, che genera la tendenza ad un maggiore addensamento dei nodi nelle regioni considerate più significative, ma è regolata anche da meccanismi interni della rete (dove esiste maggiore irregolarità di quota z nel segnale si ha un addensamento di nodi, che “segue meglio” il segnale organizzante).

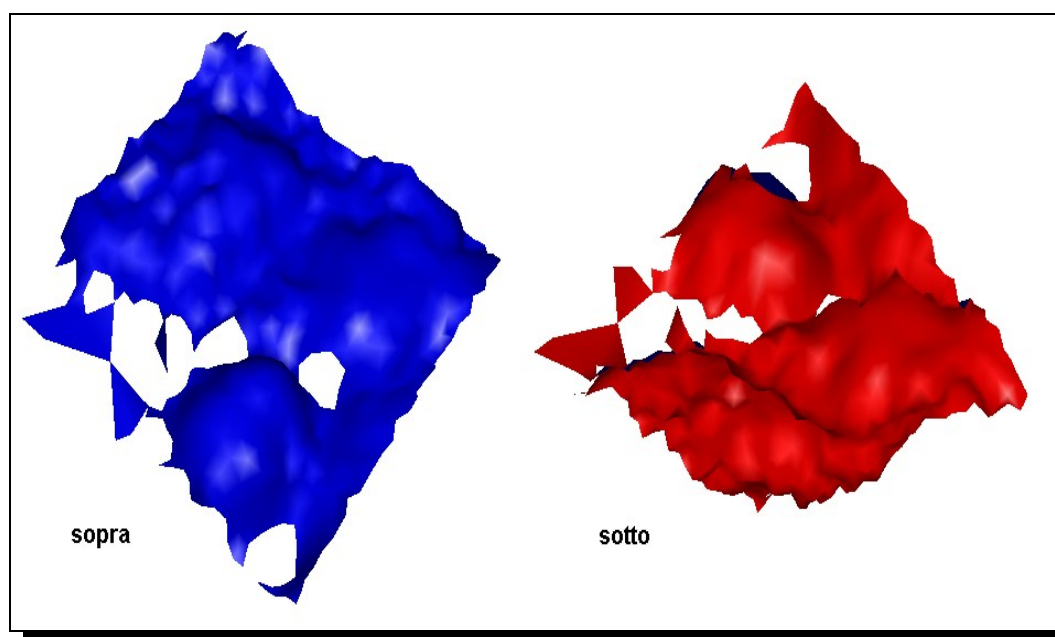


Fig. 9 – “Foglio di gomma” costruito sulla base di una rete di codifica (la rete è stata triangolata e poi ombreggiata secondo l’algoritmo di Gouraud). La rete non ha “spessore”, non è “veramente tridimensionale”.

La rete di codifica realizzata con l'algoritmo *LGWR* è immersa in uno spazio 3D ma è una rete **2.5D**⁷ ("a due dimensioni e mezzo"), nel senso che non esiste sovrapposizione di archi rispetto all'asse delle coordinate *z*. Possiamo pensare alla rete come all'analogo (in forma di grafo) di una superficie limitatamente deformabile.

2.3 Rappresentazione delle caratteristiche tramite formazione di aggregazioni attive

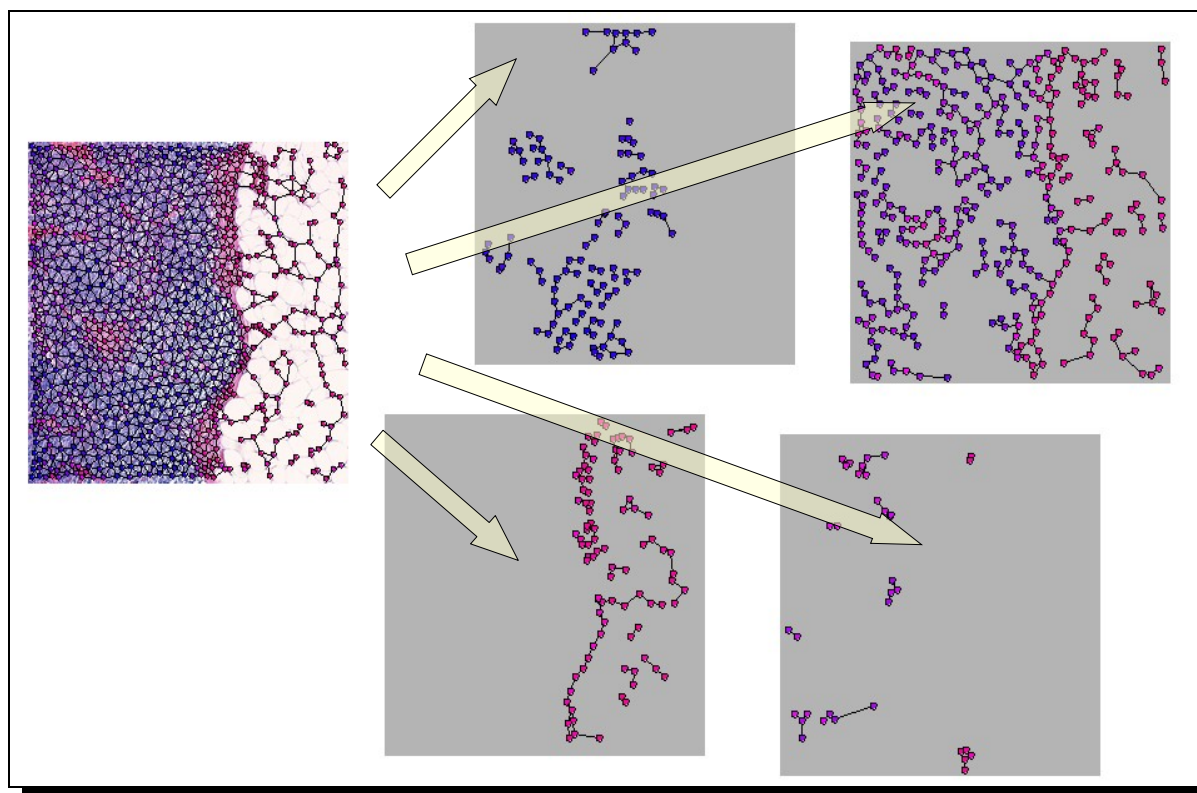


Fig. 10 – Rete di codifica (rappresentata, a sinistra, sovrapposta all'immagine di partenza) e alcune reti di rappresentazione da essa derivate.

Oltre al comportamento autorganizzante, che è sostanzialmente passivo o di risposta al segnale proveniente dall'immagine, la rete di codifica ha anche un comportamento attivo. Tale comportamento attivo consiste nella formazione di aggregazioni specifiche di nodi che producono segnali in output. I segnali così generati, che sono distinti in 7 tipi diversi a seconda del tipo di aggregazione

⁷ Il termine è improprio dal punto di vista matematico ma è utilizzato in alcuni contesti come la *computer graphics* e la meccanica.

che li ha prodotti, a loro volta organizzano le corrispondenti **reti di rappresentazione** o reti di secondo livello. In altri termini, ciascuna rete di secondo livello rappresenta le regioni della rete di codifica dove si hanno aggregazioni di un determinato tipo.

Quest'ulteriore processo di autorganizzazione conduce dunque alla costruzione di 7 reti di secondo livello, ciascuna delle quali rappresenta un aspetto interessante ai fini dell'analisi. Queste reti si autorganizzano secondo l'algoritmo GWR⁸.

2.3.1 Elementi caratteristici della rete di codifica

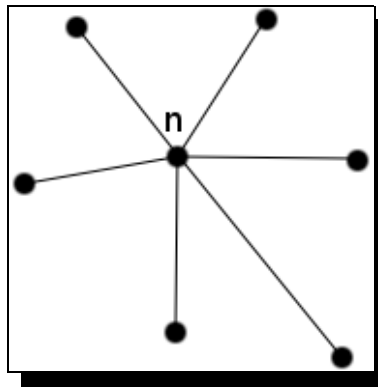


Fig. 11 – Star del nodo n .

In topologia delle superfici discrete, è detta **star** di un nodo l'insieme di cui fa parte quel nodo, i suoi vicini (topologici) e gli archi uscenti da esso; in simboli:

$$Star(n) = n \cup Neighbors(n) \cup Edges(n)$$

In questo lavoro si definiscono 8 tipi astratti di *star*, sulla base della configurazione topologica e geometrica, in particolare delle posizioni relative x ed y , della quota z (che riassume le caratteristiche cromatiche della regione corrispondente nell'immagine istologica) e delle caratteristiche dei nodi vicini.

Intuitivamente, nella rete di codifica, l'**affinità** di un nodo rispetto ad un tipo astratto è la misura della somiglianza tra la *star* di quel nodo e le caratteristiche previste dal tipo astratto. Per definizione, le affinità non sono mutuamente esclusive, nel senso che un nodo può essere contemporaneamente affine a più tipi astratti.

Gli 8 tipi astratti⁹ sono *Land*, *Plateau*, *Cliff*, *Shore*, *Lake*, *Sink*, *Canyon* e *Valley*.

⁸ Si tratta in realtà di una variante dell'algoritmo *GWR*, ma la correzione apportata all'algoritmo è modesta (v. 3.6).

⁹ Descritti dettagliatamente in 3.5.3.

2.3.2 *Formazione delle aggregazioni attive*

Nella rete di codifica, le aggregazioni attive si formano sulla base dell'affinità dei nodi, nel senso appena introdotto. I nodi riconoscono le proprie affinità ai vari tipi astratti sulla base delle caratteristiche della propria *star* e sulla base dello scambio di informazione con i nodi vicini.

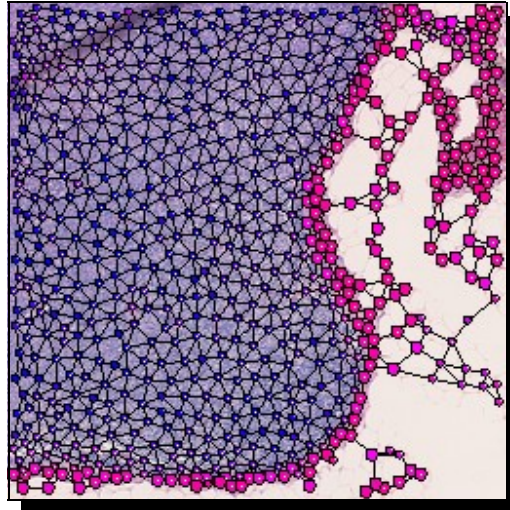


Fig. 12 – Rete di codifica (rappresentata sovrapposta all'immagine di partenza) non ancora ben stabilizzata. In questa visualizzazione i nodi eccitati rispetto al tipo *Shore* sono raffigurati come cerchi più grandi. Hanno un puntino bianco in centro quei nodi la cui posizione si è assestata abbastanza da permettere la connotazione. Molti nodi eccitati non mostrano il puntino bianco: possiamo dedurre che sono nodi che si sono eccitati attraverso la risonanza.

Il meccanismo attraverso il quale un nodo si riconosce affine ad un particolare tipo è mediato dall'**eccitazione** relativa a quel tipo. I nodi si eccitano spontaneamente¹⁰, in relazione ad un tipo, quando le caratteristiche della loro *star* corrispondono fortemente a quelle previste dal tipo; l'eccitazione si distribuisce poi lungo gli archi della rete, secondo criteri di compatibilità tra *star* e *star*, raggiungendo anche quei nodi, più debolmente affini al tipo in questione, che non si sono eccitati autonomamente.

Chiamiamo **connotazione** l'eccitazione spontanea dei nodi e **risonanza** la ridistribuzione dell'eccitazione tra nodi vicini. Per formazione delle aggregazioni attive intendiamo il processo complessivo attraverso il quale una parte dei nodi della rete di codifica raggiungono un certo livello di eccitazione di un determinato tipo.

In questo lavoro si assume che la formazione delle aggregazioni corrispondenti agli 8 tipi diversi avvenga tramite processi virtualmente paralleli ed indipendenti, secondo una sorta di principio di sovrapposizione degli effetti.

La generazione del segnale in output è il prodotto dell'eccitazione dei nodi. Nodi molto eccitati

¹⁰ Solo dopo aver assestato a sufficienza la propria posizione, secondo quanto previsto dall'algoritmo *LGWR*.

emettono segnale perdendo una parte della propria eccitazione. Il segnale generato servirà ad organizzare la rete di rappresentazione relativa al tipo di eccitazione.

2.3.3 *Organizzazione delle reti di rappresentazione*

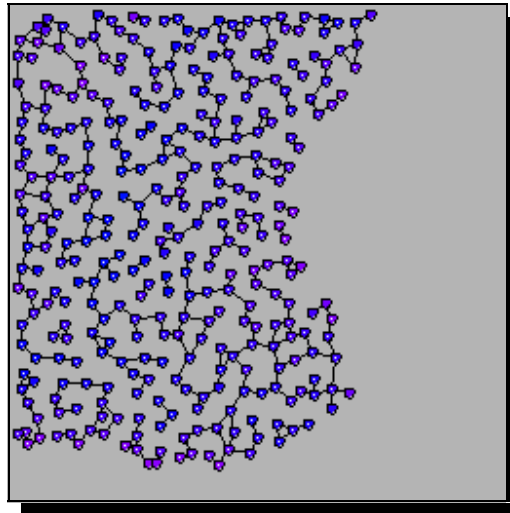


Fig. 13 – Rete di rappresentazione. L'immagine di partenza è la stessa della Fig. 12 ma questa rete rappresenta l'elemento *Land*. Anche in questo caso i nodi raffigurati con un puntino bianco al centro sono i nodi la cui posizione è maggiormente stabilizzata: questa rete ha raggiunto un buon equilibrio dinamico.

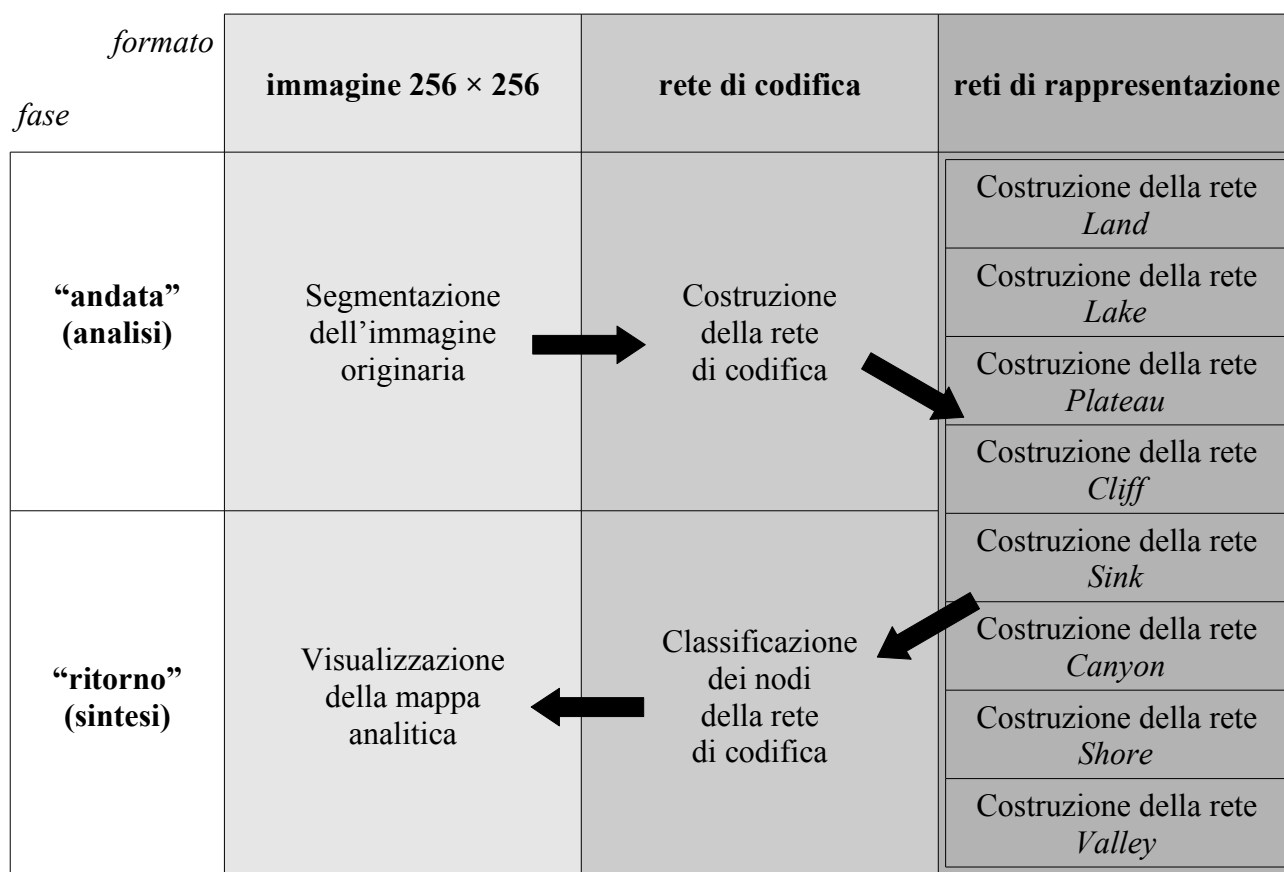
Il segnale in output generato dalle rete di codifica diventa il segnale in input della corrispondente rete di rappresentazione. Come il segnale originato dall'immagine, anche quest'ultimo è descritto da una terna di valori, avente lo stesso significato. L'autorganizzazione delle reti di rappresentazione avviene in modo analogo a quanto accade per la rete di codifica. Le reti così prodotte rappresentano le aggregazioni di nodi nella rete di codifica che vengano eccitati (sempre rispetto ad un particolare tipo di affinità) con sufficiente intensità e che quindi emettono segnale con maggiore frequenza.

2.4 Visualizzazione sintetica delle rappresentazioni

Con la costruzione delle 8 reti di rappresentazione si completa la fase di analisi, nel senso che la macchina ha costruito la propria "rappresentazione interna" dell'immagine originale. Alla fase di analisi deve quindi fare seguito una fase di sintesi, in cui viene prodotta una rappresentazione visuale più facilmente leggibile ed utilizzabile dagli esperti umani.

2.4 VISUALIZZAZIONE SINTETICA DELLE RAPPRESENTAZIONI

Di conseguenza, è necessaria un'elaborazione ulteriore, che faccia una sintesi dell'informazione sugli elementi caratteristici arrivando ad una **mappa analitica** che attribuisca univocamente ogni pixel dell'immagine di partenza ad una determinata *classe ontologica*. Le 6 classi ontologiche usate nella mappa analitica sono mutuamente disgiunte e diverse dai 8 tipi astratti, di cui rappresentano un'opportuna combinazione maggiormente vicina all'ontologia tipica dell'esperto umano.



Il processo di generazione della mappa analitica, in un certo senso, muove nella direzione opposta rispetto a quanto descritto in precedenza per la fase di analisi:

1. Nella passo di segmentazione e codifica abbiamo in *input* l'immagine a 256×256 pixel ed in *output* la rete di codifica.
2. Nel passo successivo in *input* si ha la rete di codifica ed in *output* le 8 reti di rappresentazione.
3. A questo punto, il processo inverte la direzione e l'informazione contenuta nelle 8 reti di rappresentazione viene riportata sulla rete di codifica, attribuendo ogni nodo della rete ad una sola classe ontologica.
4. Infine, a partire dalla classificazione dei nodi della rete di codifica, si ricostruisce un'imma-

gine artificiale a 256×256 pixel in cui a ciascuna colorazione corrisponde una classe.

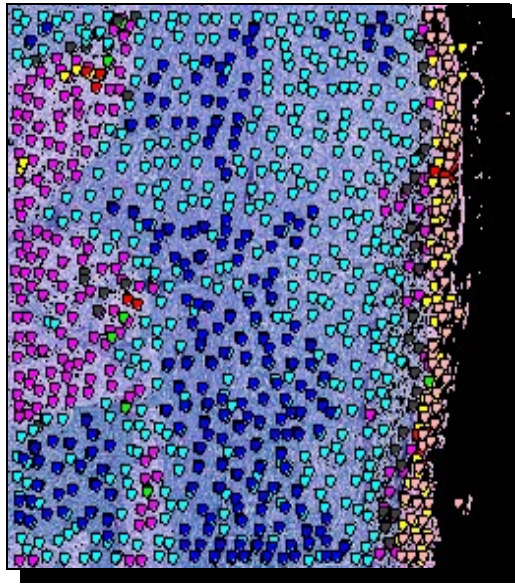


Fig. 14 – Sovrapposizione dei nodi di le reti di rappresentazione, con colori differenti. Sullo sfondo l'immagine originaria. L'area nera a destra è stata rimossa in fase di filtraggio e non genera segnale.

L'informazione in questa forma più sintetica è molto più trattabile e può fungere da base per un'ulteriore elaborazione automatica.

2.4.1 Costruzione della mappa analitica

Costruite le 8 reti di rappresentazione, ad ogni nodo della rete di codifica deve essere assegnata l'appartenenza ad una delle classi ontologiche (indicata con un colore).

Per ogni nodo n della rete di codifica si definiscono dunque 8 valori, uno per ogni rete di rappresentazione. Si parla dunque della **risposta** $r_i(n)$ della i -esima rete di rappresentazione nei confronti del nodo n . Vale

$$r_i(n) = \sum_{x \in R_i} d_{i,n}(x)$$

dove R_i è l'insieme di tutti i nodi della i -esima rete di rappresentazione, mentre $d_{i,n}(x)$ è una funzione opportuna, decrescente al crescere della distanza di x da n e che si annulla fuori da un intorno (di un dato raggio) centrato su n (v. Fig. 15).

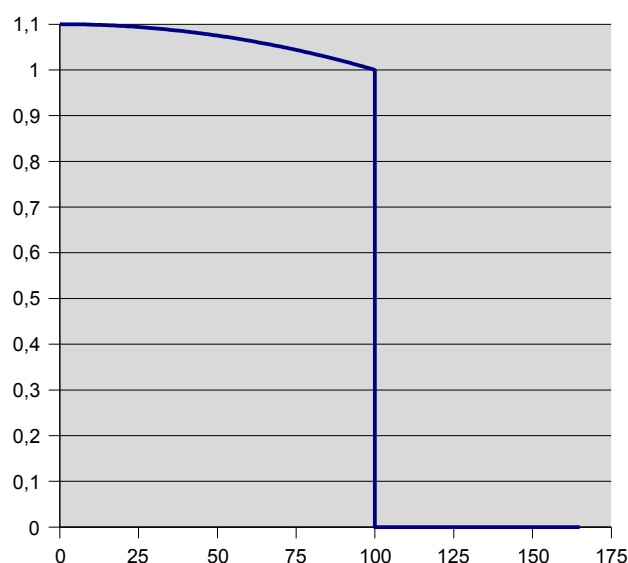


Fig. 15 – Grafico della funzione d in funzione della distanza tra i nodi. Il valori in ascissa sono espressi come percentuali di un raggio, il cui valore effettivo dipende dal tipo astratto e dalla densità locale della rete.

Questo insieme di 8 valori di risposta viene in seguito opportunamente elaborato: secondo un ordine di priorità, risposte relative a tipi astratti meno specifici (per esempio, *Lake*) vengono azzerate ed il loro valore viene attribuito alle risposte relative a tipi astratti più specifici (per esempio, *Shore*). Nella 8-upla dei valori di risposta così corretta, si determina a quale tipo astratto corrisponda la risposta più forte. Il tipo corrispondente alla massima risposta stabilisce dunque il “colore” di n secondo questa tabella:

tipo astratto della fase di analisi	classe ontologica della fase di sintesi
<i>Land</i>	<i>SlightlyAlteredParenchyma</i>
<i>Plateau</i>	<i>NormalParenchyma</i>
<i>Cliff</i>	<i>TransitionalParenchyma</i>
<i>Shore</i>	<i>CapsuleOrOtherBoundary</i>
<i>Lake</i>	<i>MetastasisOrMassiveHistiocytosis</i>
<i>Valley</i>	<i>VesselOrSeriousAlteration</i>
<i>Sink</i>	
<i>Canyon</i>	

Si noti che vi è una confluenza di tre tipi astratti in fase di analisi in una medesima classe nella fase di sintesi.

L’aspetto decisivo di tutta questa fase dal punto di vista diagnostico è il destino delle regioni affini al tipo *Lake*, che sono candidate ad essere indizio della presenza di metastasi nel linfonodo. Con

meccanismi di esclusione (per maggiore specificità, come con *Shore*) o di competizione (compresenza nella stessa regione di tipi come *Valley* o *Land*) le aree, generalmente vaste, su cui si estende la rete di rappresentazione di tipo *Lake*, si riducono di molto e spesso spariscono nel passaggio da *Lake* (fase di analisi) a *MetastasisOrMassiveHistiocytosis* (fase di sintesi). La permanenza di significative aree classificate come *MetastasisOrMassiveHistiocytosis* nella mappa analitica in posizioni compatibili con la presenza di metastasi sono indicative della mancanza di una “spiegazione alternativa”, da parte della macchina, della presenza di determinate *feature* geometrico-morfologiche nella rete: la patologia viene definita per differenza. Deve tuttavia trattarsi di una definizione per differenza certamente il più precisa possibile ma soprattutto affidabile: se il costo di un falso negativo è solo un riesame del preparato istologico da parte di un operatore umano, il costo di un falso positivo è una diagnosi sbagliata dalle conseguenze potenzialmente molto gravi.

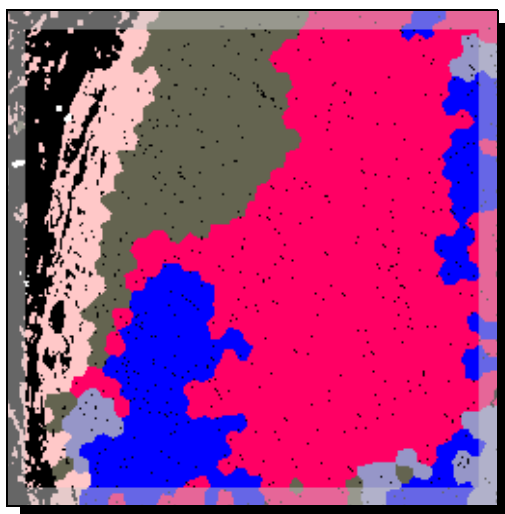


Fig. 16 – Mappa di classificazione. La zona ombreggiata ha una classificazione poco affidabile perché è vicina ai bordi dell’immagine dove sono poco chiare le caratteristiche 2.5D della codifica.

Dalla classificazione dei nodi di codifica è poi necessario passare ad una visualizzazione dello stesso genere dell’immagine iniziale, vale a dire la mappa analitica. I pixel della mappa ricevono un’attribuzione di classe/colore uguale a quella del nodo di codifica più vicino¹¹. Più precisamente, con l’eccezione dei pixel corrispondenti a regioni “vuote” dell’immagine di partenza (tipicamente adipociti o spazio extracellulare, indicate in nero e posti in una classe particolare), la mappa analitica è costituita dalle celle di Voronoi¹² di ciascun nodo della rete di codifica (proiettata sul piano

11 La rete di codifica è su 3 dimensioni. Per *nodo più vicino* ad un pixel intendiamo il nodo la cui proiezione sul piano XY ha una distanza cartesiana minore rispetto al pixel, visto come un punto del medesimo piano. Più in generale, come è specificato più avanti, al momento di realizzare la mappa di codifica non viene più utilizzata l’informazione di quota *z*: le reti sono “schiacciate” sul piano XY.

12 In un qualsiasi spazio dotato di metrica di cui sia definito un sottoinsieme di punti detti *punti generativi*, la **cella di Voronoi** di un punto generativo è l’insieme di tutti i punti dello spazio più vicini (sulla base di una funzione

XY) opportunamente “colorate”.

2.4.2 *L'interpretazione dei risultati*

2.4.2.1 Esempi di immagini negative riconosciute

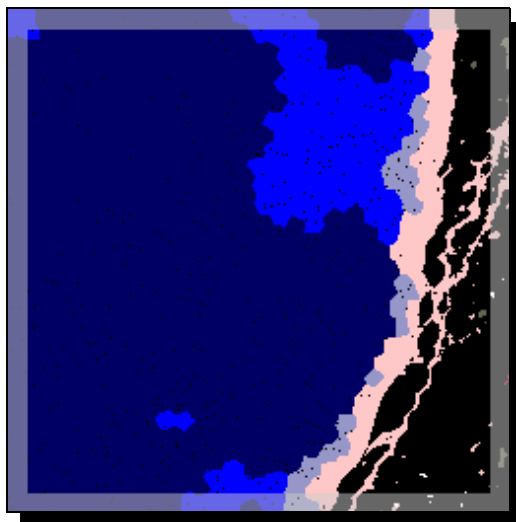


Fig. 17 – Mappa analitica (9027023bis, negativa).

9027023bis. Alla fine della fase di analisi, le reti di rappresentazione, che erano tutte presenti, confluiscono nei soli 4 colori indicativi di uno stato non patologico di quella regione del linfonodo. Si noti in il seno midollare che si diparte dalle vicinanze della capsula verso l'interno del parenchima.

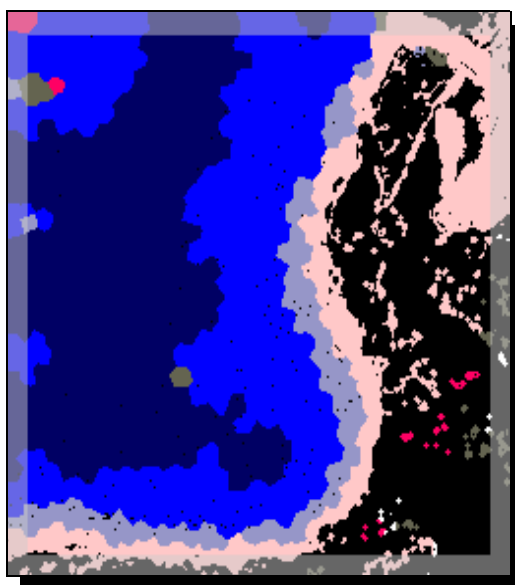


Fig. 18 – Mappa analitica (10039032, negativa).

distanza) a quel punto generativo che a qualsiasi altro punto generativo.

10039032. È molto ben evidente la successione di capsula, seno marginale, parenchima a leggera presenza di istiociti e infine zona maggiormente ematossilinofila del parenchima. La piccola macchia rossa in alto a sinistra, oltre ad essere in posizione difficile da giustificarsi per una metastasi, è stata in realtà conseguenza di un difetto dell'immagine. Il materiale all'esterno della capsula marcato di rosso è in una posizione decisamente incompatibile con una colonizzazione metastatica.

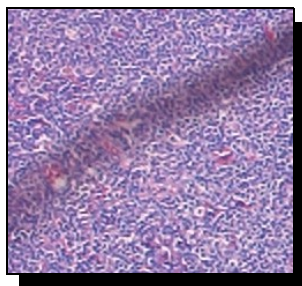


Fig. 19 – Particolare dell'immagine 10039032. Questo difetto ha generato un'incorretta classificazione in questa regione dell'immagine (cfr. Fig. 18).

2.4.2.2 Esempi di immagini positive riconosciute

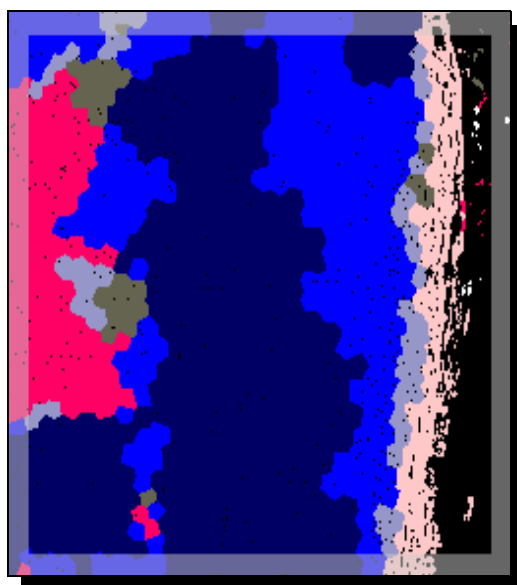


Fig. 20 – Mappa analitica (4565017bis, positiva).

4565017bis. La mappa delinea piuttosto precisamente il contorno della metastasi, vicina al bordo sinistro. Una formazione metastatica più piccola, vicina al bordo inferiore, viene individuata anche se viene attribuita un'area decisamente minore di quella reale. Strutture di collagene, piccoli vasi e punti di difficile interpretazione nella struttura della rete vicino alle metastasi sono stati classificati come alterazioni o come regioni di transizione. Anche in questa immagine è precisa la delimitazione del seno midollare sul lato destro del parenchima.

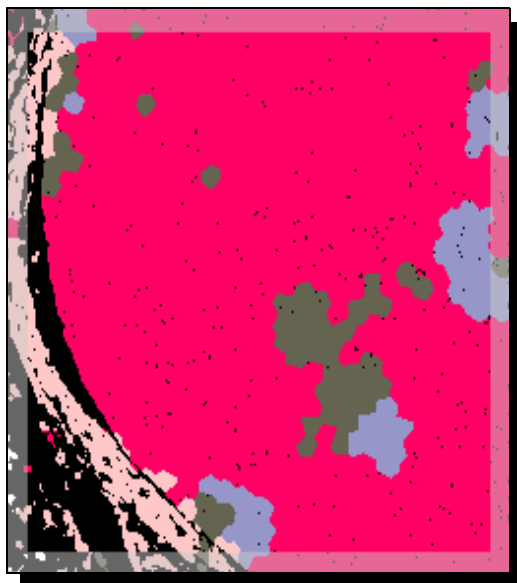


Fig. 21 – Mappa analitica (3161006, positiva).

3161006. La parte di linfonodo raffigurata in questa immagine è completamente invasa dalla metastasi ed in effetti la mappa non indica alcuna zona di parenchima ordinario. La capsula si è separata dal parenchima metastatizzato ed è correttamente individuata nella mappa. La macchia di colore neutro al centro della metastasi è dovuta alla presenza di collagene.

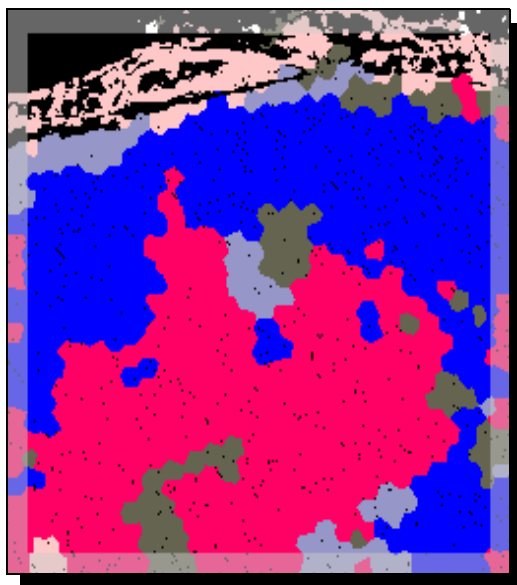


Fig. 22 – Mappa analitica (19082002, positiva).

19082002. Anche in questo caso, l'ampia metastasi al centro dell'immagine è correttamente indicata dalla mappa. Anche una metastasi nel seno marginale, più difficile da individuare, è rivelata in rosso nell'angolo in alto a destra, sebbene la classificazione corretta sia entrata in competizione

con *VesselOrSeriousAlteration*. Anche qui aggregazioni di collagene entro la metastasi sono state segnalate come alterazioni.

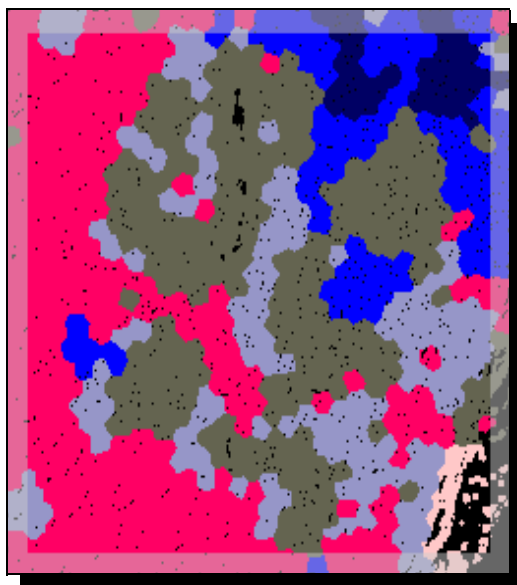


Fig. 23 – Mappa analitica (3161010, positiva).

3161010. Questa immagine è stata inserita nel campione proprio in quanto la sua analisi è stata considerata particolarmente complessa. Le difficoltà iniziano già a livello di segmentazione in quanto la regione della metastasi si mantiene su tinte molto vicine a quelle del parenchima sano; a questo si aggiunge la presenza di grandi vasi con una forte colorazione di eosina, la colonizzazione del seno marginale da parte delle cellule neoplastiche e una forte istiocitosi alla zona di confine tra metastasi e tessuto linfoide. Il risultato ottenuto è abbastanza soddisfacente in quanto la mappa coglie gli aspetti fondamentali: metastasi nella zona sinistra ed inferiore, con un sottile prolungamento lungo il seno marginale (anche se i confini vengono definiti piuttosto approssimativamente), capsula in basso a destra, parenchima sano in alto a destra e in un’“isola” all’interno della metastasi, zona con vasi e alterazioni (istiocitosi) al centro.

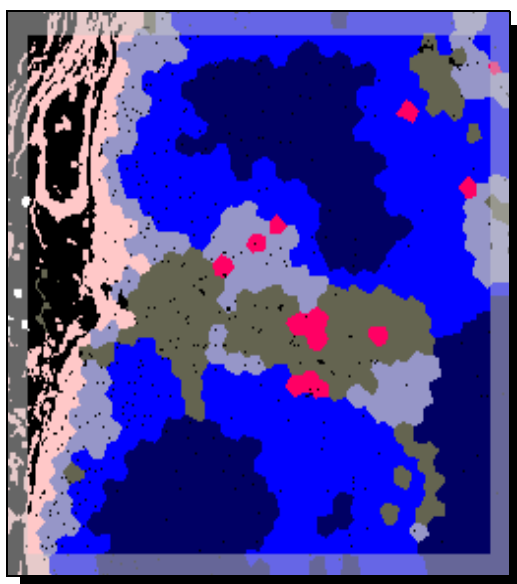


Fig. 24 – Mappa analitica (18441002, positiva).

18441002. In questa immagine sono presenti metastasi nei seni. Due aggregati metastatici (quelli al centro dell'immagine) sono stati individuati correttamente. Il seno midollare con forte presenza di collagene è stato indicato quasi tutto in grigio come zona transitoria del parenchima e in colore neutro come alterazione o vaso, ma nelle zone dove si trovano le metastasi abbiamo regioni in rosso. Le due macchie rosse piccole più in alto a destra sono invece probabilmente un errore di classificazione, anche se la zona di una delle due macchie è stata giudicata dagli stessi anatomopatologi meritevole di un'ulteriore ispezione.

2.4.2.3 Esempi di falsi positivi

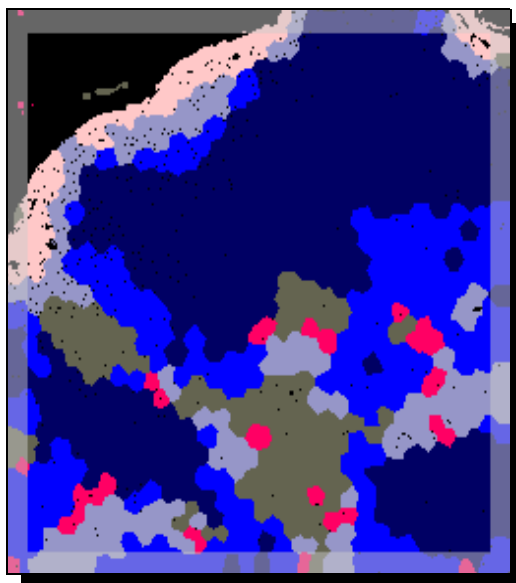


Fig. 25 – Mappa analitica (4565001, negativa).

4565001. Le zone, nella parte bassa dell'immagine originale, con forte colorazione di eosina e un confine netto, sono parti di tessuto affette da istiocitosi e con notevole presenza di piccoli vasi o comunque di strutture di collagene. L'immagine è dunque negativa. La mappa rappresenta correttamente la capsula, il seno marginale (in grigio), il confine tra parenchima normale e parenchima affetto da istiocitosi paracortical (in alto a destra, passaggio dal blu scuro al blu chiaro), ma la classificazione delle zone in basso è decisamente incerta, seppure in prevalenza corretta; la posizione in cui sarebbero presenti secondo la mappa piccole regioni metastatiche è perlomeno sospetta e quindi con un'indicazione di questo tipo si dovrebbe procedere ad un esame più approfondito del preparato istologico.

2.4.2.4 Problemi riscontrati

Nessuna mappa si è rivelata, nei test effettuati, un falso negativo. Il problema principale pare essere piuttosto quello dei falsi positivi. Se nella maggior parte dei casi si può ritenere possibile un miglioramento delle prestazioni attraverso la correzione di alcuni parametri, esiste un insieme di risultati erronei che richiede una soluzione mirata.

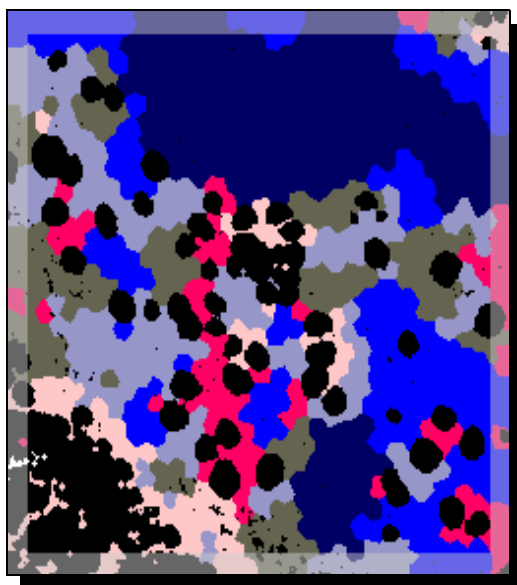


Fig. 26 – Mappa analitica (10039025, negativa).

10039025. Questa immagine mostra un istiocitosi nella parte sinistra e in quella inferiore. Alcune zone in prossimità di adipociti e interessate da istiocitosi sono tuttavia segnalate sulla mappa in rosso e altre nel colore salmone che generalmente indica la capsula. L'errore sulla capsula si spiega facilmente: l'ampiezza degli spazi vuoti creati da diversi adipociti affiancati ha generato nella rete di codifica una situazione morfologica del tutto simile a quella tipica delle *star* collocate lungo la capsula, producendo così eccitazione di tipo *Shore*. Per quanto riguarda l'erronea classificazione in rosso di altri nodi prossimi agli adipociti, riteniamo che, sebbene la posizione di queste aree in regioni interessate dal fenomeno della metaplasia grassa escluda con ragionevole sicurezza la possibilità che si tratti veramente di metastasi, la loro estensione sia tale da suggerire che, nel caso di immagini con importante infiltrazione di adipociti, questo sistema non è in grado di fornire risultati attendibili.

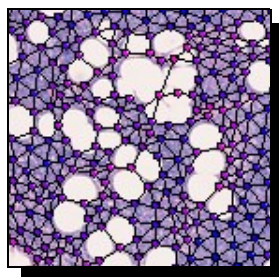


Fig. 27 – Particolare di una rete di codifica. In corrispondenza degli adipociti la rete è "bucata".

Per scelta esplicita e con l'intenzione di semplificare il sistema, nella rete di codifica gli adipociti sono semplicemente aree sulle quali non vengono collocati nodi (le regioni corrispondenti non

2.4 VISUALIZZAZIONE SINTETICA DELLE RAPPRESENTAZIONI

emettono segnale). Probabilmente la soluzione del problema qui descritto consiste nel trovare una forma per rappresentare in forma positiva (e non solo come “buco”) questa classe di oggetti.

3 Tecniche utilizzate

3.1 L'ontologia dell'esperto umano

L'ontologia, espressa in linguaggio OWL, che è stata realizzata (attraverso lo strumento visuale *Protégé 3.1.1*) per la descrizione formale dei rapporti tra i diversi oggetti che possono essere riconosciuti nell'ispezione di un preparato istologico ricavato da un linfonodo sentinella è stata battezzata *LymphNode*.

L'ontologia è organizzata in 4 **classi** principali: *Anatomy*, *Visual*, *Abnormality* e *Pathology*.

Oltre alle classi principali, anche le **relazioni**, che hanno un significato che può essere intuito sulla base del nome e il cui uso è spiegato nelle descrizioni delle classi, si ispirano a quelle sviluppate in [Bertaiola 2004].

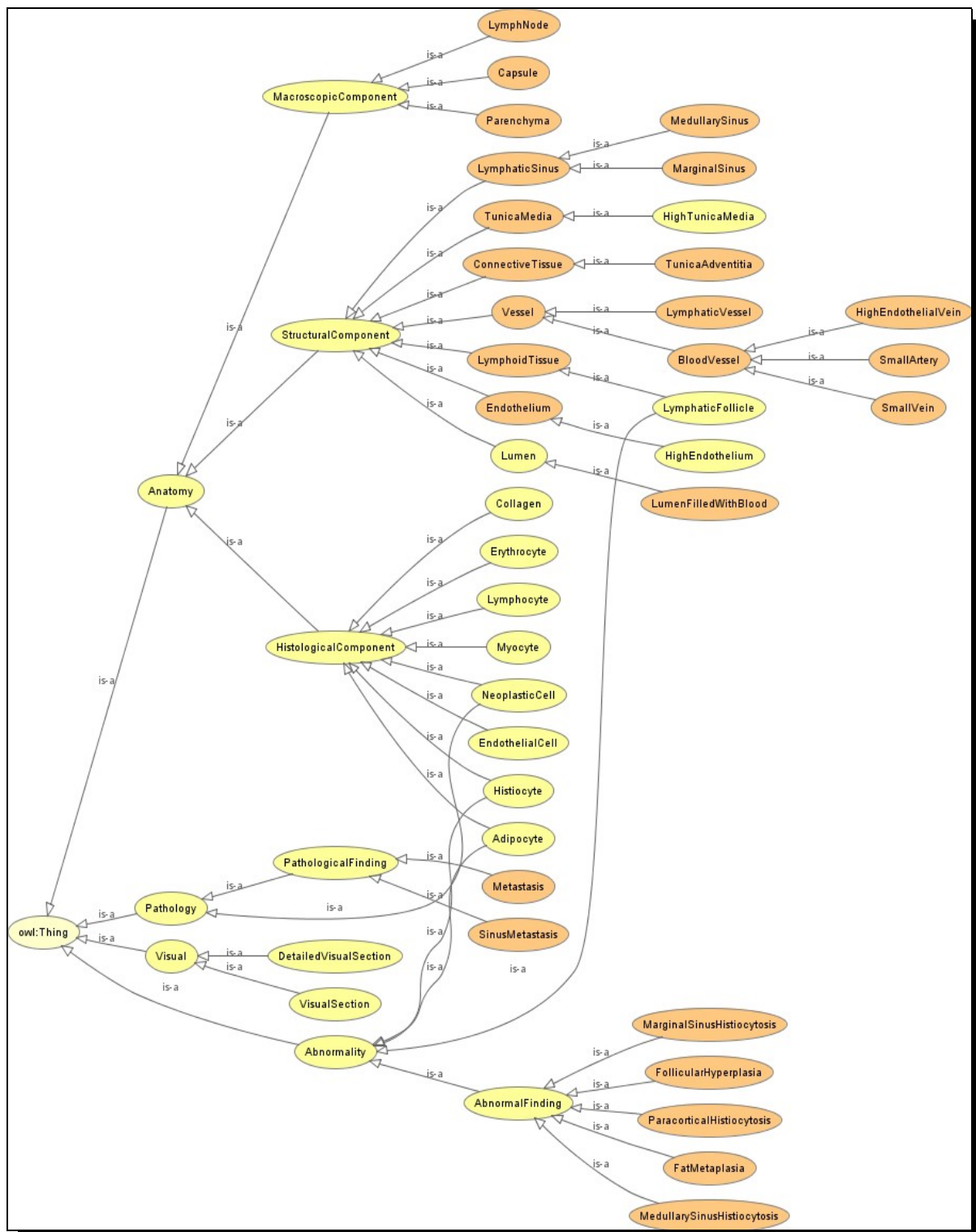


Fig. 28 – Ontologia dell'esperto umano (*LymphNode*). Le classi rappresentate in arancione sono classi definite con condizioni necessarie e sufficienti in termini delle loro relazioni con altre classi dell'ontologia.

3.1.1 La classe Anatomy

Nella classe *Anatomy* è descritta l'anatomia del linfonodo, al livello di dettaglio che ci è utile. Questa classe è partizionata in tre classi di componenti (*HistologicalComponent*, *MacroscopicComponent*, *StructuralComponent*): manca una classe *MicroscopicComponent* o *CytologicalComponent* perché non abbiamo spinto l'ispezione automatica dei preparati al livello citologico; questa ontologia ha pertanto un livello di espressività adeguato ai nostri obiettivi.

3.1.1.1 La classe *MacroscopicComponent*

Rientrano nella classe *MacroscopicComponent* quelle componenti anatomiche che possono essere discriminate anche macroscopicamente.

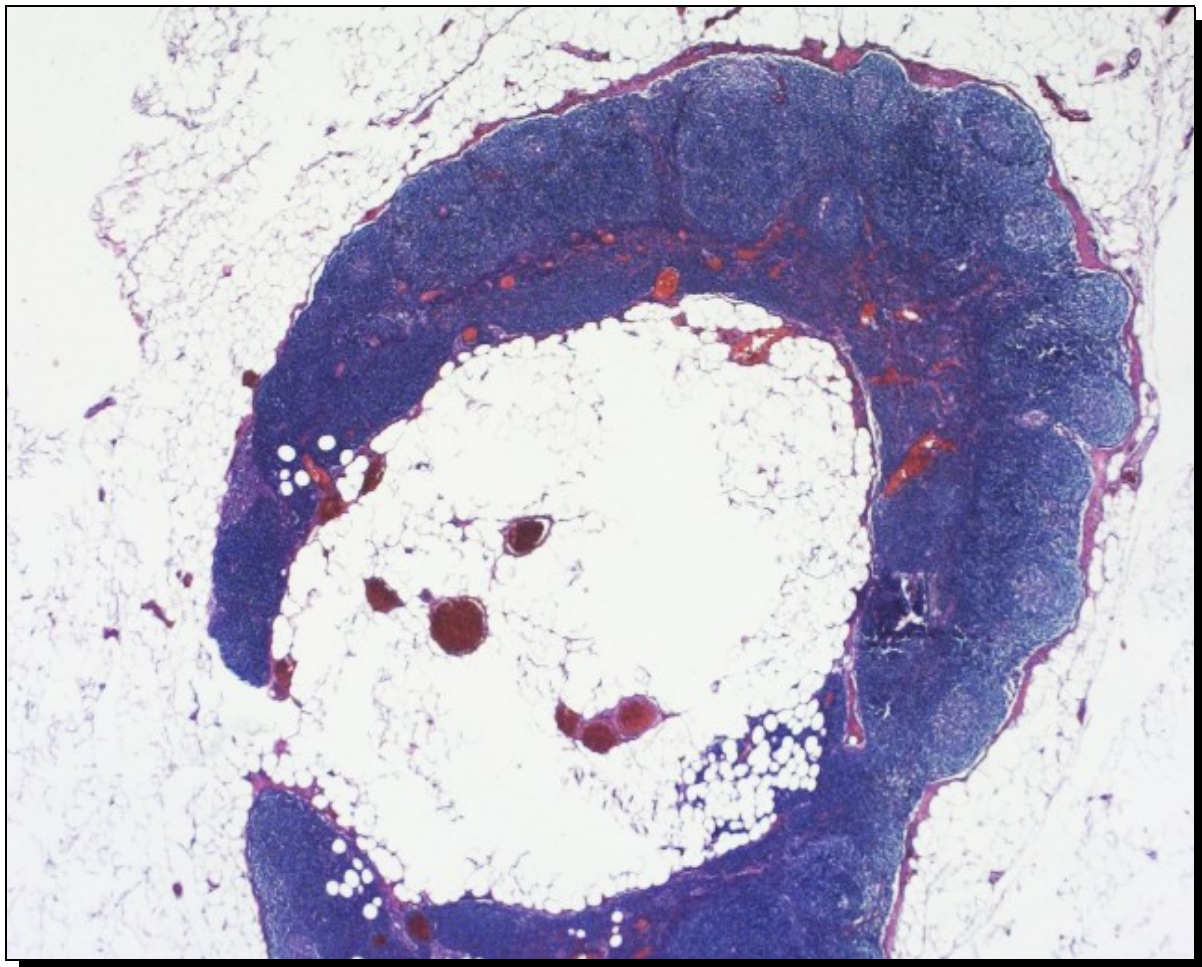


Fig. 29 – Linfonodo. Si riconoscono la capsula (rosa-viola) e il parenchima (blu-indaco).

Si tratta della capsula del linfonodo (*Capsule*), costituita da **collagene** fortemente eosinofilo, del parenchima (*Parenchyma*), cioè della parte del linfonodo che è racchiusa dalla capsula e che si

struttura in cellule di varia natura, e infine del linfonodo stesso (*LymphNode*) considerato nella sua interezza. La classe *LymphNode*, come tutte le sottoclassi di *MacroscopicComponent*, è definita mediante condizioni necessarie e sufficienti: è un linfonodo ogni componente anatomica macroscopica che sia composta solo da una capsula e un parenchima (naturalmente, questo vale nell'ambito di questa specifica ontologia); in termini formali, ogni istanza di *LymphNode* ha esattamente due relazioni *hasDirectAnatomicComponent*, una verso un'istanza di *Capsule* ed una verso un'istanza di *Parenchyma*. A sua volta membro della classe *Capsule* è solo ogni componente anatomico macroscopico composto di tessuto connettivo (formalmente: ogni istanza ha una relazione *hasStructuralComponent* verso un'istanza di *ConnectiveTissue*) che circonda il parenchima (formalmente: ogni istanza ha una relazione *surrounds* verso un'istanza di *Parenchyma*). Il parenchima, infine, equivale a quel componente anatomico macroscopico composto di tessuto linfoide (formalmente: ogni istanza di *Parenchyma* ha una relazione *hasStructuralComponent* verso un'istanza di *LymphoidTissue*).

3.1.1.2 La classe *StructuralComponent*

Rientrano nella classe *StructuralComponent* le componenti anatomiche, costituenti unità funzionali, che sono parte della struttura delle istanze di *MacroscopicComponent*.

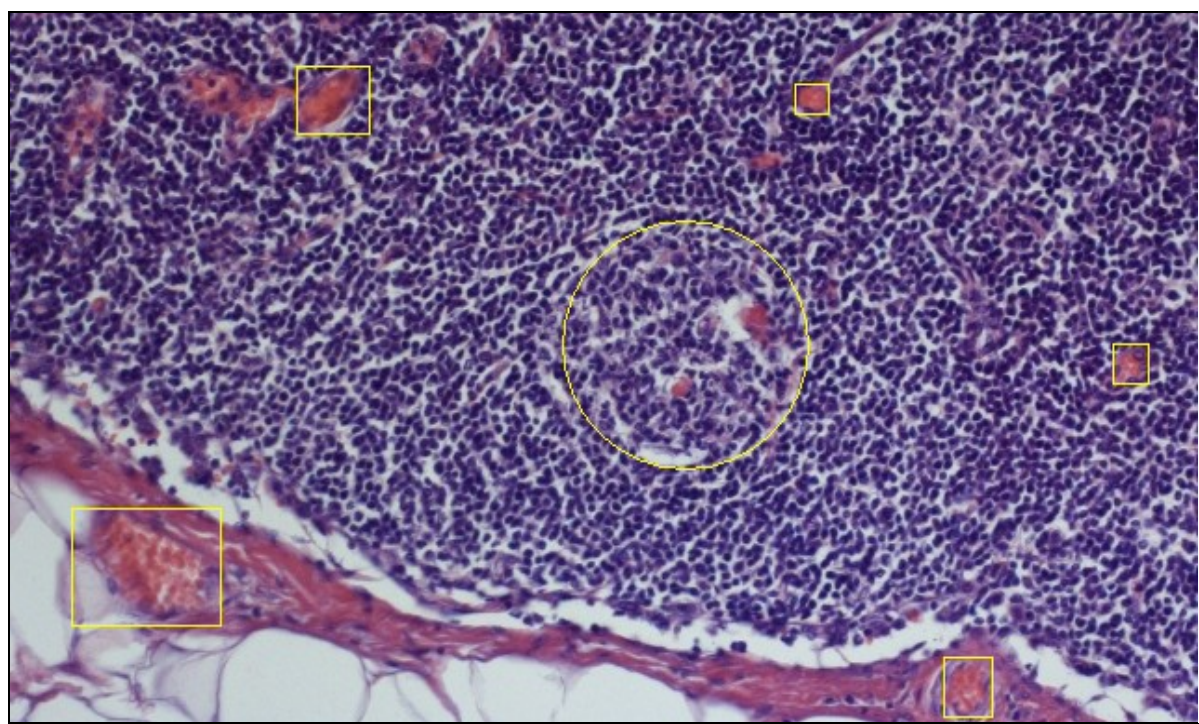


Fig. 30 – Cerchiato, un follicolo. È ben visibile anche il tessuto connettivo (rosa-viola) che forma la capsula e il tessuto linfoide (blu-indaco) che forma il parenchima. Nei rettangoli, alcune venule e arteriole (all'interno sono presenti gli eritrociti di un rosso intenso).

Le sottoclassi di *StructuralComponent* sono *ConnectiveTissue*, *Endothelium*, *Lumen*, *LymphaticSinus*, *LymphoidTissue*, *TunicaMedia* e *Vessel*.

3.1.1.2.1 La classe *ConnectiveTissue*

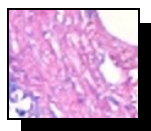


Fig. 31 – Tessuto connettivo.

La classe *ConnectiveTissue* rappresenta le parti di tessuto connettivo che si trovano specialmente al contorno della sezione del linfonodo rappresentata dal preparato istologico.

Nella definizione della classe, si asserisce che il tessuto connettivo è composto di collagene (ovvero: ogni istanza di *ConnectiveTissue* ha una relazione *hasHistologicalComponent* verso un'istanza di *Collagen*). Ogni membro di *MacroscopicComponent* che rispetti questa condizione è necessariamente un'istanza di *ConnectiveTissue*.

ConnectiveTissue ha una sottoclasse, *TunicaAdventitia*, che rappresenta appunto la **tonaca avventizia**, ossia una struttura composta da collagene che circonda, in un vaso, la **tonaca media** (nella sua descrizione formale, abbiamo infatti che ogni sua istanza ha una relazione *surrounds* verso un'istanza di *TunicaMedia*: questa condizione è necessaria e sufficiente per asserire che un membro di *ConnectiveTissue* è anche un'istanza di *TunicaAdventitia*).

Questo tessuto ha una *texture* piuttosto omogenea, generalmente con fini striature dovute alla sua struttura “a sfoglia”.

Nella condizione oggetto dello studio, nel tessuto connettivo non si trovano metastasi; distinguere il tessuto connettivo da altri tessuti ha pertanto un'importanza solo nella misura in cui serve a riconoscere altri tipi di strutture.

3.1.1.2.2 La classe *LymphoidTissue*

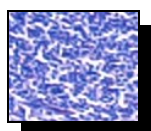


Fig. 32 – Tessuto linfoide.

La classe *LymphoidTissue* rappresenta le parti di tessuto linfoide.

Nella definizione della classe, si asserisce che il tessuto connettivo è composto di **linfociti** (ovvero: ogni istanza di *LymphoidTissue* ha una relazione *hasHistologicalComponent* verso un'istanza

di *Lymphocyte*). Ogni membro di *MacroscopicComponent* che rispetti questa condizione è necessariamente un'istanza di *LymphoidTissue*.

LymphoidTissue ha una sottoclasse, *LymphaticFollicle*.

Questo tessuto rivela nella sua *texture* la sua microstruttura cellulare.

Gli elementi salienti di un preparato istologico o confinano con il tessuto linfoide o si trovano al suo interno.

3.1.1.2.2.1 La classe *LymphaticFollicle*

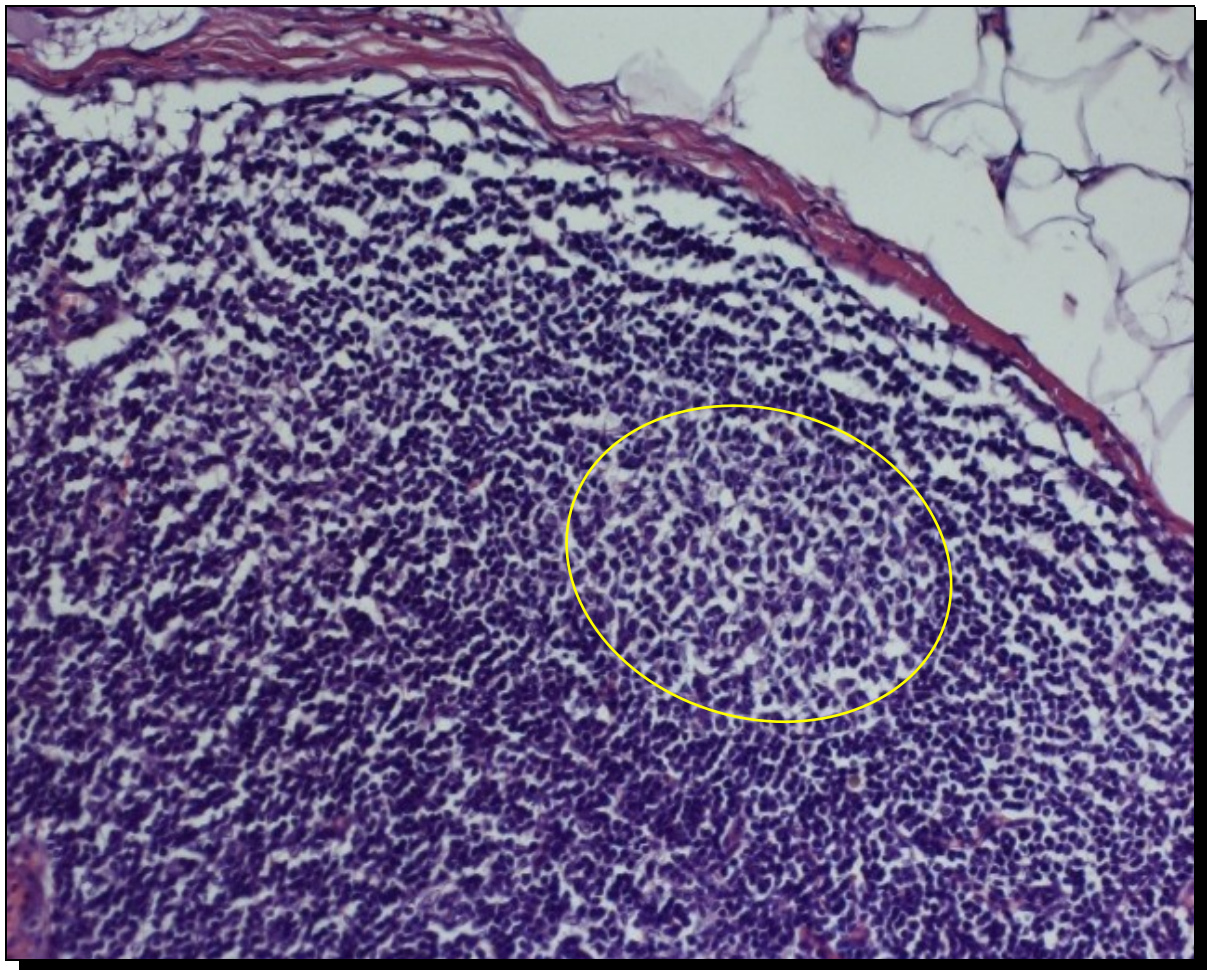


Fig. 33 – Cerchiato, un follicolo. Non sempre i follicoli sono ben visibili.

La classe *LymphaticFollicle* rappresenta i **follicoli linfatici**, cioè le strutture tipicamente sferoidali (in sezione, tondeggianti) di proliferazione della massa dei linfociti. Nella zona centrale dei follicoli si addensano i **linfoblasti**, ossia i linfociti immaturi (non ben differenziati) che generano per mitosi i linfociti maturi (ad un livello di dettaglio citologico, non è inconsueto riuscire a vedere alcuni eventi mitotici “in corso” bloccati dal processo di fissaggio del preparato). I blasti hanno una

colorazione simile a quella dei linfociti, ma meno satura, circostanza che rende riconoscibili i follicoli all'interno del tessuto linfoide.

Un'esagerata divisione cellulare nei follicoli costituisce una condizione parafisiologica nel linfonodo; in tali casi si parla di *iperplasia follicolare*. Nel contesto di questa ontologia, la classificazione dell'iperplasia follicolare come un possibile ritrovamento anomalo giustifica la collocazione della classe *LymphaticFollicle* anche tra le sottoclassi di *Abnormality*.

3.1.1.2.3 La classe *LymphaticSinus*

La classe *LymphaticSinus* rappresenta i **seni linfatici**, canali delimitati da pareti altamente discontinue entro cui la linfa (non il sangue) scorre nel tessuto linfoide.

Nella definizione della classe, si asserisce che è condizione necessaria e sufficiente per l'appartenenza a *LymphaticSinus* avere un lume senza materiale ematico al suo interno e inoltre non avere un endotelio visibile (formalmente: essere un'istanza di questa classe equivale ad avere una relazione *hasStructuralComponent* con un'istanza di *Lumen* ma non verso un'istanza di *LumenFilledWithBlood* né verso un'istanza di *Endothelium*).

Le sottoclassi di *LymphaticSinus* sono *MarginalSinus* e *MedullarySinus*.

3.1.1.2.3.1 La classe *MarginalSinus*

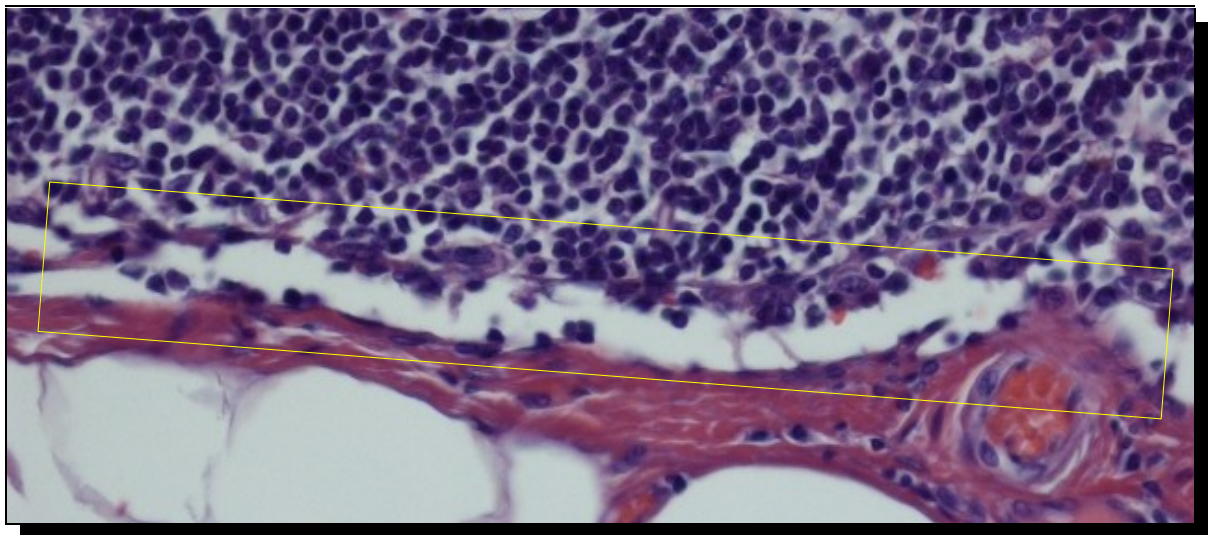


Fig. 34 – Seno marginale (bianco), indicato dal rettangolo.

La classe *MarginalSinus*, sottoclasse di *LymphaticVessel*, rappresenta i **seni marginali**. Un seno marginale è uno spazio virtuale che si forma tra capsula e parenchima in cui fluisce la linfa. La linfa si perde nel processo di allestimento del preparato istologico e dunque la zona percorsa dal materia-

le linfatico appare come uno spazio otticamente vuoto (bianco).

Questa classe è caratterizzata (come condizione necessaria e sufficiente) da due ulteriori asserzioni che ne formalizzano la collocazione spaziale: ogni sua istanza deve infatti avere una relazione *isBelow* verso un'istanza di *Capsule* e una relazione *isPeripheralTo* verso un'istanza di *Parenchyma*.

3.1.1.2.3.2 La classe *MedullarySinus*

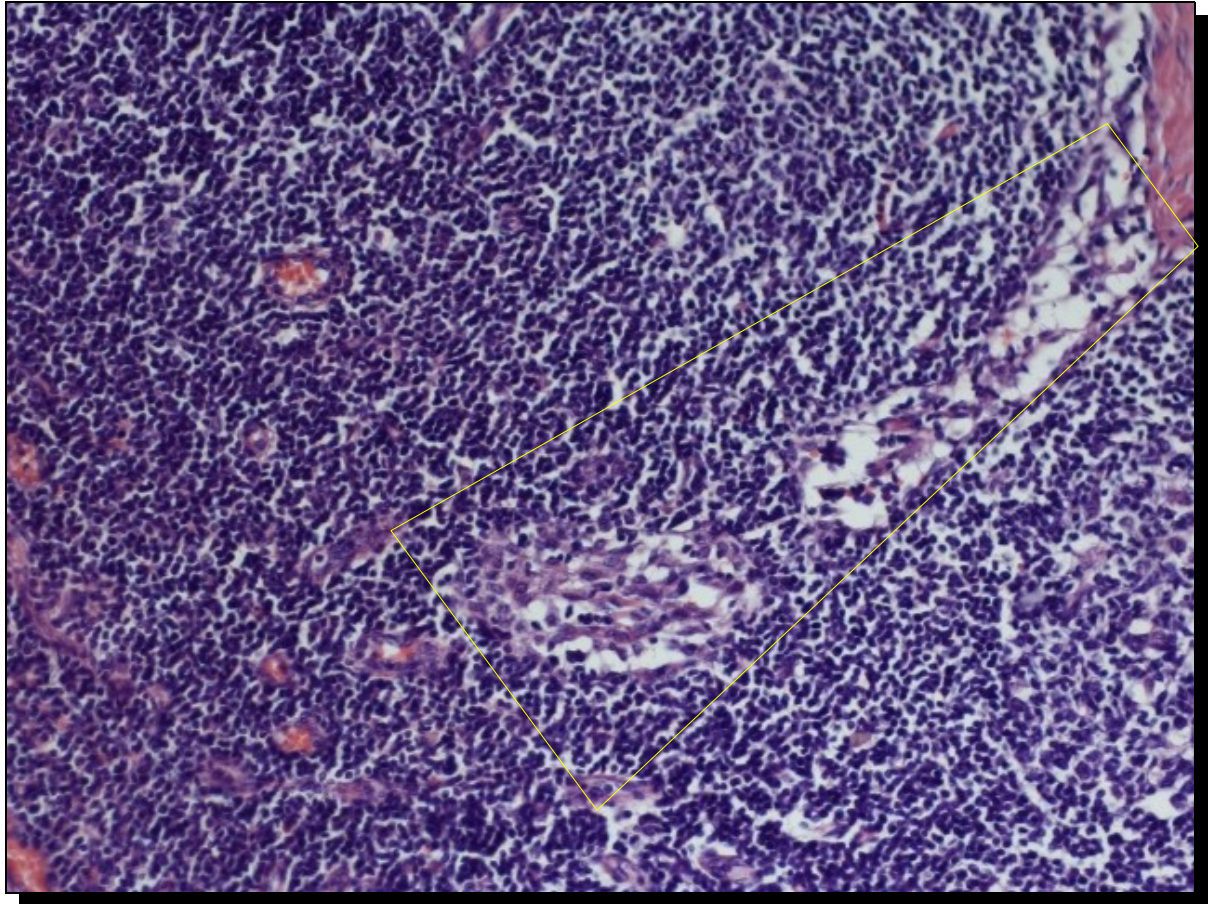


Fig. 35 – Seno midollare (zona bianca con chiazze violacee), indicato dal quadrilatero.

La classe *MedullarySinus*, sottoclasse di *LymphaticVessel*, rappresenta i **seni midollari**. Un seno midollare è uno spazio virtuale che si apre all'interno del parenchima attraverso cui fluisce la linfa. Il seno midollare ha confini meno netti col tessuto linfoide rispetto ai confini del seno marginale ed è un sito in cui si trova fisiologicamente una certa concentrazione di istiociti, ragione per cui a medio ingrandimento appare come una zona bianca chiazzata dal blu-viola delle cellule linfatiche e dei macrofagi.

Questa classe è caratterizzata (come condizione necessaria e sufficiente) da un'ulteriore asser-

zione che ne formalizza la collocazione spaziale: ogni sua istanza deve infatti avere una relazione *runsThrough* verso un'istanza di *Parenchyma*.

3.1.1.2.4 La classe Lumen

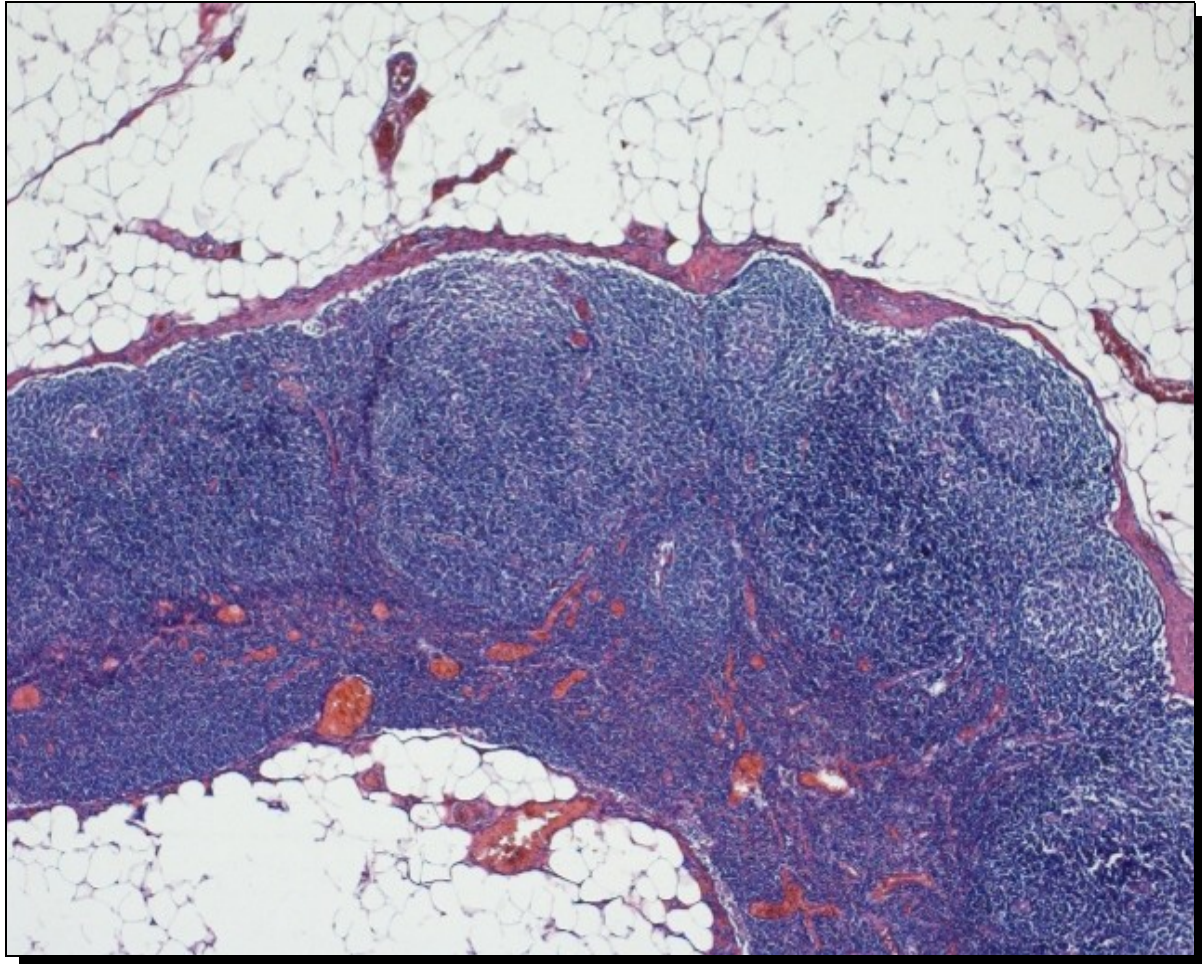


Fig. 36 – Particolare di linfonodo a basso ingrandimento. In questa immagine è molto chiara la differenza tra lumi dei vasi sanguigni e lumi dei seni linfatici. Lo spazio bianco tra la capsula e il parenchima (più evidente nella parte superiore dell'immagine) è il lume del seno linfatico, mentre le "macchie" rosse (presenti soprattutto nella parte inferiore dell'immagine) sono lumi di venule e arteriole, pieni di materiale ematico.

La classe *Lumen* rappresenta i **lumi** presenti nel linfonodo. Con il termine *lume* in anatomia si intende lo spazio aperto o la cavità all'interno di qualsiasi organo o struttura cava, per lo più tubulare; in questo contesto, se escludiamo i lumi creati talvolta da formazioni neoplastiche di tipo ghiandolare, ci si può imbattere solo nei lumi dei vasi sanguigni, nei lumi dei seni linfatici o nei lumi delle venule ad endotelio alto. Consideriamo quest'ultimo caso separatamente perché si tratta di un lume in cui non si verifica solo passaggio di materiale sanguigno, ma anche ricircolo di linfociti.

Nella definizione della sottoclasse *LumenFilledWithBlood*, prendiamo in considerazione i lumi dei vasi sanguigni, che sono riempiti da globuli rossi (ovvero: ogni istanza di *LumenFilledWith-*

Blood ha una relazione *isFilledOf* verso un'istanza di *Erythrocyte*). In effetti, nei preparati istologici relativi a linfonodi, i lumi dei vasi sanguigni non sono ben visibili come spazi vuoti ma sono spesso resi riconoscibili proprio dalla presenza di eritrociti.

Episodicamente, tuttavia, eventi traumatici legati al prelievo chirurgico possono comportare lo stravasamento di materiale ematico all'esterno dei vasi, cioè la dislocazione di globuli rossi in forma sparsa al di fuori dei lumi: la presenza di eritrociti isolati non è dunque, a rigore, automaticamente significativa nella localizzazione di un lume se non sono rispettati opportuni criteri morfologici (se i vasi hanno una forma tubulare, la sezione di un lume può assumere solo alcune forme; inoltre, il tessuto linfoide non riempie mai il lume di un vaso sanguigno se non quello di una venula ad endotelio alto – la compresenza di globuli rossi e di linfociti nella stessa regione spingerà piuttosto a ritenere che del materiale ematico si sia stravasato nel tessuto linfoide). Viceversa talvolta succede che un lume che trasporta sangue nel linfonodo si presenti, nella sezione utilizzata per un particolare preparato istologico, privo di eritrociti al suo interno. L'intera classe con la sua sottoclasse va dunque considerata *cum grano salis*.

3.1.1.2.5 La classe Endothelium

La classe *Endothelium* rappresenta l'**endotelio** ossia quel tessuto formato da uno strato compatto di cellule appiattite che riveste internamente i vasi sanguigni e linfatici (e il cuore), circondandone dunque il lume. Le cellule che compongono l'endotelio sono dette appunto **cellule endoteliali**. Formalmente, affinché un'istanza di *StructuralComponent* sia anche membro di *Endothelium* è condizione necessaria e sufficiente che abbia una relazione *hasHistologicalComponent* verso un'istanza di *EndothelialCell*. Inoltre ogni istanza di *Endothelium* ha una relazione *surrounds* verso un'istanza di *Lumen*.

Endothelium ha una sottoclasse, **HighEndothelium**, che rappresenta uno strato endoteliale “alto” ossia di significativo spessore, che diventa in tal caso indicativo della presenza di una venula ad endotelio alto.

3.1.1.2.6 La classe TunicaMedia

La classe *TunicaMedia* rappresenta la tonaca media ossia lo strato intermedio (collocato tra l'endotelio e la tonaca avventizia) dei vasi, composto di cellule muscolari lisce (e di tessuto elastico, che per semplicità non considereremo in questa ontologia). Formalmente, affinché un'istanza di *StructuralComponent* sia anche membro di *Endothelium* è condizione necessaria e sufficiente che abbia una relazione *hasHistologicalComponent* verso un'istanza di *Myocyte* e che abbia una relazio-

ne *surrounds* verso un'istanza di *Endothelium*.

TunicaMedia ha una sottoclasse, ***HighTunicaMedia***, che rappresenta una tonaca media “alta” ossia di di significativo spessore. In questo contesto, la tonaca media è facilmente visibile solo quando è indicativa della presenza di un'arteriola.

3.1.1.2.7 La classe Vessel

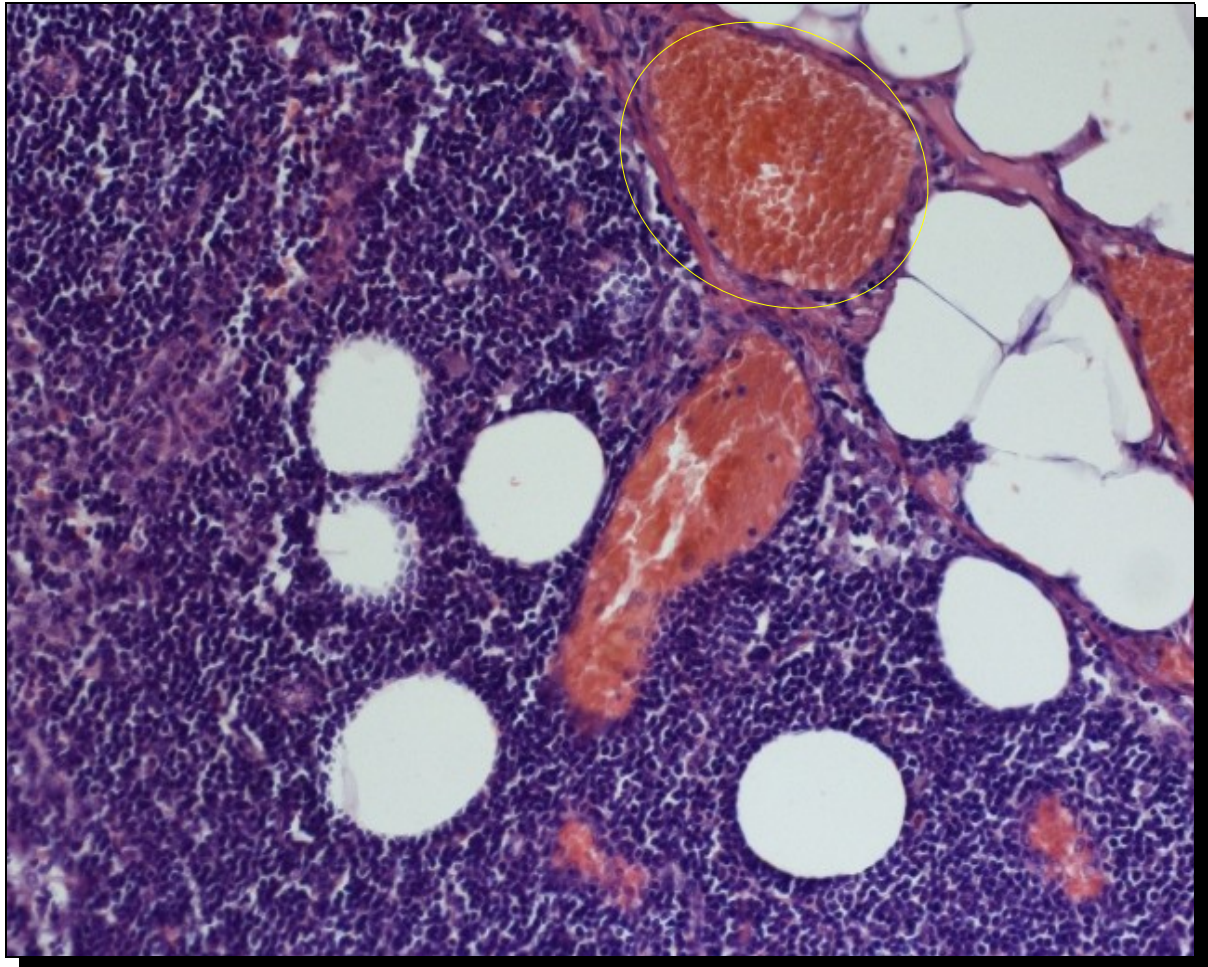


Fig. 37 – Arteriole e venule presso la capsula di un linfonodo. I lumi, di forma convessa, sono pieni di eritrociti che danno una colorazione rossa. Le cellule attorno ai lumi costituiscono le pareti del vaso (che nel caso delle arteriole hanno anche una componente muscolare e di collagene, come si vede bene nell'arteriola indicata dall'ellisse). Le “bolle” bianche indicano invece l'originaria presenza di cellule adipose, il cui contenuto lipidico è stato rimosso dagli alcoli usati nel procedimento di allestimento del vetrino.

La classe *Vessel* rappresenta i vasi presenti nel linfonodo. Con il termine *vaso* in anatomia si intende un dotto, un canale o in genere una struttura a forma di tubo atta al trasporto di un fluido corporeo; in questo contesto, i fluidi trasportati sono di tre tipi: linfa (nel qual caso il vaso sarà rappresentato da un'istanza della sottoclasse *LymphaticVessel*), sangue venoso e sangue arterioso (in questi due casi il vaso sarà rappresentato da un'istanza della sottoclasse *BloodVessel*).

I vasi hanno una struttura anatomica a strati molto ben definita: al centro si ha un lume, attorno al lume l'endotelio, poi la *tunica media* e come strato più esterno la *tunica adventitia*. I vari strati, seppure con spessori molto variabili, sono presenti in tutti i tipi di vasi considerati in questo contesto. Formalmente, si asserisce che condizione necessaria e sufficiente perché uno *StructuralComponent* sia anche membro della classe *Vessel* è che abbia relazioni *hasStructuralComponent* verso un'istanza di *Lumen*, una di *Endothelium*, una di *TunicaMedia* e una di *TunicaAdventitia*.

Sulla base del lume, si distinguono (pur con le cautele raccomandate in 3.1.1.2.4), vasi sanguigni (rappresentati dalla sottoclasse ***BloodVessel***) e vasi linfatici (***LymphaticVessel***).

3.1.1.2.7.1 La classe *BloodVessel*

La classe *BloodVessel* rappresenta i vasi preposti al trasporto di sangue, che si riconoscono in genere perché il loro lume contiene eritrociti (formalmente: è condizione necessaria e sufficiente a definire un'istanza della classe *BloodVessel* l'esistenza di una relazione *hasStructuralComponent* da un'istanza della classe *Vessel* ad un'istanza della classe *LumenFilledWithBlood*).

Per *BloodVessel* vi è una partizione completa in tre sottoclassi che si distinguono sulla base della loro struttura anatomica:

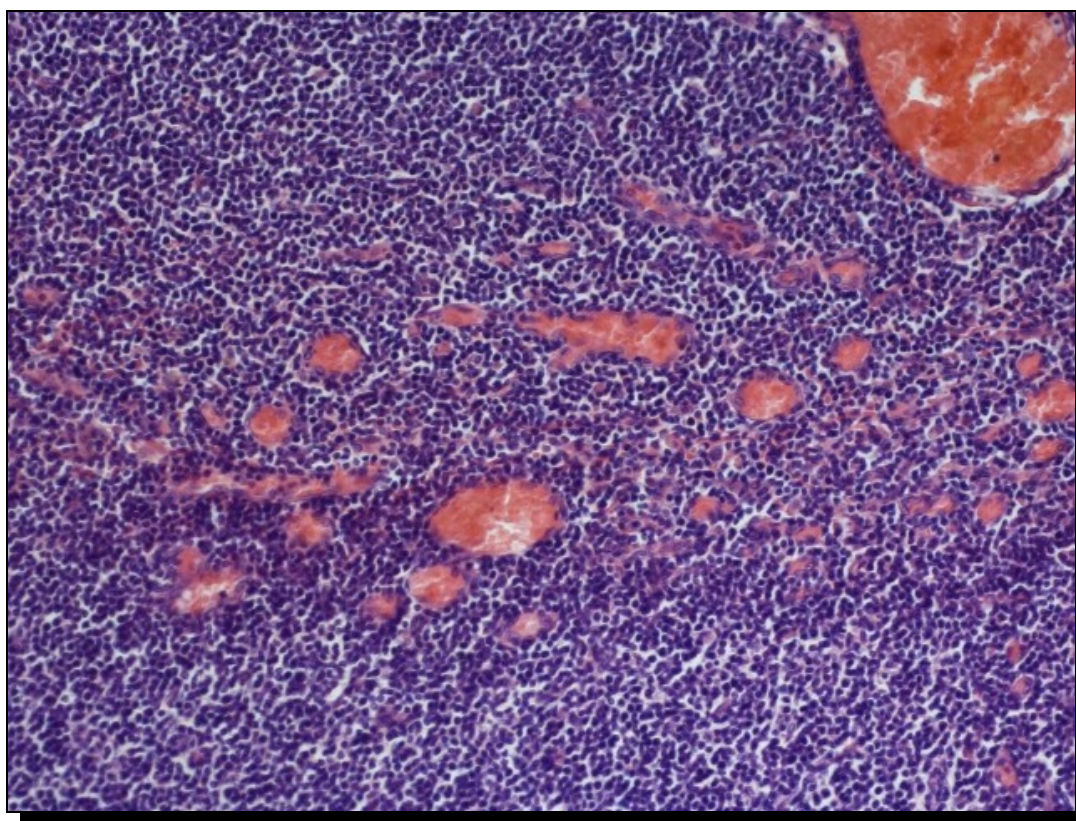


Fig. 38 – Venule di varie dimensioni che attraversano il tessuto linfoide.

- La classe ***SmallVein*** rappresenta le **venule** presenti nel linfonodo. Queste piccole vene, che possono avere dimensioni anche minutissime (fin dell'ordine di pochi diametri cellulari), seguono approssimativamente il decorso della linfa all'interno dell'organo. Formalmente, si asserisce che condizione necessaria e sufficiente perché un *BloodVessel* sia anche membro della classe *SmallVein* è che non abbia una relazione *hasStructuralComponent* verso un'istanza della classe *HighTunicaMedia* né della classe *HighEndothelium*.
- La classe ***SmallArtery*** rappresenta le **arteriole** presenti nel linfonodo. Queste piccole arterie sono molto simili, nella forma, nelle dimensioni e nelle posizioni che tendono ad occupare nel linfonodo, alle venule. Nell'ispezione del preparato istologico, le arteriole si distinguono dalle venule per la vistosa presenza di collagene nella sua struttura interna, a livello di tonaca media (questo è dovuto alla diversa fisiologia delle arterie, che hanno pareti elastiche per favorire la circolazione del sangue). Formalmente, si asserisce che condizione necessaria e sufficiente perché un *BloodVessel* sia anche membro della classe *SmallArtery* è che abbia una relazione *hasStructuralComponent* verso un'istanza della classe *HighTunicaMedia* ma non verso la classe *HighEndothelium*.

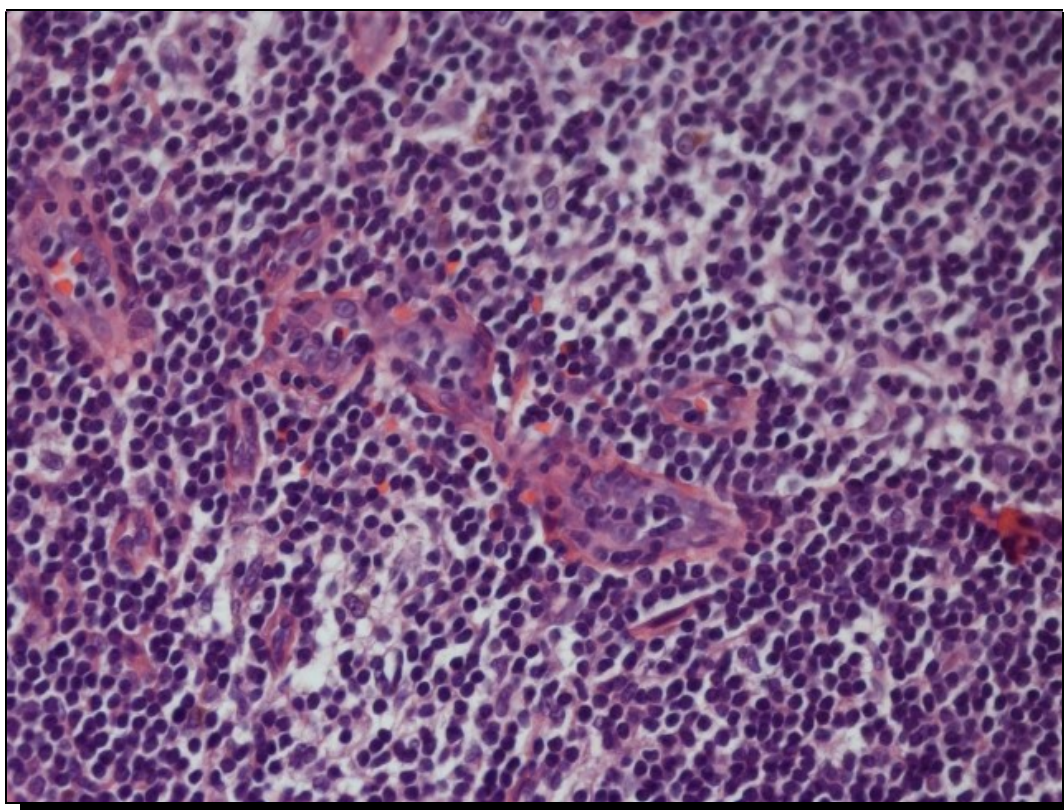


Fig. 39 – Venule ad endotelio alto.

- La classe ***HighEndothelialVein*** rappresenta le venule ad endotelio alto (**HEV** nella sigla inglese), cioè venule specializzate postcapillari caratterizzate da alte cellule endoteliali di forma cuboidale; le HEV sono il luogo in cui i linfociti ricircolano dal sangue alla linfa e spesso nel loro lume si trovano linfociti. Formalmente, si asserisce che condizione necessaria e sufficiente perché un *BloodVessel* sia anche membro della classe *HighEndothelialVein* è che abbia una relazione *hasStructuralComponent* verso un'istanza della classe *HighEndothelium*.

3.1.1.2.7.2 La classe *LymphaticVessel*

La classe *LymphaticVessel* rappresenta i vasi (non i seni) preposti al trasporto di linfa in ingresso al linfonodo e in uscita da esso. Il lume dei vasi linfatici non contiene globuli rossi, è di conseguenza condizione necessaria e sufficiente a definire un'istanza della classe *LymphaticVessel* la mancanza di una relazione *hasStructuralComponent* da un'istanza della classe *Vessel* ad una della classe *LumenFilledWithBlood*.

3.1.1.3 La classe *HistologicalComponent*

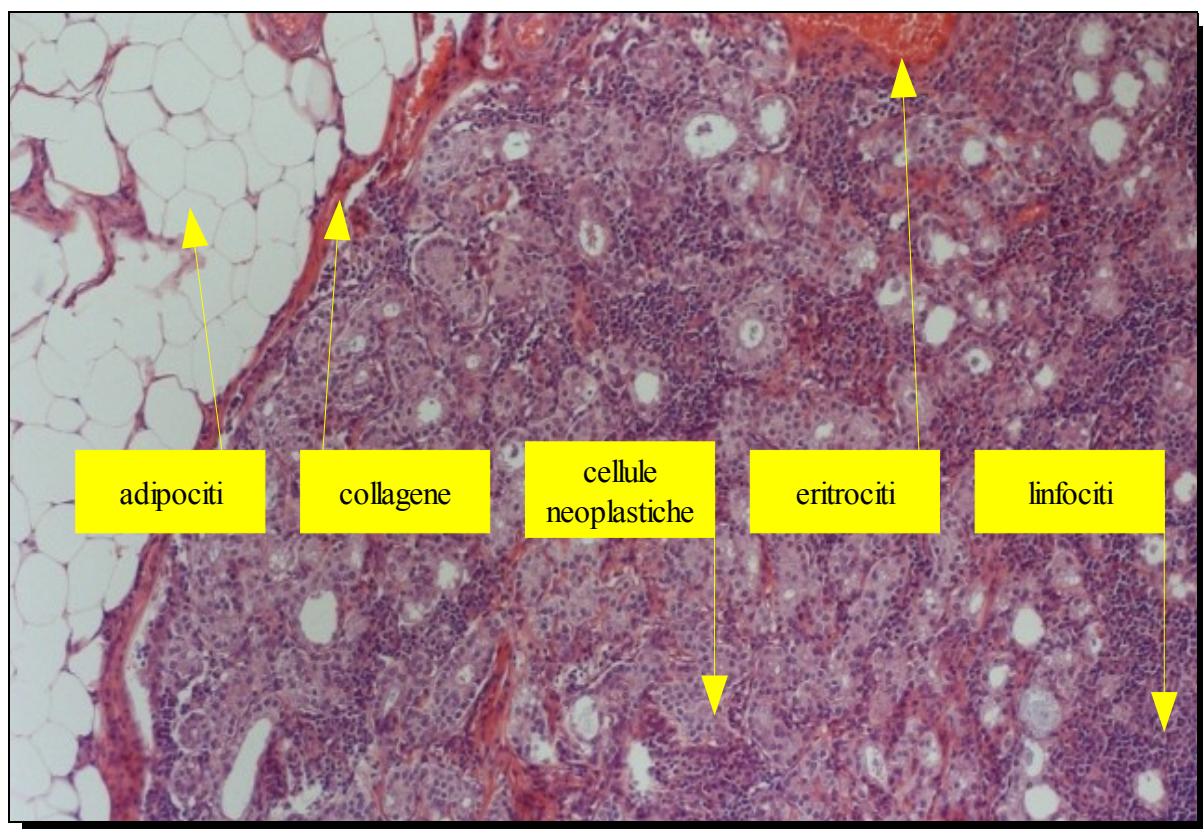


Fig. 40 – Alcuni tipi di componenti istologiche.

Rientrano nella classe *HistologicalComponent* quelle componenti che costituiscono il “materiale” istologico delle componenti anatomiche appartenenti alle classi *MacroscopicComponent* o *StructuralComponent*.

Si distinguono le sottoclassi che rappresentano il collagene (***Collagen***), le cellule endoteliali (***EndothelialCell***), i linfociti (***Lymphocyte***), gli **eritrociti** (***Erythrocyte***), gli adipociti (***Adipocyte***), gli **istiociti** (***Histiocyte***), le cellule muscolari (***Myocyte***) e le neoplasie (***NeoplasticCell***).

La classe degli adipociti e quella degli istiociti, che possono comparire in ritrovamenti para-fisiologici (rispettivamente nella metaplasia grassa, che è un portato del processo di invecchiamento del linfonodo, e nelle istiocitosi, che sono fenomeni reattivi), sono perciò dichiarate anche sottoclassi di *Abnormality*. Analogamente, *NeoplasticCells* è anche sottoclasse di *Pathology*.

Del collagene, delle cellule endoteliali e dei linfociti sono già state date informazioni quando si è fatto riferimento ai tessuti e alle strutture che questi compongono (rispettivamente il tessuto connettivo, l'endotelio e il tessuto linfoide). Gli eritrociti intervengono nella caratterizzazione di arteriole, venule e HEV. Degli adipociti, che vengono rimossi dagli alcoli con cui è trattato il materiale biologico sotto esame, non si ha traccia nel preparato istologico se non per gli spazi otticamente vuoti e di forma tondeggiante che rimangono al loro posto. Gli istiociti o macrofagi sono un tipo di globuli bianchi, relativamente statici, che si attivano per reazione ad un'infezione od infiammazione attaccando batteri ed altro materiale estraneo che sia penetrato nell'organismo; si distinguono facilmente dai linfociti per una minore saturazione nella colorazione del materiale cellulare (il loro citoplasma è inoltre più abbondante ed eosinofilo) e ad ingrandimento citologico per la diversa proporzione tra nucleo (molto più grande) e citoplasma. I **miociti** o cellule muscolari (in questo contesto si tratta solo di cellule muscolari lisce e si ritrovano in formazioni tubulari nella struttura interna dei vasi) sono eosinofili e si organizzano come fibre. Le cellule neoplastiche, infine, sono cellule degenerate in senso tumorale nell'ambito di un organo posto in prossimità del linfonodo, che hanno colonizzato per via linfatica; hanno una colorazione mista eosina-ematossilina dovuta alla presenza di citoplasma più abbondante rispetto ai linfociti ed alla minor densità nucleare, che rispecchia il loro tipico stato di attivazione proliferativa.

3.1.2 La classe Visual

La classe *Visual* non è stata sviluppata ed è stata inserita solamente in analogia con [Bertaiola 2004]. Le sue sottoclassi sono *VisualSection* e *DetailedVisualSection*.

3.1.3 La classe *Abnormality*

Nella classe *Abnormality* sono presenti quelle sottoclassi che ci permettono di rappresentare tutto ciò che nel linfonodo potrebbe costituire un'anormalità ma non una patologia. È importante sottolineare la parola *potrebbe*: mediante istanze della classe *Abnormality* rappresentiamo anche oggetti, come gli istiociti, che sono sempre presenti nei linfonodi, ma che in determinate circostanze (cioè quando se ne rintraccia una densità esagerata) diventano la “materia prima” che costituisce ritrovamenti anomali. Questi oggetti vengono considerati membri di *Abnormality* anche quando non entrano a far parte di ritrovamenti anomali.

Le anomalie non patologiche possono essere dovute a fenomeni reattivi (cioè di risposta ad un'infezione o ad un'infiammazione) o ad altri meccanismi para-fisiologici come l'invecchiamento del linfonodo.

Le sottoclassi di *Abnormality* sono *Adipocyte*, *Histiocyte*, *LymphaticFollicle* (dei quali si è già parlato sopra in quanto *Adipocyte* ed *Histiocyte* sono anche sottoclassi di *HistologicalComponent*, mentre *LymphaticFollicle* è una delle sottoclassi di *StructuralComponent*) e ***AbnormalFinding***.

3.1.3.1 La classe *AbnormalFinding*

Rientrano nella classe *AbnormalFinding* i “ritrovamenti anomali”. Con ciò vogliamo indicare la “presenza anomala” (cioè eccessiva rispetto alla quantità che è considerata in norma) di un qualche elemento “potenzialmente anomalo” (cioè uno degli altri membri della classe *Abnormality*) in un particolare sito. Tutte le sottoclassi di *AbnormalFinding* (e cioè ***FatMetaplasia***, ***FollicularHyperplasia***, ***MarginalSinusHistiocytosis*** e ***MedullarySinusHistiocytosis***) hanno dunque una descrizione formale in cui si asserisce che ogni loro istanza ha una relazione *anomalousPresenceOf* o *anomalousFillingOf* verso un'istanza di una particolare sottoclasse di *Abnormality* e che ogni loro istanza ha una relazione *inside* o *inLumenOf* verso un'istanza di una particolare sottoclasse di *Anatomy*.

3.1.3.1.1 La classe FatMetaplasia

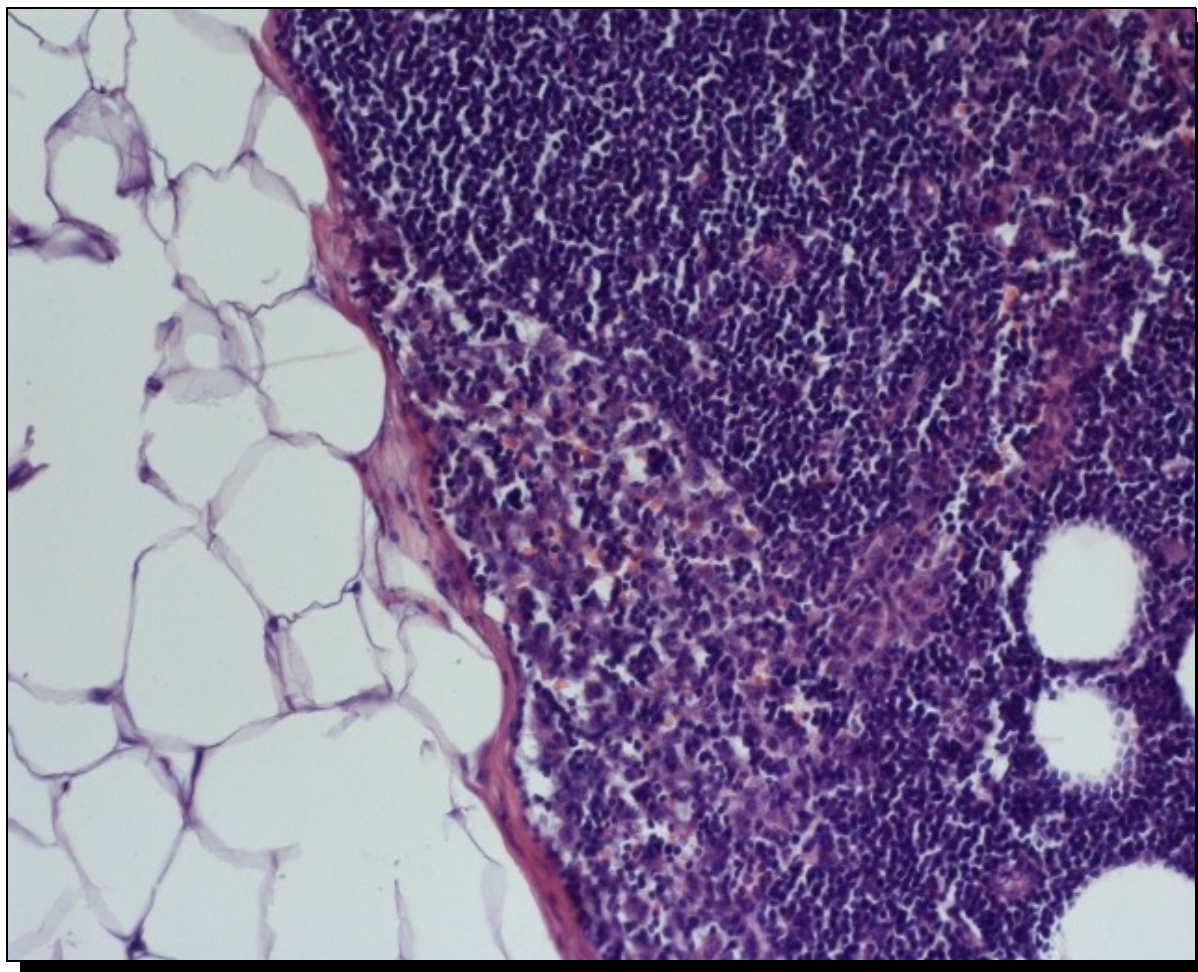


Fig. 41 – Particolare di linfonodo in cui è già iniziata l'infiltrazione di adipociti nel parenchima, come si vede nell'angolo inferiore destro dell'immagine. Invece, gli adipociti presenti all'esterno della capsula (lato sinistro dell'immagine) non costituiscono un'anomalia.

La classe *FatMetaplasia* rappresenta le **metaplasie grasse**, ossia l'infiltrazione di adipociti (che vanno a sostituire i linfociti) all'interno del parenchima. Questa infiltrazione è parte del normale processo di invecchiamento ed in alcuni linfonodi raggiunge livelli estremi.

Formalmente, ogni istanza della classe ha una relazione *anomalousPresenceOf* verso un'istanza di *Adipocyte* e una relazione *inside* verso un'istanza di *Parenchyma*. Questa doppia condizione è necessaria e sufficiente alla definizione della sottoclasse.

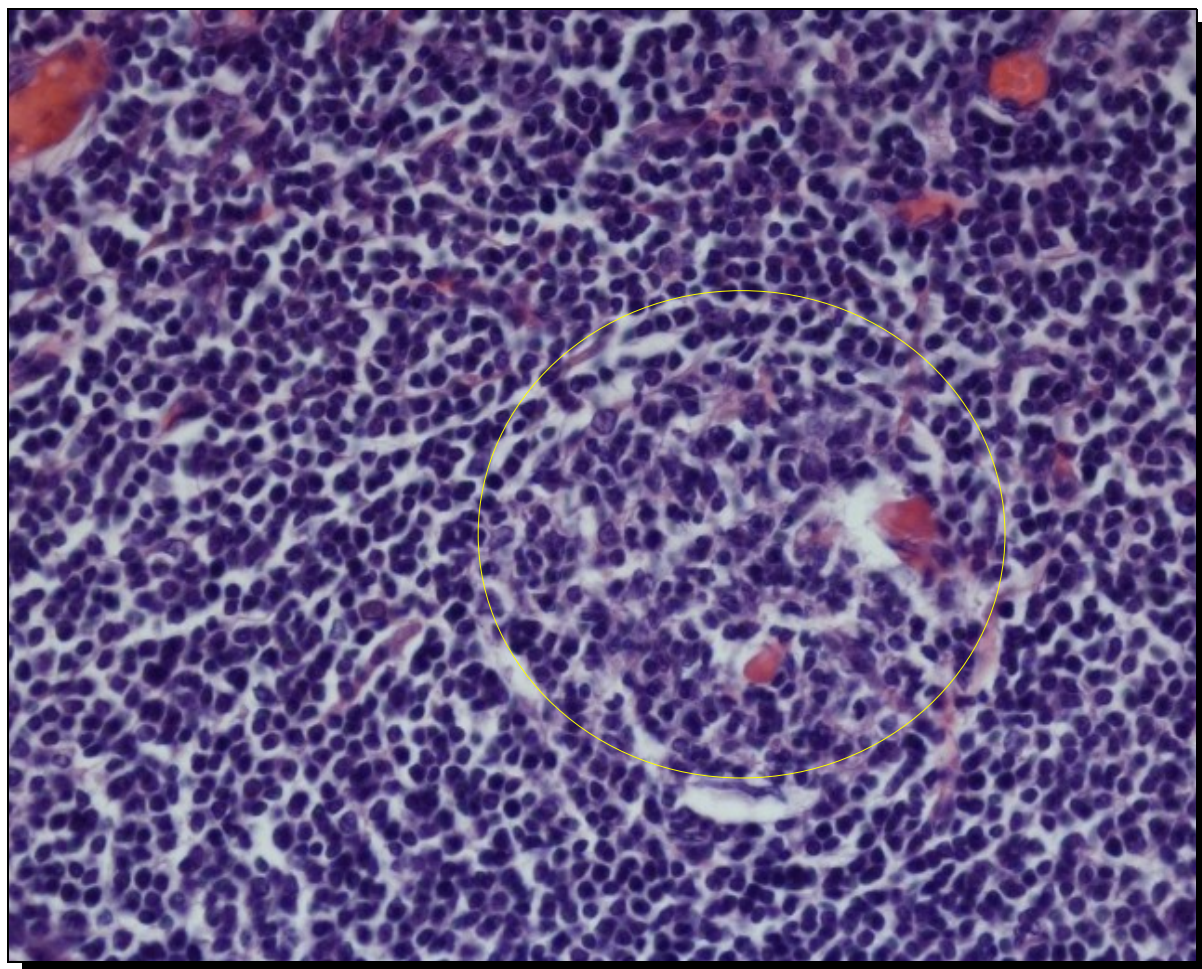
3.1.3.1.2 La classe *FollicularHyperplasia*

Fig. 42 – Follicolo affetto da iperplasia (cerchiato).

La classe *FollicularHyperplasia* rappresenta le iperplasie follicolari, ossia la crescita di follicoli, in genere come reazione ad una stimolazione immunitaria del linfonodo. Quando un follicolo manifesta un'iperplasia, il rapporto tra blasti e linfociti maturi, così come la frequenza delle divisioni cellulari, si modifica facendo assumere all'insieme del follicolo una colorazione media meno satura che lo rende più facilmente riconoscibile nel contesto del tessuto linfoide.

Formalmente, ogni istanza della classe ha una relazione *anomalousPresenceOf* verso un'istanza di *LymphaticFollicle* e una relazione *inside* verso un'istanza di *LymphoidTissue*. Questa doppia condizione è necessaria e sufficiente alla definizione della sottoclasse.

3.1.3.1.3 Le classi MarginalSinusHistiocytosis e MedullarySinusHistiocytosis

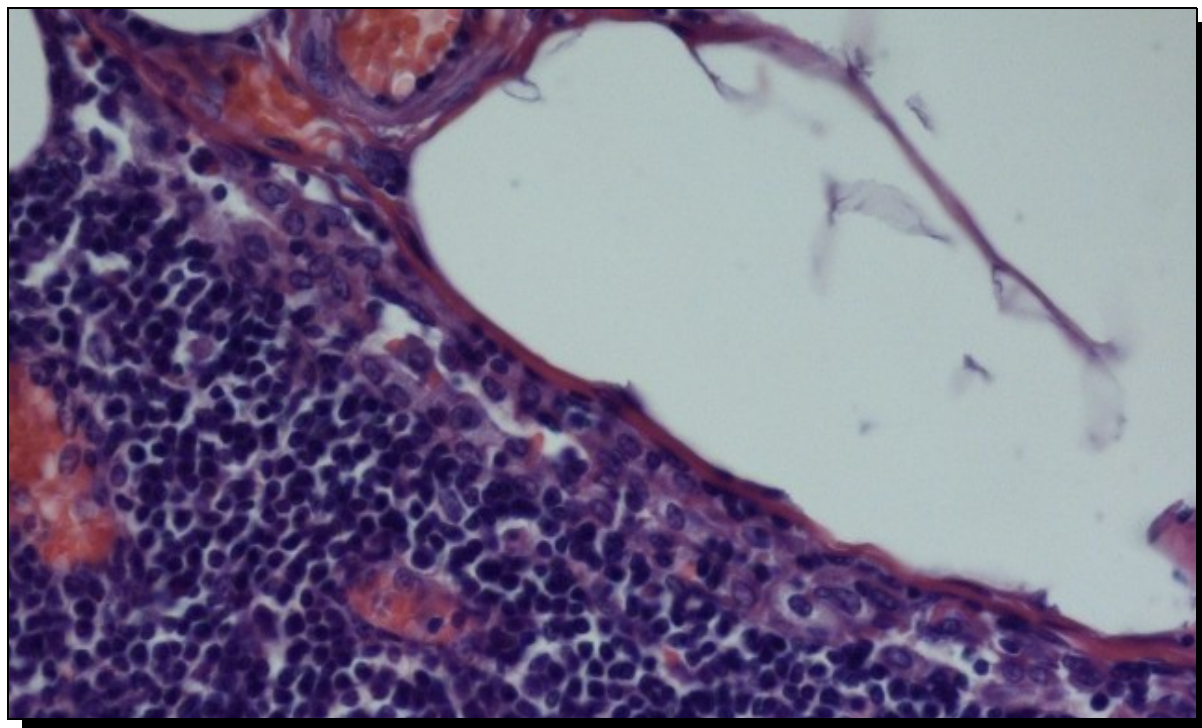


Fig. 43 – Seno marginale affetto da istiocitosi.

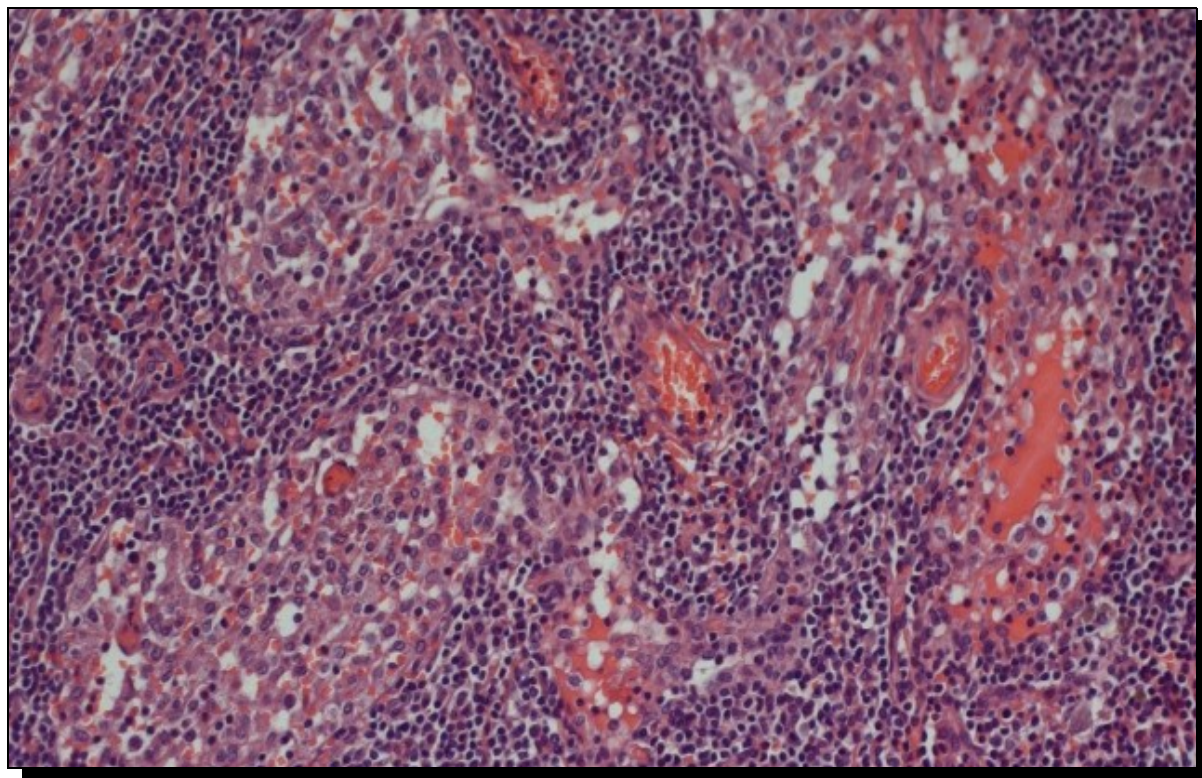


Fig. 44 – Istiocitosi molto evidente (zona rosa pallido con nuclei blu-indaco) dei seni midollari (zone bianche nei lumi dei seni); la si potrebbe confondere per una regione di tessuto linfoide colonizzata da metastasi.

Le classi *MarginalSinusHistiocytosis* e *MedullarySinusHistiocytosis* rappresentano le **istiocitosi** (ossia una concentrazione non fisiologica di istiociti, attirati *in loco* da un'infezione, dalla stessa presenza di metastasi ecc.) del seno rispettivamente marginale o midollare. Le istiocitosi si verificano tipicamente nei seni linfatici e non nel tessuto linfoide perché i macrofagi scorrono nella linfa. I seni linfatici interessati da istiocitosi non sono più otticamente vuoti, contengono una popolazione cellulare che si distingue da quella dei linfociti per la colorazione nettamente più satura, in parte anche virata verso la tinta dell'eosina; inoltre, le istiocitosi hanno una morfologia infiltrativa in quanto seguono la struttura dei seni che si ramificano attraverso il linfonodo (geometricamente, si può dire che tendono a costituire figure concave, diversamente da strutture germinative come i follicoli o le neoplasie che hanno tipicamente una morfologia più convessa).

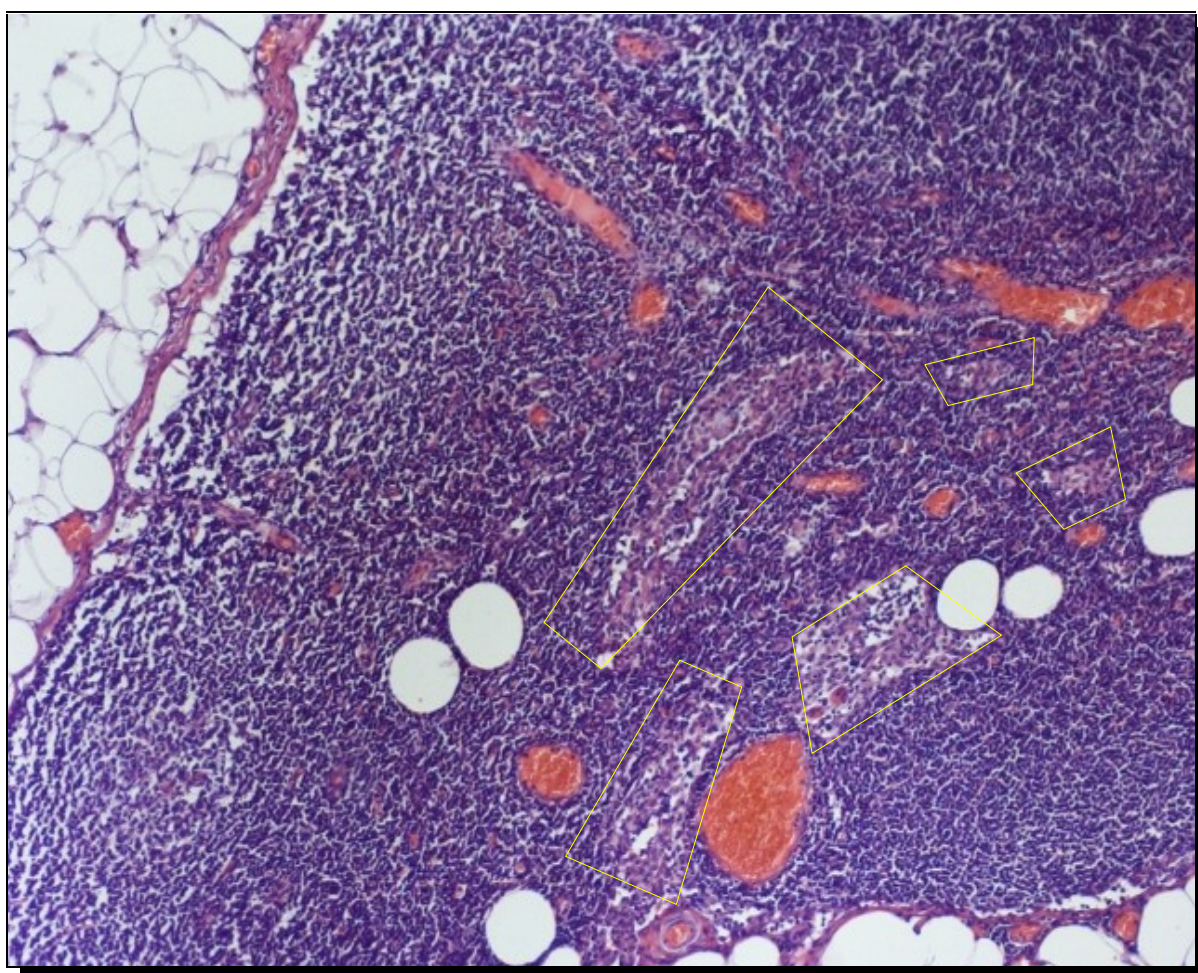


Fig. 45 – Nelle zone indicate dai trapezi, istiocitosi del seno midollare, meno pronunciata rispetto al caso della Fig. 44 e pertanto più facilmente riconoscibile da una neoplasia (anche in questo caso, inoltre, si riconoscono i lumi del seno midollare).

Formalmente, ogni istanza di *MarginalSinusHistiocytosis* o *MedullarySinusHistiocytosis* ha una relazione *anomalousFillingOf* verso un'istanza di *Histiocyte* e una relazione *inLumenOf* verso un'i-

stanza rispettivamente di *MarginalSinus* o *MedullarySinus*. Queste doppie condizioni sono necessarie e sufficienti alla definizione delle sottoclassi.

3.1.3.1.4 La classe *ParacorticalHistiocytosis*

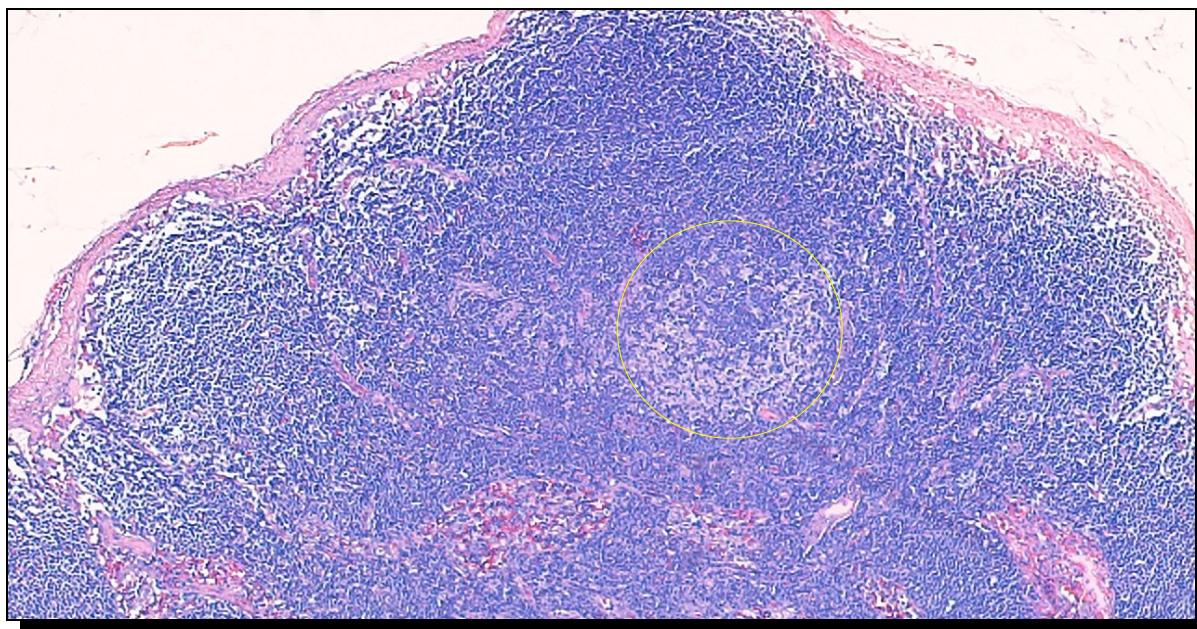


Fig. 46 – Istiocitosi paracorticale (chiazze più chiare nel cerchio).

La classe *ParacorticalHistiocytosis* rappresenta le istiocitosi **paracorticali**, ossia che si verificano alla periferia dei centri germinativi del tessuto linfoide ma all'esterno dei seni linfatici. È una forma di istiocitosi più rara e meno vistosa, che si manifesta nei preparati istologici come aggregati di piccole chiazze pallide all'interno del tessuto linfatico.

Formalmente, ogni istanza di *ParacorticalHistiocytosis* ha, come le altre classi che rappresentano istiocitosi, una relazione *anomalousFillingOf* verso un'istanza di *Histiocyte* mentre non ha una relazione *inLumenOf* nei confronti di alcuna istanza di *LymphaticSinus*; ha inoltre una relazione *inside* verso un'istanza di *Parenchyma*. Questa tripla condizione è necessaria e sufficiente alla definizione della sottoclasse.

3.1.4 La classe *Pathology*

Nella classe *Pathology* sono presenti quelle sottoclassi che ci permettono di rappresentare le patologie del linfonodo a cui siamo interessati in questo contesto: quelle di tipo tumorale metastatico. Esistono naturalmente altre patologie, anche neoplastiche, da cui il linfonodo può essere affetto, che vengono tuttavia escluse da questa ontologia perché non pertinenti al nostro scopo, che è discernere

i linfonodi sede di metastasi dagli altri.

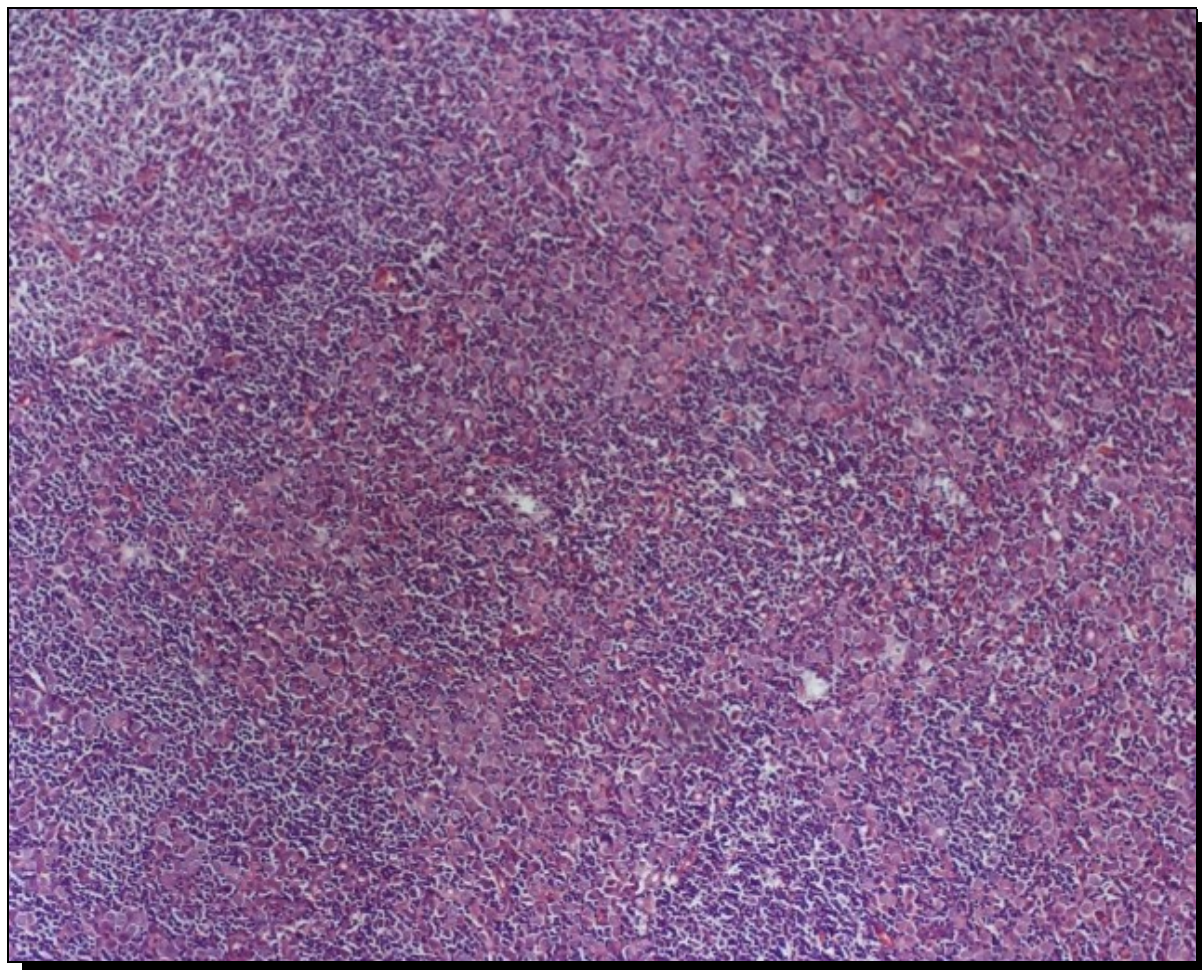


Fig. 47 – Due diverse popolazioni cellulari. Quella più colorata di eosina (rosa-viola), che forma masse irregolari e convesse, è composta da cellule neoplastiche; l'altra (che in questo vetrino appare indaco, in genere è più blu), è composta da cellule sane.

Per *metastasi* si intende l'ingresso di cellule neoplastiche nel linfonodo. Tale ingresso avviene fondamentalmente per due vie: nella maggior parte dei casi una metastasi colonizza il linfonodo per via linfatica; più raramente, il linfonodo viene invaso direttamente da un tumore che si è sviluppato nel tessuto circostante (metastasi per continuità).

Della classe *Pathology* sono sottoclassi dirette sia *NeoplasticCells*, che è anche una sottoclasse di *HistologicalComponent* e rappresenta le cellule tumorali, sia *PathologicalFinding* che rappresenta i ritrovamenti patologici di cui le cellule neoplastiche sono la “materia prima”.

3.1.4.1 La classe *PathologicalFinding*

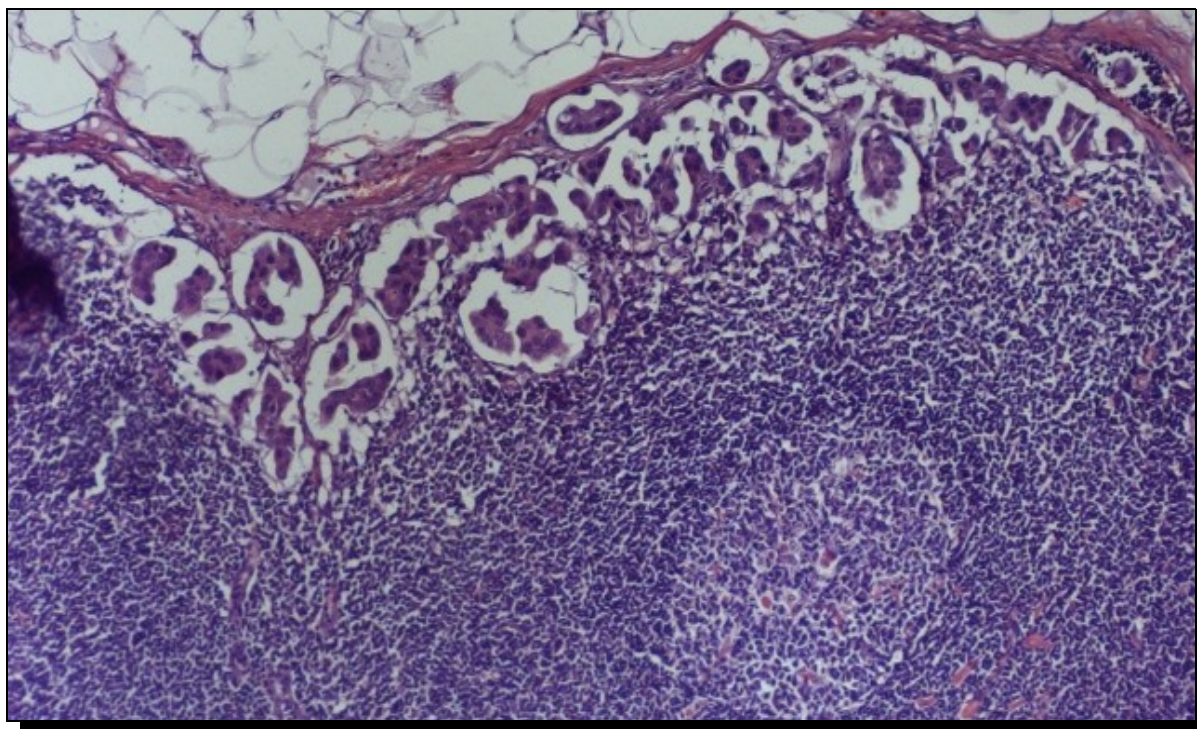


Fig. 48 – Metastasi nel seno marginale. Si tratta in questo caso di una forma tumorale che produce metastasi di tipo ghiandolare, che formano spontaneamente dei lumi chiaramente visibili nell'immagine. Si riconosce inoltre un follicolo affetto da iperplasia, probabilmente per reazione alla colonizzazione metastatica.

Rientrano nella sottoclasse *PathologicalFinding* quei ritrovamenti di materiale neoplastico che sono indice di una patologia del tipo a cui siamo interessati in questo contesto.

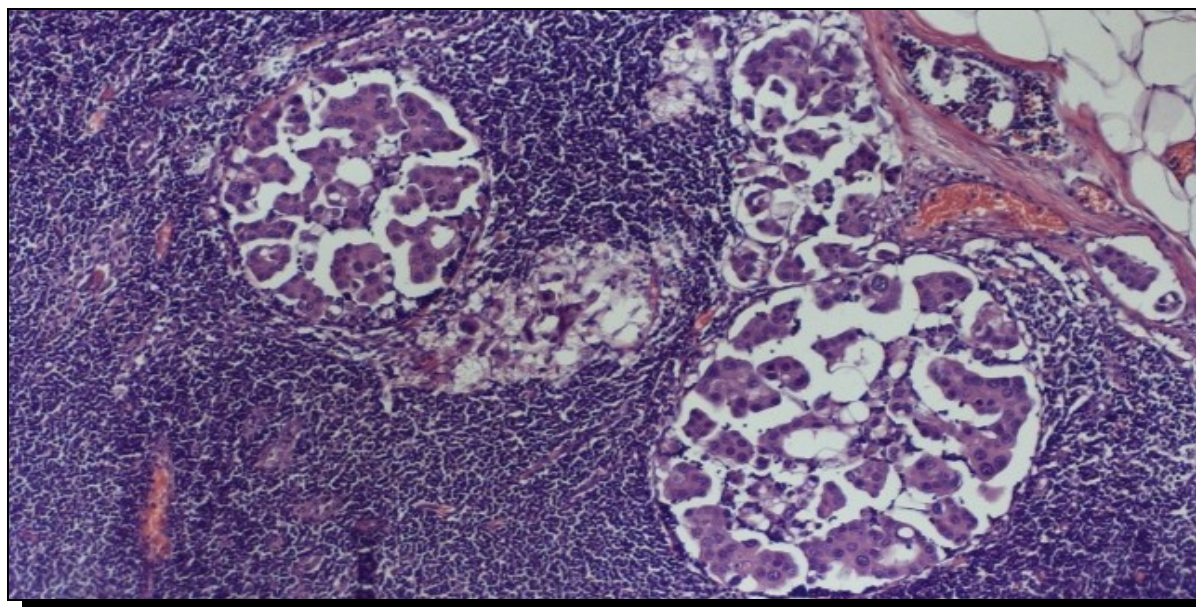


Fig. 49 – Metastasi che ha colonizzato il seno midollare, dello stesso tipo di quella della Fig. 48.

Si distinguono le sottoclassi *Metastasis*, che indica compattamente la rappresentazione della tipologia più comune di metastasi nel linfonodo, ossia la presenza di cellule metastatiche nel tessuto linfoide, e *SinusMetastasis* che rappresenta quei casi più rari in cui la metastasi viene rintracciata in un seno linfatico.

Formalmente, nella descrizione di *Metastasis* si asserisce che ogni sua istanza deve avere una relazione *anomalousPresenceOf* nei confronti di un'istanza di *NeoplasticCells*, mentre nella descrizione di *SinusMetastasis* si tratta di una relazione *anomalousFillingBy*. Inoltre, ogni istanza di *Metastasis* ha necessariamente una relazione *inside* nei confronti di un'istanza di *LymphoidTissue*, mentre ogni istanza di *SinusMetastasis* ha una relazione *inLumenOf* nei confronti di un'istanza di *LymphaticSinus* (vale a dire, nei confronti di un'istanza di *MarginalSinus* oppure di *MedullarySinus*). Per entrambe le sottoclassi si tratta di condizione necessaria e sufficiente alla loro definizione.

3.2 Acquisizione delle immagini istologiche

3.2.1 Allestimento dei preparati istologici

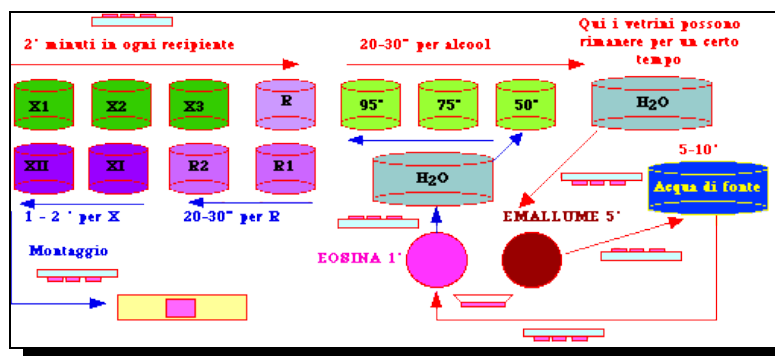


Fig. 50 – Alcuni passaggi dell'allestimento di un preparato istologico.

La procedura di allestimento dei preparati istologici segue uno standard internazionale in tutti i laboratori di istopatologia senza sostanziali variazioni:

1. Fissazione in formalina del campione biotico che dev'essere posto sotto esame, per impedirne la degradazione.
2. Disidratazione del campione.
3. Impregnamento in paraffina, per conferire al campione un'uniforme resistenza al taglio.
4. Taglio del campione in sezioni dello spessore di circa 4 μm , che vengono poggiate su sottili

lastre di vetro.

5. Colorazione (in questo caso con ematossilina ed eosina).

Il colorante ematossilina (blu) si lega ai radicali acidi presenti nel tessuto e in particolare agli acidi nucleici. Il colorante eosina (rosa) si lega alle molecole basiche come le proteine presenti nei tessuti (per esempio il collagene extracellulare).

3.2.2 Il microscopio Nikon Coolscope¹³

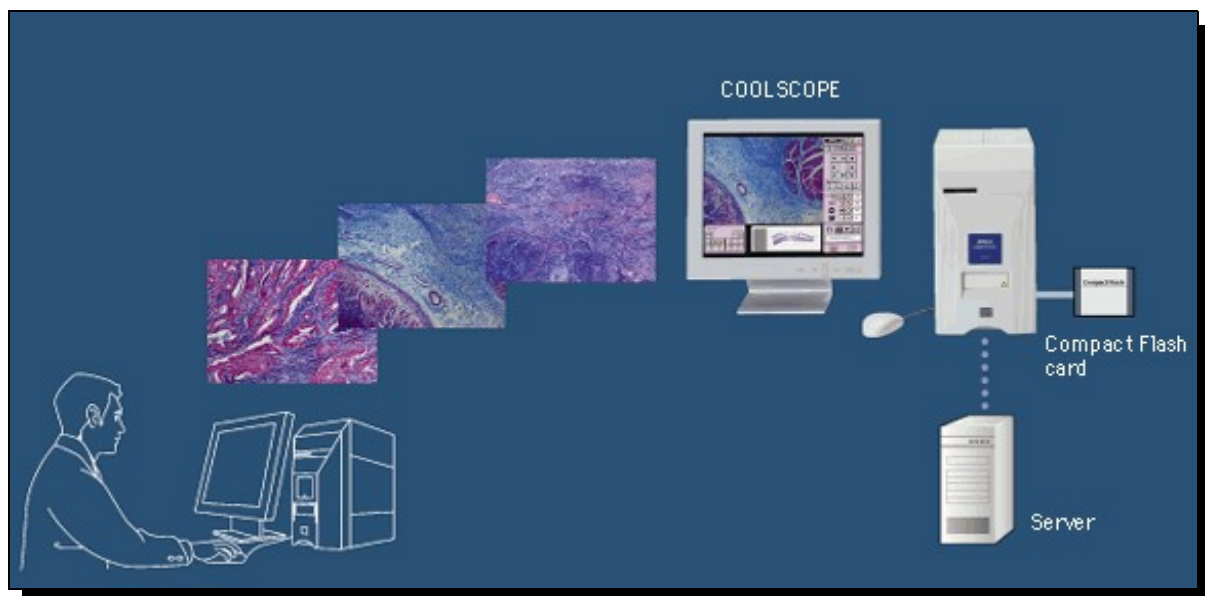


Fig. 51 – Schema del funzionamento di *Nikon Coolscope*.

Nikon Coolscope (il modello utilizzato è il *Coolscope I*) è un microscopio ottico digitale, con un'interfaccia utente simile a quella di un comune personal computer. I comandi sono impartiti attraverso un mouse, i risultati sono visualizzati su un monitor e possono essere conservati come file di immagini su un supporto di memorizzazione di massa. I sistemi ottici del microscopio sono inclusi nel stesso *case* della CPU ed i vetrini vengono caricati, uno alla volta, su un vassoio mobile molto simile ad un carrello per CD-ROM. Il controllo dei sistemi ottici (ingrandimento, posizione del vetrino, messa a fuoco) è automatico e realizzato tramite il software di interfaccia o anche a distanza, per esempio secondo il protocollo HTTP.

Nella preparazione della batteria di 262 immagini utilizzata come base per questo lavoro, abbiamo seguito una procedura standardizzata che limitasse al massimo le differenze tra immagine ed immagine introdotte dalla taratura dei parametri dell'acquisizione delle immagini. È stato prescelto

¹³ *Nikon* e *Coolscope* sono marchi registrati della *Nikon Corporation*.

l'ingrandimento a 5×. Il bilanciamento del colore è sempre stato effettuato una sola volta per ciascun vetrino, bilanciando il bianco dopo aver inquadrato un'area priva di tessuto biologico e in seguito bilanciando le tinte di eosina ed ematossilina dopo aver inquadrato un'area centrale del linfonodo in cui fossero entrambe presenti; entrambi i bilanciamenti sono stati effettuati utilizzando il sistema di bilanciamento automatico dello strumento. In seguito si è proceduto alla messa a fuoco manuale (per ciascuna acquisizione di immagine).

I 6 preparati istologici utilizzati sono stati percorsi completamente (in senso antiorario) lungo la capsula, ricalcando così le tipiche modalità di esplorazione degli anatomopatologi. La parte centrale del linfonodo è stata talvolta acquisita alla fine dell'esplorazione per aumentare l'ampiezza della base di immagini.

Si sono così acquisite 131 immagini a colori di formato rettangolare. Per le esigenze del nostro strumento di analisi automatica, da ciascuna immagine rettangolare sono state ricavate due immagini quadrate in formato *bitmap* delle dimensioni di 256×256 pixel (parzialmente sovrapposte).

3.2.3 Applicazione delle classi ontologiche alla base di immagini

L'intera base di immagini¹⁴ è stata sottoposta all'analisi degli anatomopatologi, che hanno compilato una tabella indicando a quali classi dell'ontologia *LymphNode*, scelte tra le più significative, appartenevano gli oggetti riconoscibili in ciascuna immagine. Le classi selezionate corrispondono a 7 oggetti anatomici (capsula, parenchima, vasi, adipociti, follicoli, seni marginali e midollari), 5 situazioni anomale ma non patologiche (metaplasia grassa, iperplasia follicolare, istiocitosi del seno marginale, del seno midollare e paracorticale), 2 situazioni patologiche (metastasi e metastasi in un seno linfatico).

¹⁴ In questa fase sono state ancora utilizzate le 131 immagini rettangolari.

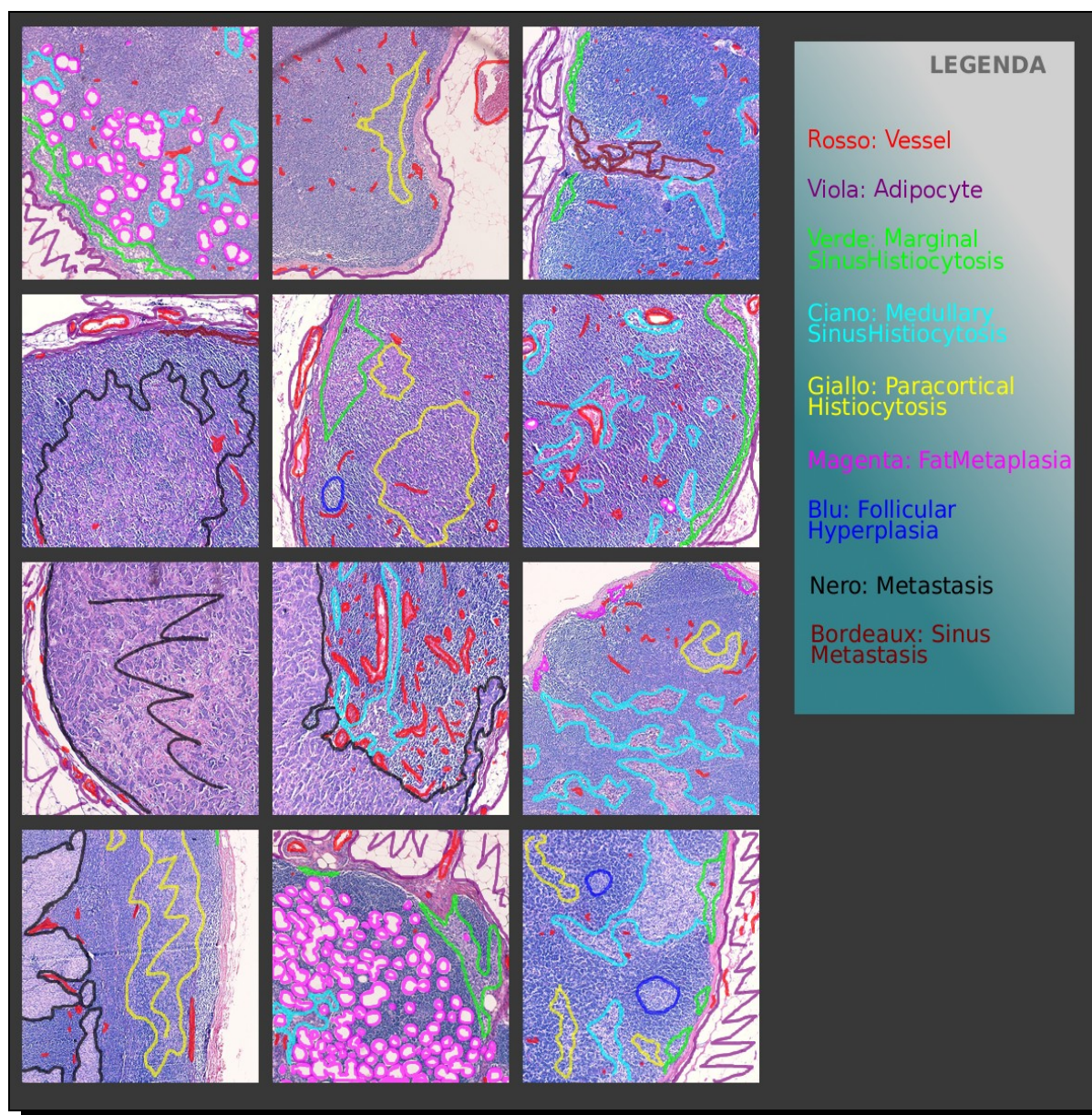


Fig. 52 – Immagini esemplari annotate.

Inoltre, sono state selezionate, all'interno della batteria, 12 immagini esemplari¹⁵ che riassumono in modo particolarmente efficace la varietà di situazioni possibili nell'analisi dei preparati istologici. Su queste 12 immagini gli anatomopatologi hanno compiuto un'analisi visuale maggiormente dettagliata, che non si è limitata ad indicare la presenza o l'assenza di alcuni elementi, bensì ha anche delineato i contorni delle regioni di ciascuna immagine afferenti alle diverse classi ontologiche riscontrate.

Queste informazioni sono state utilizzate come punto di riferimento e di paragone per lo sviluppo dell'intero sistema di analisi automatica.

¹⁵ In questo caso invece sono state utilizzate immagini quadrate.

3.2 ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI ISTOLOGICHE

Image	Anatomy							Abnormal Finding					Pathological Finding	
	Parenchyma	Capsule	Vessel	Lymphocyte	Lymphatic Follicle	Marginal Sinus	Medullary Sinus	Fat Metaplasia	Follicular Hyp.	Marg. Sinus Hist.	Med. Sinus Hist.	Paracort. Hist.	Metastasis	Sinus Metastasis
10039000	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039001	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039002	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039003	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039004	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039005	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039006	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039007	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039008	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039009	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		
10039010	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039011	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039012	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039013	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		
10039014	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039015	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039016	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039017	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		
10039018	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039019	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039020	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039021	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039022	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039023	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039024	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039025	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039026	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039027	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039028	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039029	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039030	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039031	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039032	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039033	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039034	X	X	X	X	X	X	X					X		
10039035	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039036	X	X	X	X	X	X	X	X				X		
10039037	X	X	X	X	X	X	X					X		
19082000	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082001	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082002	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082003	X	X	X	X	X	X	X	X					X	
19082004	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082005	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082006	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		
19082007	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		
19082008	X	X	X	X	X	X	X	X						
19082009	X	X	X	X	X	X	X							
19082010	X	X	X	X	X	X	X							
19082011	X	X	X	X	X	X	X							
19082012	X	X	X	X	X	X	X	X						
3161000	X	X	X	X	X	X	X							
3161001	X	X	X	X	X	X	X							
3161002	X	X	X	X	X	X	X							
3161003	X	X	X	X	X	X	X							
3161004	X	X	X	X	X	X	X							
3161005	X	X	X	X	X	X	X							
3161006	X	X	X	X	X	X	X							
3161007	X	X	X	X	X	X	X							
3161008	X	X	X	X	X	X	X							
3161009	X	X	X	X	X	X	X							
3161010	X	X	X	X	X	X	X							
3161011	X	X	X	X	X	X	X							
3161012	X	X	X	X	X	X	X							
3161013	X	X	X	X	X	X	X							
3161014	X	X	X	X	X	X	X							
3161015	X	X	X	X	X	X	X							
3161016	X	X	X	X	X	X	X							
3161017	X	X	X	X	X	X	X							
3161018	X	X	X	X	X	X	X							
3161019	X	X	X	X	X	X	X							
4565000	X	X	X	X	X	X	X							
4565001	X	X	X	X	X	X	X							
4565002	X	X	X	X	X	X	X							
4565003	X	X	X	X	X	X	X							
4565004	X	X	X	X	X	X	X							
4565005	X	X	X	X	X	X	X							
4565006	X	X	X	X	X	X	X							
4565007	X	X	X	X	X	X	X							
4565008	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565009	X	X	X	X	X	X	X							
4565010	X	X	X	X	X	X	X							
4565011	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565012	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565013	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565014	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565015	X	X	X	X	X	X	X	X						
4565016	X	X	X	X	X	X	X							
4565017	X	X	X	X	X	X	X							
4565018	X	X	X	X	X	X	X							
4565019	X	X	X	X	X	X	X							
4565020	X	X	X	X	X	X	X							
4565021	X	X	X	X	X	X	X							
4565022	X	X	X	X	X	X	X							
9027000	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027001	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027002	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027003	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027004	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027005	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027006	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027007	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027008	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027009	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027010	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027011	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027012	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027013	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027014	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027015	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027016	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027017	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027018	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027019	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027020	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027021	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027022	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027023	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027024	X	X	X	X	X	X	X	X						
9027025	X	X	X	X	X	X	X	X						
18441000	X	X	X	X	X	X	X							
18441001	X	X	X	X	X	X	X							
18441002	X	X	X	X	X	X	X							
18441003	X	X	X	X	X	X	X							
18441004	X	X	X	X	X	X	X							
18441005	X	X	X	X	X	X	X							
18441006	X	X	X	X	X	X	X							
18441007	X	X	X	X	X	X	X							
18441008	X	X	X	X	X	X	X							
18441009	X	X	X	X	X	X	X							
18441010	X	X	X	X	X	X	X	X						

Questa tabella mostra quali oggetti (secondo l'ontologia *LymphNode*) sono ben riconoscibili in ciascuna immagine.

3.3 Produzione del segnale organizzante la rete di codifica

Una mappa di rilevanza associa ad ogni pixel dell'immagine istologica una probabilità di emissione di segnale 3D. Il segnale emesso è una terna di valori x , y e z in cui (x, y) è semplicemente la posizione del pixel nel piano dell'immagine, mentre z è una grandezza che esprime l'appartenenza *fuzzy* del pixel al *cluster* dell'ematossilina; il valore di z corrispondente alla completa appartenenza all'eosina è stato fissato in questo lavoro a 6: questo costringe l'intera rete a svilupparsi all'interno di un parallelepipedo che giace sul piano XY e che ha come vertici opposti l'origine e il punto (256, 256, 6).

Nella determinazione dell'ampiezza dei valori di z possibili ci si trova di fronte ad un *trade-off*: un valore troppo basso schiaccia la rete di codifica obbligandola ad uno sviluppo sostanzialmente planare in cui si perde la tridimensionalità della codifica, rendendo impossibile il riconoscimento di numerosi elementi caratteristici; viceversa un valore troppo elevato ostacola la formazione di una buona "superficie" 2.5D, generando una traduzione poco comprensibile e poco accurata dell'immagine.

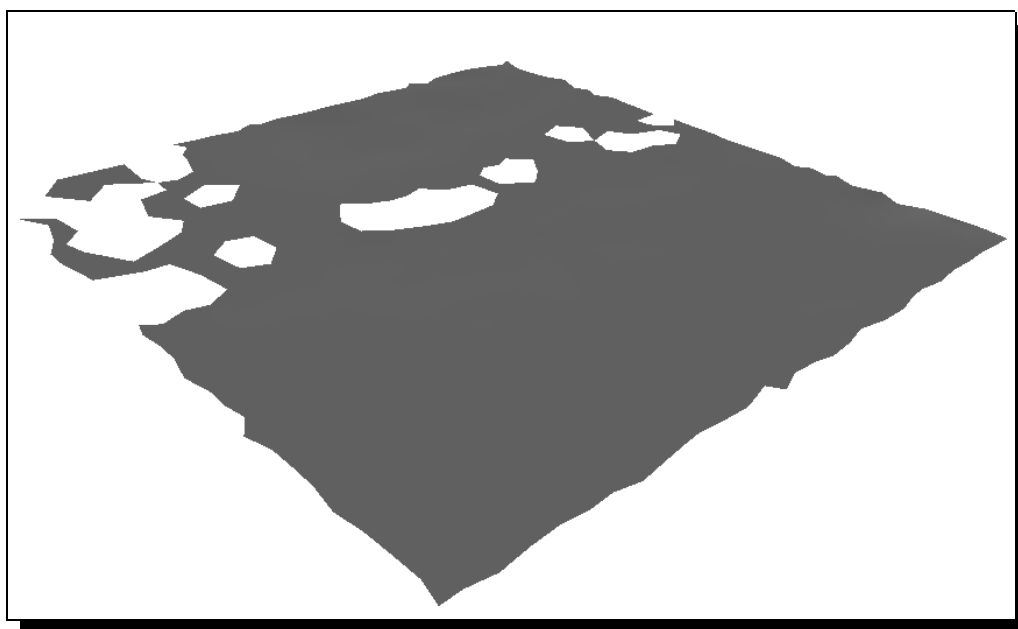


Fig. 53 – Rappresentazione a *mesh* di una rete costruita con valori z variabili tra 0 ed 1. Questa rete è troppo piatta, non vi si riconosce alcuna *feature* che possa permettere l'analisi istologica.

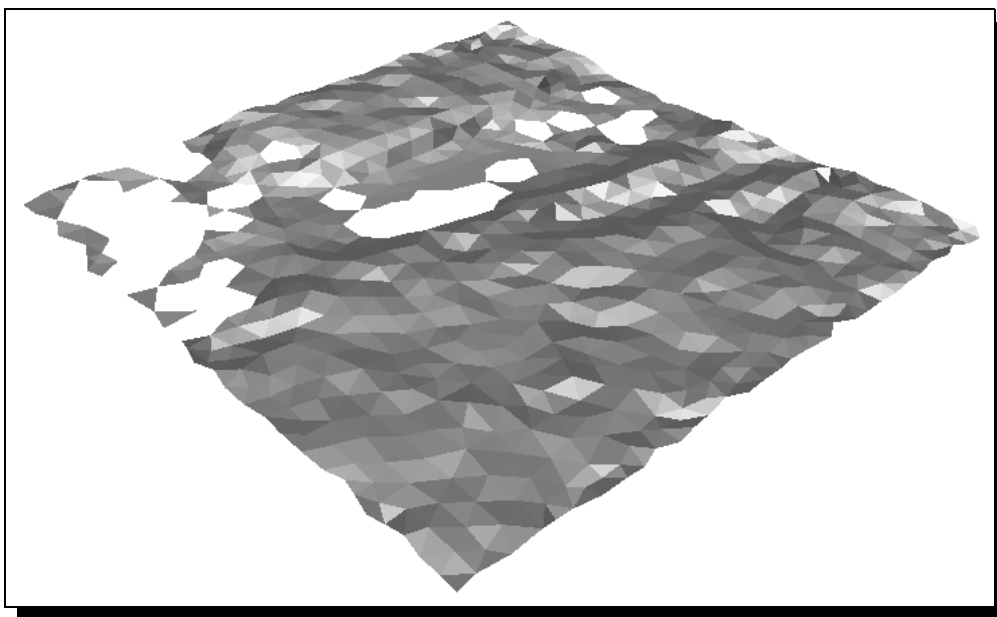


Fig. 54 – Rappresentazione a *mesh* di una rete di codifica, costruita con valori *z* variabili tra 0 ed 6.

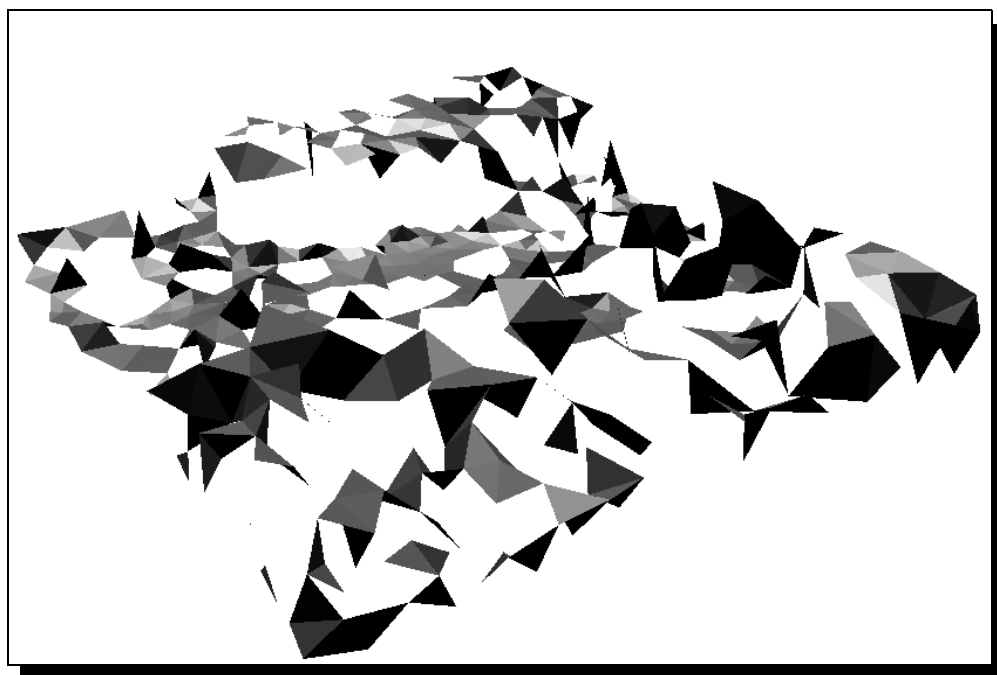


Fig. 55 – Rappresentazione a *mesh* di una rete costruita con valori *z* variabili tra 0 ed 36. La rete appare “strapata” e non vi si trova più traccia dell’originaria bidimensionalità dell’immagine istologica.

3.3.1 La mappa di rilevanza

In un lavoro precedente [Sacchetti 2005] la mappa di rilevanza era determinata in maniera significativa dalla mappa dell'entropia *fuzzy* (ossia, i pixel con appartenenza più ambigua venivano considerati maggiormente rilevanti). In questo lavoro si è adottata una soluzione che, sperimentalmente, si è rivelata più efficace.

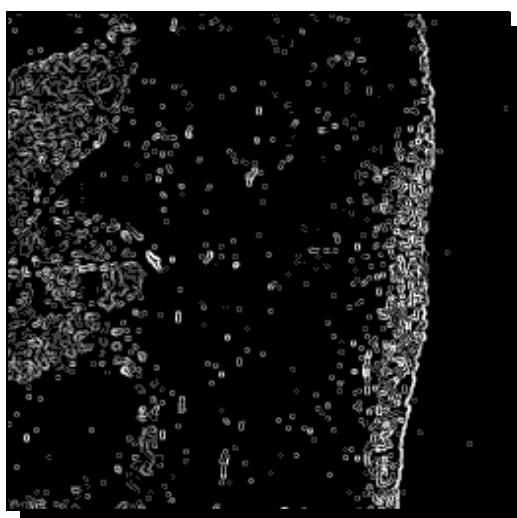


Fig. 56 – Componente gradiente di una mappa di rilevanza. Si distingue chiaramente il confine tra capsula e parenchima, dove la variazione di z è molto ampia e netta.

I valori assunti dai vari punti della mappa di rilevanza vengono in questo lavoro determinati come somma pesata p di tre valori: l'appartenenza a ciascuno dei due *cluster* e il gradiente rispetto a z . I pesi utilizzati, che si sono rivelati i maggiormente adatti sono 0,5 per l'appartenenza al segmento dell'eosina, 0,1 per l'appartenenza al segmento dell'ematossilina e 0,5 per il gradiente rispetto a z . La probabilità di ciascun nodo di emettere segnale sarà proporzionale a questa somma ponderata.

L'introduzione del gradiente come fattore correttivo della somma serve a garantire che la rete di codifica abbia una buona risoluzione laddove si ha maggiore variazione, inducendo in queste zone la generazione di più nodi molto vicini, ciascuno con una diversa elevazione z .

3.3.2 Campionamento del segnale 3D

L'emissione del segnale che organizza la rete di codifica è una semplice applicazione del paradigma algoritmico del *rejection sampling* [von Neumann 1951]:

1. Viene selezionato un pixel candidato tra quelli validi (cioè “colorati”, che hanno un valore di appartenenza non nullo ad almeno uno dei due segmenti); tutti i pixel validi hanno la me-

desima probabilità di essere estratti.

2. Viene generato un numero casuale r nell'intervallo tra 0 e 1.
3. Se r è minore del valore di p assegnato a quel pixel dalla mappa di rilevanza¹⁶, viene emesso un segnale tridimensionale (x, y, z) dove x ed y sono le coordinate spaziali del pixel selezionato mentre z è la quota z relativa a quel pixel, calcolata sulla base delle appartenenze *fuzzy*.
4. Se r non è minore del valore di p assegnato a quel pixel dalla mappa di rilevanza, il pixel viene scartato e nessun segnale viene emesso.
5. Si ritorna al passo 1.

In questo modo è effettivamente garantito che la probabilità di emissione di segnale da parte di un pixel sia proporzionale a p . Tipicamente viene scartata una media di 2-5 candidati per ogni segnale effettivamente emesso.

3.4 L'algoritmo LGWR per la costruzione della rete di codifica

3.4.1 Le reti autorganizzanti di Kohonen

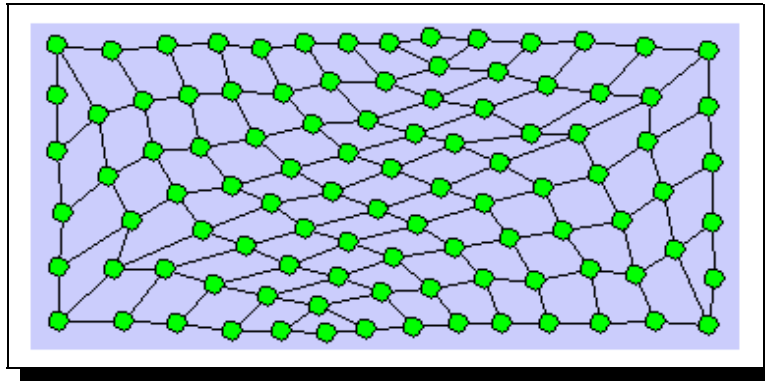


Fig. 57 – SOM 10×10 adattata ad un segnale 2D uniformemente distribuito sul rettangolo colorato.

Le reti autorganizzanti proposte da Teuvo Kohonen (*Self-Organizing Maps*, brevemente **SOM**) [Kohonen 2001] costituiscono l'esempio più noto di reti neurali non supervisionate. Diversamente dalle reti neurali supervisionate, queste reti non si adattano sulla base della differenza fra la propria risposta ad un input e la risposta attesa da parte di un agente supervisore. L'adattamento delle SOM è basato sull'ottimizzazione dell'accuratezza con cui la mappa è in grado di rappresentare l'input (il

¹⁶ Per come è definito in 3.3.1, questo valore p sarà sempre incluso tra 0 e 1.

flusso dei segnali) con un numero limitato di modelli (i nodi).

Una SOM è una rete con una topologia fissa, nel senso che le connessioni che determinano il vicinato di ciascun nodo sono prestabilite e non cambiano nel corso del processo di adattamento. In una SOM i singoli neuroni si adattano iterativamente cambiando la propria posizione in uno spazio ad n dimensioni¹⁷, dove n è la dimensione dell'informazione di input. L'adattamento si basa sull'apprendimento competitivo: per ciascun segnale viene determinato il nodo la cui posizione è più vicina (secondo una determinata funzione distanza, frequentemente la distanza cartesiana) allo stimolo; questo nodo viene detto *vincitore* (*winner*). La posizione del nodo vincitore viene spostata verso lo stimolo specializzando il vincitore nel riconoscimento di stimoli simili a quello appena ricevuto. Eventualmente, anche i nodi vicini al vincitore subiscono un adattamento simile, anche se di entità inferiore.

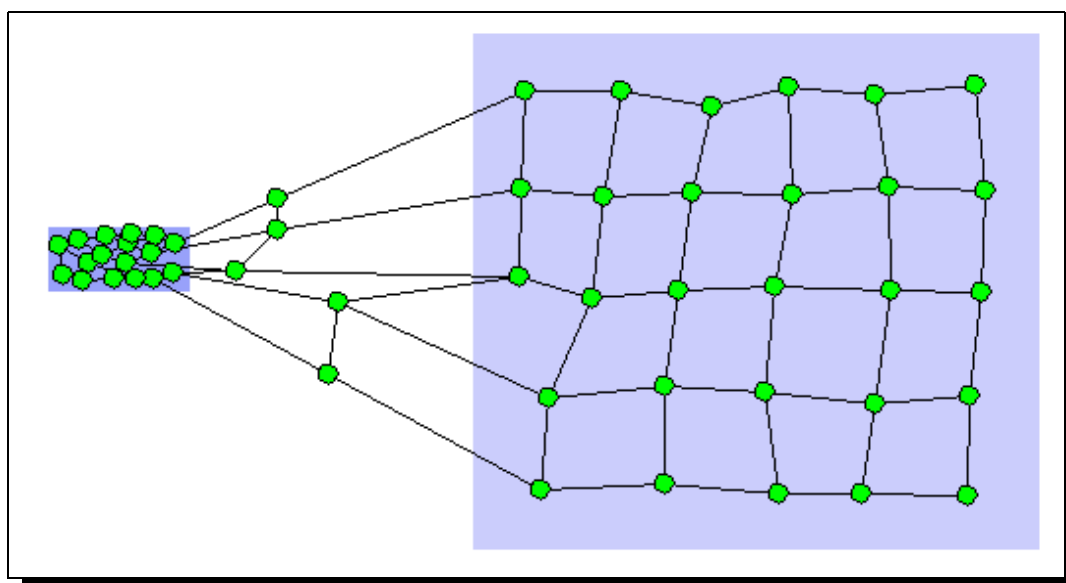


Fig. 58 – SOM 10×5 adattata ad un segnale 2D distribuito sui due rettangoli (con una frequenza maggiore ed uniforme sul rettangolo piccolo, con una frequenza minore ma sempre uniforme sull'altro). I nodi si addensano dove il segnale è più frequente. Inoltre, i vincoli topologici impediscono alla SOM di adattarsi efficacemente a distribuzioni di *input* con una forma incompatibile.

A partire da uno stato iniziale arbitrario, la rete tende ad uno stato di relativo equilibrio in cui, pur mantenendosi la struttura topologica stabilita a priori, la posizione dei nodi approssima per

¹⁷ Volendo ricondurre le SOM al paradigma classico delle reti neurali, ogni neurone della mappa va immaginato connesso ad un neurone di uno "strato di input" (composto da n neuroni) che rappresenta lo stimolo. In questa interpretazione delle SOM (che non è la più intuitiva), i neuroni dello strato di mappa si adattano nello spazio dei pesi (i pesi delle connessioni che hanno con ciascun neurone di input); anche il concetto di "peso delle connessioni" assume però in questo caso un significato diverso da quello consueto: il neurone della mappa che sarà maggiormente attivato dallo stimolo sarà quello il cui vettore dei pesi si "avvicinerà" maggiormente al vettore n -dimensionale dello stimolo, cioè al vettore dei livelli di attivazione degli n neuroni di input. La descrizione che abbiamo scelto ci sembra tuttavia molto più chiara.

quanto possibile la distribuzione dell'*input* nello spazio e nel tempo (le regioni dove è maggiore la frequenza dei segnali vedranno un maggiore addensamento di nodi). L'equilibrio raggiunto da una SOM è dinamico, per questo motivo le SOM hanno una moderata capacità di “inseguire” un input che varia nel tempo.

3.4.2 // Growing Neural Gas di Fritzke

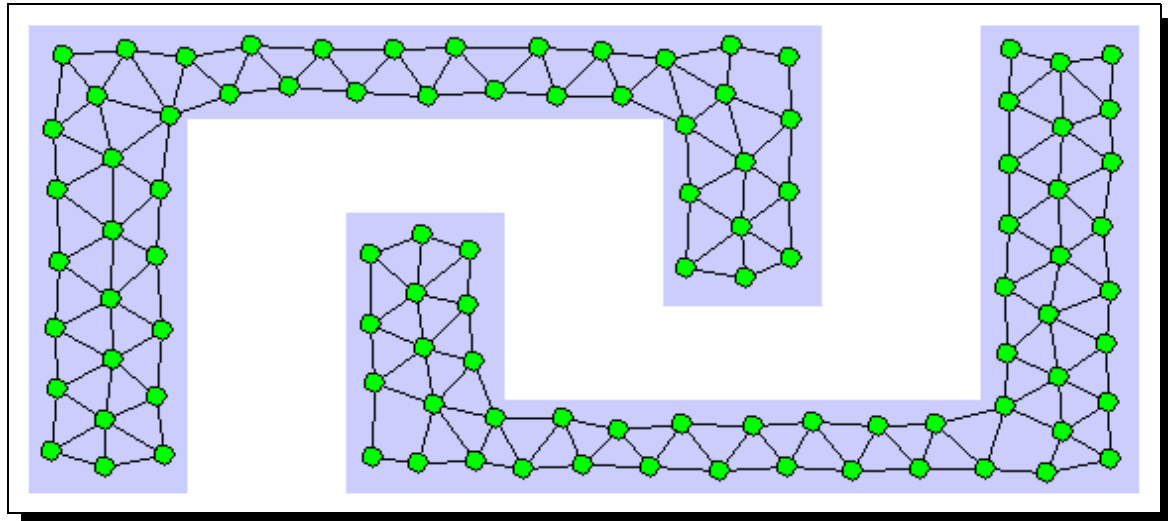


Fig. 59 – GNG a 100 nodi adattato ad un segnale 2D distribuito uniformemente sui due poligoni.

Il *Growing Neural Gas* (**GNG**) elaborato da Bernd Fritzke [Fritzke 1997] è un'evoluzione della SOM di Kohonen. La differenza principale consiste nell'abbandono della topologia fissa, a favore di un'idea di coevoluzione dei nodi e delle connessioni tra essi (archi).

In un GNG l'adattamento del nodo vincitore e dei suoi vicini è del tutto analogo a quanto avviene in una SOM. È definita inoltre per ogni nodo una grandezza detta “**errore accumulato**”. Il nodo vincitore di ogni iterazione incrementa il proprio errore accumulato di un valore pari alla distanza (per esempio cartesiana) tra la posizione del nodo e il segnale; in questo modo, i vincitori che meglio rappresentano lo stimolo hanno un errore basso. Ad ogni iterazione l'errore accumulato da ciascun nodo viene decrementato di una frazione prestabilita (in questo modo l'errore recente ha maggiore importanza dell'errore pregresso che viene “dimenticato”, in una sorta di processo di decadimento). L'errore accumulato serve ad indicare i “punti di stress” della rete, dove è più urgente la creazione di nuovi nodi per meglio rappresentare l'input.

In questo nuovo tipo di rete, anche gli archi hanno una forma di adattamento. Per ogni arco è definita una grandezza detta *età*. Ad ogni iterazione, se i due nodi più vicini al segnale (il vincitore e il “secondo”) non hanno un arco che li connetta, tale arco viene creato con un'età fissata pari a 0; se

invece l'arco tra il vincitore e il secondo già esiste, la sua età viene comunque riportata al valore 0. L'età di un arco, inoltre, aumenta di 1 ad ogni iterazione in cui uno dei due estremi dell'arco si trovi ad essere il vincitore. Quando l'età di un arco supera una soglia prestabilita, l'arco viene cancellato e con esso ogni nodo che risulti privo di connessioni.

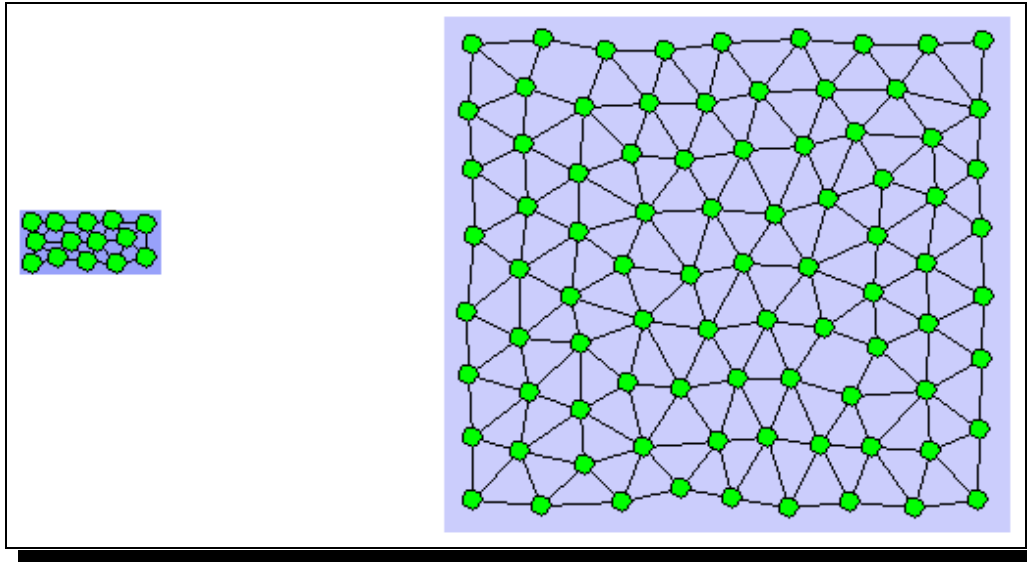


Fig. 60 – GNG a 100 nodi adattato ad un segnale 2D distribuito sui due rettangoli con diversa frequenza. Oltre a garantire (come la SOM) un addensamento di nodi variabile a seconda della frequenza di segnale, il GNG sa organizzarsi in modo opportuno rispetto alla geometria dell'*input*.

La rete inizia ad organizzarsi a partire da due nodi in posizioni arbitrarie, a cui è attribuito un errore accumulato pari a 0. Un parametro prefissato stabilisce ogni quante iterazioni si abbia la creazione di un nuovo nodo in un “punto di stress” della rete¹⁸. Il processo di creazione dei nuovi nodi si conclude quando si raggiunge un numero di nodi prestabilito.

Il GNG realizza in questo modo un meccanismo di *clustering* incrementale che sfrutta l'ampia libertà data alla rete nella sua organizzazione topologica per una fedele “copertura” di distribuzioni di segnale con qualsiasi geometria ed eventualmente anche (in particolare utilizzando alcune varianti come l'algoritmo *GNG-U*) variabili nel tempo.

3.4.3 La rete Grow-When-Required di Marsland

Il “punto debole” dell'algoritmo *GNG* è che, sebbene la topologia della rete non sia prestabilita,

¹⁸ Il nuovo nodo b è creato in posizione intermedia tra il nodo a col maggiore errore accumulato e il nodo c avente l'errore accumulato massimo tra i vicini di a ; la connessione tra a e c viene eliminata e vengono creati un arco che connetta a con b ed un arco che connetta b con c . L'errore accumulato da a e c viene decrementato di una frazione prestabilita e a b è attribuito come errore accumulato la media degli errori accumulati di a e di c .

l'inserimento di nuovi nodi avviene con frequenza predeterminata ed il processo si conclude al raggiungimento di una soglia prefissata di nodi. In altri termini, il GNG non ha la possibilità di stabilire il numero di nodi più opportuno per codificare il segnale: senza un limite massimo il numero di nodi continuerebbe a crescere indefinitamente realizzando di fatto un sovradattamento all'input.

Nell'ottica di questo lavoro:

1. Considerata la varietà di immagini istologiche rispetto alle quali sono fatte adattare le reti non supervisionate, si desidera che il numero di nodi non sia predeterminato ma che sia a sua volta il frutto di un processo adattativo.
2. Una volta che ci si è posti l'obiettivo di analizzare i dettagli geometrici e topologici di una rete, è utile che dopo un transitorio di adattamento essa sia il più possibile "congelata" e non in continua oscillazione.

La modifica dell'algoritmo *GNG* elaborata da Stephen Marsland, Jonathan Shapiro e Ulrich Nehmzow in [Marsland 2002] appare particolarmente utile ai nostri scopi. Infatti:

1. Introduce una frequenza variabile di creazione di nuovi nodi secondo un criterio locale.
2. Introduce un meccanismo di **assuefazione** (*habituation*) dei nodi al segnale, che spinge la rete alla convergenza (quando il segnale ha una distribuzione di probabilità che non varia nel tempo).

I due aspetti di novità nell'algoritmo sono peraltro organicamente legati tra loro. La rete **GWR** (*Grow-When-Required*, cresci-quando-serve) è dunque una significativa evoluzione del GNG, che merita una descrizione approfondita in quanto costituisce un aspetto fondamentale del software realizzato per gli esperimenti.

A è l'insieme dei nodi e C l'insieme degli archi che connettono i nodi. $p(\xi)$ è la distribuzione dell'input (vettoriale) ξ . Chiamiamo \mathbf{w}_n il vettore posizione del nodo n , h_n il suo valore di assuefazione¹⁹, $age_{(m,n)}$ l'età dell'arco tra i nodi m ed n .

Inizializzazione. Si pone

$$A = \{n_1, n_2\}$$

dove n_1 ed n_2 sono due nodi in posizioni arbitrarie. Si pongono inoltre

$$C = \emptyset$$

e

$$h_{n_1} = h_{n_2} = 1$$

Input. Si genera un campione ξ dell'input. Per questa iterazione, il nodo vincitore è

¹⁹ Per ragioni di semplicità di notazione che saranno chiare più avanti, il valore di assuefazione è tanto meno elevato quanto più assuefatto è il nodo. La grandezza h rappresenta quindi più correttamente la non-assuefazione.

$$s = \arg \min_{n \in A} \|\xi - \mathbf{w}_n\|$$

mentre il secondo è

$$t = \arg \min_{n \in A \setminus \{s\}} \|\xi - \mathbf{w}_n\|$$

Aggiornamento della connessione tra i vincitori. Se non vi è una connessione tra s e t , la si crea:

$$C = C \cup \{(s, t)\}$$

In ogni caso, si pone

$$age_{(s,t)} = 0$$

Eventuale aggiunta di nuovi nodi. Si definisce l'**attività** del vincitore come

$$a = e^{-\|\xi - \mathbf{w}_s\|}$$

Se a è maggiore di una soglia di attività prestabilita a_T e h_s è minore di una soglia di assuefazione prestabilita h_T , allora²⁰ un nuovo nodo r deve essere aggiunto (topologicamente, tra il vincitore e il secondo, ma con posizione intermedia tra quella del vincitore e quella del segnale):

$$A = A \cup r$$

$$\mathbf{w}_r = \frac{\mathbf{w}_s + \xi}{2}$$

$$h_r = 0$$

$$C = (C \setminus \{(s, t)\}) \cup \{(r, s), (r, t)\}$$

$$age_{(r,s)} = age_{(r,t)} = 0$$

Adattamento. Se non è stato aggiunto un nuovo nodo al passo precedente, si correggono le posizioni del vincitore e di tutti i nodi del suo vicinato topologico:

$$\Delta \mathbf{w}_s = \epsilon_w \cdot h_s \cdot (\xi - \mathbf{w}_s)$$

$$\forall i \in \text{Neighbors}(s) \quad \Delta \mathbf{w}_i = \epsilon_n \cdot h_i \cdot (\xi - \mathbf{w}_i)$$

dove ϵ_w e ϵ_n sono due costanti per cui vale $0 < \epsilon_n < \epsilon_w < 1$, analogamente a quanto avviene per altri algoritmi che regolano il comportamento di reti autorganizzanti. Si noti però che l'adattamento posizionale dei nodi è qui modulato dall'assuefazione: i nodi più assuefatti sono meno mobili; queste formule rivelano quindi il ruolo dell'assuefazione nello spingere la rete alla convergenza.

Invecchiamento degli archi. Si pone

$$\forall i \in \text{Neighbors}(s) \quad age_{(s,i)} = age_{(s,i)} + 1$$

Assuefazione. Si riducono i valori dell'assuefazione del vincitore h_s e, in misura minore, dell'assuefazione di tutti i vicini topologici del vincitore. La formula parametrica proposta in [Mar-

²⁰ Cioè quando vi è un'eccessiva distanza tra lo stimolo e il nodo che meglio lo rappresenta, ma al contempo quel nodo è eccessivamente assuefatto per poter adattarsi a questo segnale.

sland 2002] rende conto di studi sulla modellizzazione dell'assuefazione delle sinapsi biologiche ad uno stimolo. Una semplice realizzazione di quella formula prevede che le assuefazioni siano corrette secondo

$$h_s = \alpha_w \cdot h_s$$

$$\forall i \in Neighbors(s) \quad h_i = \alpha_n \cdot h_i$$

dove α_w e α_n sono due costanti per cui vale $0 < \alpha_w < \alpha_n < 1$.

Eventuali cancellazioni di archi e nodi. Si cancellano gli archi invecchiati sopra la soglia prestabilita age_T ed eventuali nodi rimasti “orfani”:

$$C = C \setminus \{(i, j) \in C \mid age_{(i, j)} > age_T\}$$

$$A = A \setminus \{o \in A \mid \forall k \in C \neg \exists (k, o) \in C\}$$

Fine iterazione. Si ritorna al passo di input.

Una rete GWR “trova da sola” il numero di nodi adeguato a coprire l'input con la precisione richiesta dal cruciale parametro a_T , riducendo gradualmente la mobilità dei nodi maggiormente vicini agli stimoli fino al punto in cui, superata la soglia di assuefazione, le zone assuefatte della rete diventano, se necessario, “centri generativi” di nuovi nodi ed archi.

3.4.4 L'evoluzione da GWR a LGWR

Per questo lavoro è stata sviluppata una variante della rete GWR denominata **LGWR** (*Layered GWR*, GWR stratificato). LGWR si distingue per due aspetti:

- LGWR ha un comportamento attivo (produce del segnale in output) oltre al comportamento passivo (si adatta ad un segnale in input) tipico delle reti autorganizzanti.
- LGWR si comporta in maniera leggermente diversa da GWR anche nel comportamento passivo.

3.4.4.1 I nodi attivi

I nodi della rete LGWR sono gli agenti del comportamento attivo. I nodi si aggregano sulla base dell'affinità ed emettono quindi segnali in output. In un certo senso, i nodi della rete LGWR possono essere immaginati come automi cellulari sulla base della cui interazione si realizza un comportamento emergente: l'emissione di segnale che corrisponde a diversi elementi caratteristici della rete di codifica.

Ogni nodo della rete LGWR è caratterizzato, oltre che (come i nodi di una rete GWR) dalla propria posizione e dalla propria assuefazione, da 8 valori di eccitazione (ciascuno relativo ad un diverso tipo astratto di *star*). Le dinamiche dei valori di eccitazione sono indipendenti.

I nodi manifestano il proprio comportamento attivo solamente durante quelle iterazioni in cui non vengono creati nuovi nodi e il nodo vincitore è assuefatto oltre la soglia. In tal caso, il nodo vincitore:

1. Per ciascun tipo di eccitazione, se è eccitato sopra una data soglia exc_T emette un segnale in output (consistente in una terna di valori x, y e z corrispondenti alla posizione tridimensionale del nodo) verso la corrispondente rete di rappresentazione.
2. Se sussistono le condizioni per connotarsi rispetto ad uno o più tipi, incrementa i corrispondenti valori di eccitazione.
3. Cede parte della propria eccitazione ai nodi vicini meno eccitati, a condizione che siano rispettate le condizioni di risonanza.

I fenomeni della connotazione e della risonanza e le condizioni per il loro verificarsi saranno discussi dettagliatamente in 3.5.

Questo comportamento attivo non produce alcun *feedback* sul comportamento passivo della rete, cioè non interferisce in alcun modo nell'evoluzione della posizione dei nodi e nell'evoluzione degli archi.

3.4.4.2 La disassuefazione

Nell'algoritmo *GNG*, la creazione di un nuovo nodo b tra due nodi a e c preesistenti (almeno uno dei quali ha elevato errore accumulato), provoca la riduzione dell'errore accumulato da a e c di una frazione α costante. In questo modo il parametro α dell'algoritmo regola la distribuzione della creazione di nuovi nodi permettendo a nodi diversi da a e c di generare vicino a sé un nuovo nodo al successivo passo di creazione di nodi. Se il parametro α è fissato a 0, la creazione di nuovi nodi tende a fermarsi in alcune regioni della rete perché il nodo che ha accumulato il maggiore errore non viene facilmente scalzato da quel ruolo.

Nell'algoritmo *GWR*, è l'assuefazione a giocare il ruolo che nell'algoritmo *GNG* dell'errore accumulato, cioè a fare da regolatrice della creazione di nuovi nodi. È vicino ai nodi assuefatti oltre la soglia che si ha la generazione di nodi. Tuttavia i nodi assuefatti attorno a cui si generano nuovi nodi non diminuiscono la propria assuefazione e spesso dopo poche iterazioni ne generano altri, cosicché lo sviluppo della rete è poco armonico: i primi nodi che raggiungono la soglia di assuefazione, di fatto, interrompono prematuramente il proprio adattamento posizionale e si trasformano in “centri generativi” di nuovi nodi.

3.4 L'ALGORITMO LGWR PER LA COSTRUZIONE DELLA RETE DI CODIFICA

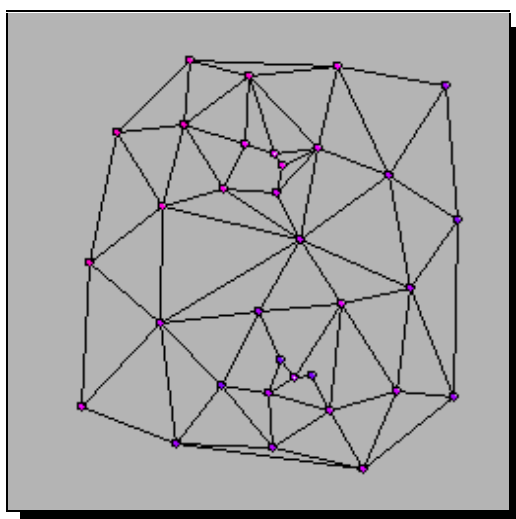


Fig. 61 – Sviluppo disarmonico di una rete GWR. I due nodi col puntino bianco sono gli unici assuefatti sopra soglia e sono diventati centri generativi di altri nodi. È evidente l'addensamento di nodi attorno a questi centri e lo squilibrio nella costruzione della rete. Le tracce di questa primitiva disarmonia saranno cancellate dalla rete solo dopo molte iterazioni, col crescere del numero di nodi ben assuefatti.

In questo lavoro si è ritenuto di correggere l'algoritmo *GWR* implementando nell'algoritmo *LGWR* la **disassuefazione**, un meccanismo analogo a quello regolato dal parametro α nell'algoritmo *GNG*. Secondo questo meccanismo, infatti, il nodo vincitore di un'iterazione dell'algoritmo *LGWR* riduce di un fattore costante α_{LGWR} la propria assuefazione se genera vicino a sé un nuovo nodo.

3.4.4.3 Il vincolo della superficie deformabile

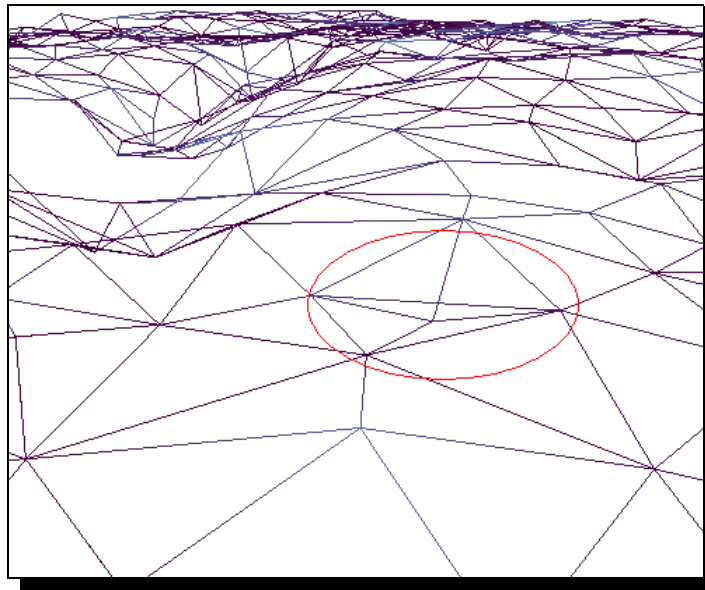


Fig. 62 – Difetto 3D in una rete realizzata senza la variante algoritmica che forza il vincolo della superficie deformabile. Nella zona indicata dall'ellisse, è presente uno spessore.

Se è vero che, a fronte di un segnale ricavato da una sorta di superficie 2.5D, già una rete GNG o GWR tende a disporsi come una superficie 2.5D in forma di grafo (a condizione che l'estensione lungo l'asse delle coordinate z sia contenuta entro margini ragionevoli), è anche vero che ad ogni dato momento si trovano in zone della rete imperfezioni 3D dovute alla creazione di nuovi archi la cui proiezione sul piano XY interseca la proiezione sullo stesso piano di altri archi.

Il problema è messo in luce facilmente dall'utilizzo di una rappresentazione a *mesh* della rete di codifica. Allo scopo di analizzare meglio le reti di codifica, è stato sviluppato un algoritmo di triangolazione della rete di codifica ed una funzione di esportazione in formato OFF che ne permette la visualizzazione 3D attraverso uno strumento software opportuno. Questa visualizzazione mostra come elementi con spessore (e quindi non 2.5D) si producano spesso con gli algoritmi GNG e GWR; questi elementi sono potenzialmente distruttivi nei confronti della rappresentazione di elementi caratteristici 2.5D della rete di codifica, che si basa sull'assunzione che la rete sia l'analogo in forma di grafo di una superficie deformabile.

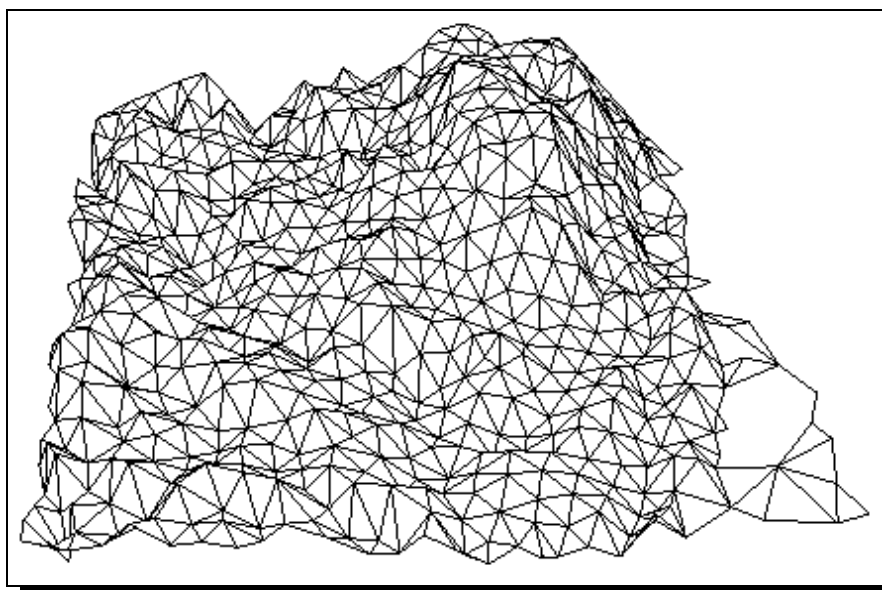


Fig. 63 – Rete LGWR sottoposta a triangolazione per permetterne la rappresentazione a *mesh*. È rispettato il vincolo della superficie deformabile.

Per evitare questo inconveniente, le reti LGWR forzano la non-sovrapposizione degli archi. Per ragioni di efficienza, l'algoritmo cancella solo eventuali archi sovrapposti ad un arco appena creato oppure gli archi sovrapposti all'arco che connette il vincitore ed il secondo di ogni iterazione. La verifica di sovrapposizione è realizzata con semplici formule di geometria analitica.

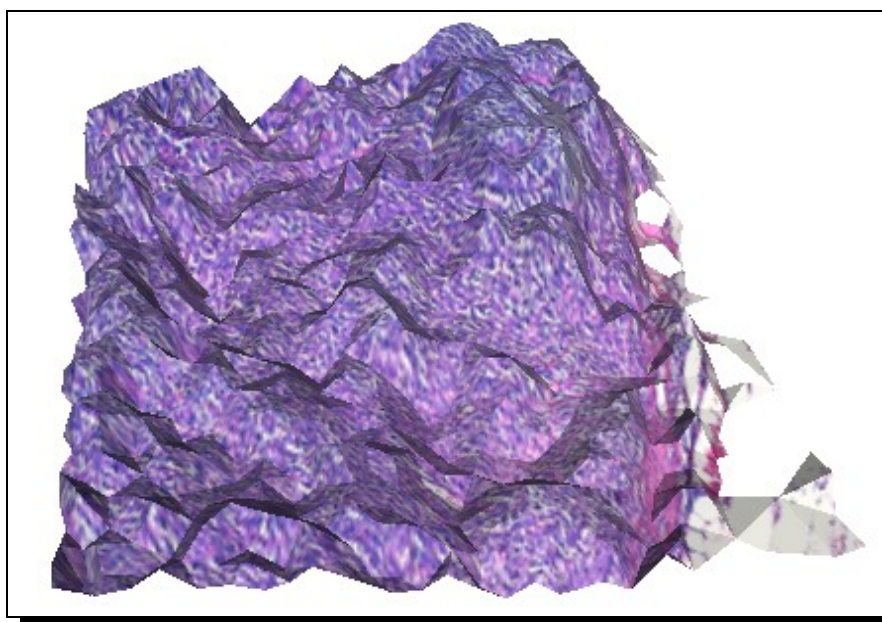


Fig. 64 – Rete LGWR nella rappresentazione a *mesh* con proiezione, sulle facce della superficie 2.5D, dell'immagine originaria. Il vincolo della superficie deformabile permette di utilizzare efficacemente visualizzazioni 3D. La rete raffigurata è la stessa della Fig. 63.

3.5 Le affinità selettive

La valutazione dell'affinità ad un tipo astratto di *star* è un'attività spontanea che viene avviata dai nodi sufficientemente abituati della LGWR ed il risultato si manifesta come incremento dell'eccitazione corrispondente a quel dato tipo. Questo meccanismo viene qui detto di *connotazione* di un nodo. L'eccitazione si propaga poi ai nodi vicini e meno affini le cui *star* sono in qualche modo compatibili con le *star* dei nodi più eccitati. Quest'ulteriore meccanismo viene qui detto di *risonanza*. Nel complesso, i meccanismi di connotazione e risonanza provocano la propagazione dell'eccitazione tra i nodi della rete di codifica e quindi la formazione delle aggregazioni corrispondenti a ciascun tipo.

Le condizioni che innescano la connotazione o che permettono la risonanza (e che ovviamente sono dipendenti dal particolare tipo astratto a cui si fa riferimento) dipendono solo dalla combinazione di pochi fattori; questi fattori inoltre sono relativi al singolo nodo oppure alla sua *star* e alle *star* vicine; per queste ragioni tali fattori sono indicati come *caratteristiche elementari locali*.

3.5.1 Le caratteristiche elementari locali

Le informazioni utilizzate dal nodo vincitore di ciascuna iterazione e dai propri vicini nella determinazione dell'evoluzione dei propri stati di eccitazione sono:

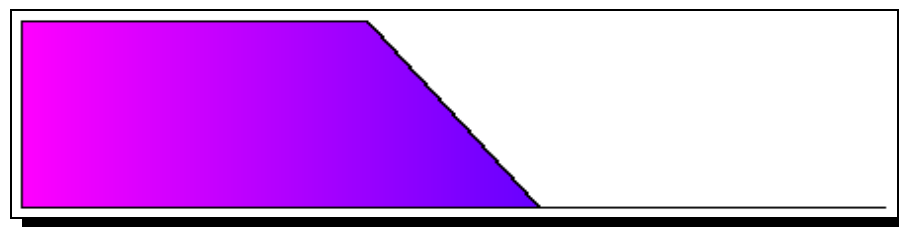


Fig. 65 – Tipica forma di una funzione *focus*. L'asse delle ascisse corrisponde all'asse *z* dello spazio in cui si organizza la rete di codifica. L'ordinata massima è pari a 1.

- La quota *z*. Ogni tipo di affinità ha valori di *z* caratteristici; per esempio una *star* di tipo *Shore* si trova necessariamente nella parte “bassa” della rete. Per ogni tipo e per ogni immagine viene definita una funzione *focus(z)* che attribuisce ad ogni *z* un valore incluso tra 0 ed 1, il quale indica la bontà di quel valore di *z* rispetto all'affinità ricercata. Il supporto della funzione *focus* ha forma trapezoidale (in casi degeneri, rettangolare); i livelli a cui assume valore 1 e quelli in cui varia linearmente tra 0 e 1 in alcuni casi vengono tarati sulla base di un particolare livello *z* dipendente dall'intero set di immagini appartenenti al medesimo vetrino²¹.

²¹ La taratura dei livelli caratteristici di *focus* per tipi come *Land* e *Plateau* è determinata sulla base delle caratteristiche

- Le caratteristiche statistiche delle pendenze degli archi delle *star* dei nodi coinvolti, e cioè la media delle pendenze degli archi di ciascuna *star*, la varianza delle stesse, la pendenza massima e quella minima:

$$\forall m \in \text{Neighbors}(n) \quad s_{(n,m)} = \frac{z_m - z_n}{\sqrt{(\Delta x)^2 + (\Delta y)^2}}$$

$$\bar{s}_n = \frac{\sum_{e \in \text{Edges}(n)} s_e}{E_n}$$

$$\sigma_{s_n} = \sqrt{\frac{\sum_{e \in \text{Edges}(n)} (s_e - \bar{s}_n)^2}{E_n}}$$

$$\max_n s = \max_{e \in \text{Edges}(n)} s_e$$

$$\min_n s = \min_{e \in \text{Edges}(n)} s_e$$

dove E_n è il numero di vicini di n mentre gli altri simboli hanno significato ovvio. Si noti che, in questa definizione, la pendenza è dotata di segno.

- Le altre caratteristiche geometrico-topologiche della *star*, come il numero di nodi che ne fanno parte e la loro disposizione nello spazio (gli angoli che gli archi fanno tra di loro, in che modo sono intercalati archi ascendenti ed archi discendenti ecc.).

3.5.2 Il ciclo dell'eccitazione

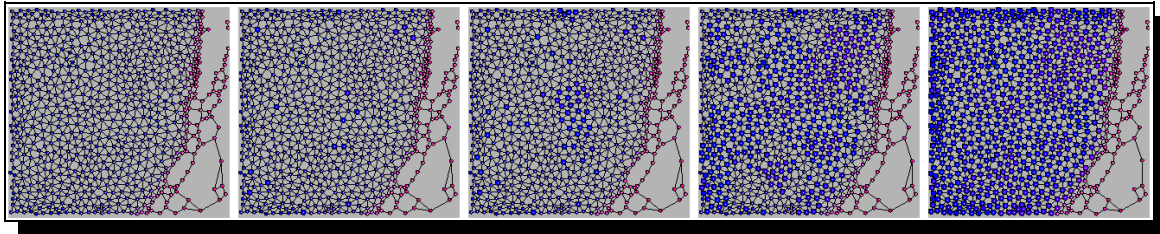


Fig. 66 – Innesco e diffusione di eccitazione di tipo *Land*. I nodi raffigurati da un cerchio più grande sono quelli con valore di eccitazione non nullo.

3.5.2.1 La connotazione

La connotazione è il processo di autoeccitazione di un nodo, che si può verificare solo per i nodi assuefatti oltre la soglia.

statistiche delle reti di codifica delle immagini appartenenti a ciascun vetrino. La ovvia considerazione di partenza è che le *star* con il nodo centrale ad un livello z basso hanno in genere pendenze degli archi più positive che negative; viceversa le *star* con alto livello z hanno una prevalenza di pendenze negative. Si analizza la distribuzione dei nodi delle reti di codifica individuando qual è il livello z discriminante in cui avviene il passaggio da una prevalenza di pendenze positive ad una prevalenza di pendenze negative. Questo livello varia leggermente da vetrino a vetrino ed è sulla base di questo fattore che si realizza la taratura. Riteniamo che progressi nella fase di segmentazione potranno ridurre questa variabilità.

Una condizione supplementare è quella chiamata *slopeAptness* (adeguatezza delle pendenze): si possono connotare secondo un tipo astratto solo i nodi le cui *star* abbiano pendenze che rispettino alcuni vincoli. Questi vincoli sono diversi da tipo a tipo ma dipendono sempre esclusivamente dalle caratteristiche statistiche (media, varianza, valori estremi) delle pendenze.

Se queste condizioni sono rispettate²², il nodo n si eccita di un valore pari a

$$\Delta_c exc_n = \chi_c \cdot focus(z_n) \cdot starAptness(n)$$

dove il pedice c indica che si tratta della connotazione, χ_c è una costante che pone un limite massimo all'eccitazione per connotazione, *starAptness* (adeguatezza della *star*) è una funzione che assume un valore incluso tra 0 e 1.

La funzione *starAptness* è dipendente dal tipo astratto che si sta considerando, ma in ogni caso dipende solo da caratteristiche geometrico-topologiche della *star* come il numero di nodi che ne fanno parte, gli angoli formati dagli archi e la loro disposizione, il tipo di alternanza tra archi ascendenti e discendenti. È evidente che in questa fase può essere necessario applicare un ordinamento (ciclico) all'insieme degli archi.

3.5.2.2 La risonanza

La risonanza è il processo attraverso il quale un nodo, (1) eccitato e (2) assuefatto oltre la soglia, cede parte della propria eccitazione a nodi vicini (3) meno eccitati. Se queste tre condizioni sono rispettate, allora l'eccitazione si trasferisce secondo

$$\begin{aligned} \forall m \in Neighbors(n) \\ \Delta_m exc_m = -\Delta_n exc_n = \\ = \frac{exc_n - exc_m}{k + 1} focus(z_n) \cdot focus(z_m) \cdot slopeCompatibility(n, m) \cdot starCompatibility(n, m) \end{aligned}$$

dove k è il numero dei vicini di n . *slopeCompatibility* (compatibilità tra pendenze) e *starCompatibility* (compatibilità tra *star*) sono funzioni che assumono valori inclusi tra 0 e 1.

Un nodo con k vicini quindi “mette in gioco” con ciascun vicino solo $[1 / (k + 1)]$ della propria eccitazione: non può cioè cedere ad un solo vicino una frazione della propria eccitazione maggiore di questa. Questo garantisce che, attraverso la risonanza, non sia possibile l'esaurimento totale dell'eccitazione del nodo: al massimo infatti può esserne ceduta una frazione $[k / (k + 1)] < 1$.

Un'altra conseguenza della formula è che la risonanza, essendo proporzionale alla differenza tra

²² I nodi vicino al bordo dell'immagine sono troppo facilmente riconosciute come affini ai tipi *Shore*. Questo difetto di riconoscimento sarebbe frequente fonte di classificazioni sbagliate se non venisse corretto. A livello implementativo, si introduce quindi una condizione ulteriore: un nodo non si può connotare come *Shore* se è troppo vicino ad un bordo “di taglio” (ossia un bordo dell'immagine lungo il quale vi sia del tessuto); l'eccitazione di tali nodi di bordo, se si trattasse di “vere” *Shore*, sarà eventualmente determinata dalla risonanza.

le eccitazioni con un coefficiente di proporzionalità che è sempre non maggiore di 1, non può portare il nodo ricettore dell'eccitazione ad un livello di eccitazione superiore a quello del nodo donatore.

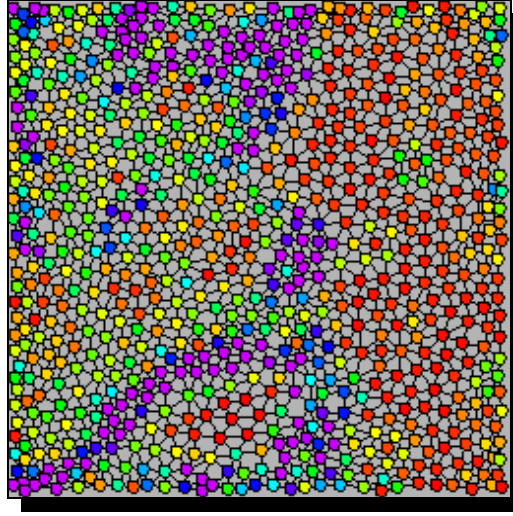


Fig. 67 – Visualizzazione della varianza delle pendenze degli archi della *star* di ciascun nodo di una rete. Il colore rappresenta il valore della varianza: le tinte verso il violetto dello spettro hanno alta varianza, le tinte verso il rosso hanno varianza bassa. La risonanza può verificarsi più facilmente tra nodi che in questa figura abbiano tinta simile.

Mentre *slopeCompatibility* dipende solo, come *slopeAptness*, dalla statistica delle pendenze degli archi della *star*, *starCompatibility* dipende, come *starAptness*, dalle altre caratteristiche geometrico-topologiche della *star*. *starCompatibility* ha una forma differente per ogni tipo astratto, mentre *slopeCompatibility* è la stessa funzione per ogni tipo ed ha un ruolo decisivo nel regolare la diffusione dell'eccitazione:

$$slopeCompatibility(n, m) = \begin{cases} \frac{10}{11} c_{\text{mean}}(n, m) + \frac{1}{11} c_{\text{var}}(n, m) & \Leftarrow c_{\text{mean}}(n, m) \geq c_{\text{var}}(n, m) \\ \frac{1}{11} c_{\text{mean}}(n, m) + \frac{10}{11} c_{\text{var}}(n, m) & \Leftarrow c_{\text{mean}}(n, m) < c_{\text{var}}(n, m) \end{cases}$$

Si tratta insomma della media pesata tra due grandezze, le quali rappresentano (in una scala da 0 e 1) la vicinanza tra diverse grandezze statistiche (media e varianza) delle pendenze degli archi dell'una e dell'altra *star*:

$$c_{\text{mean}}(n, m) = \left(1 - \frac{|\bar{s}_n - \bar{s}_m|}{L_{\text{mean}}} \right)^+$$

$$c_{\text{var}}(n, m) = \left(1 - \frac{|\sigma_{s_n} - \sigma_{s_m}|}{L_{\text{var}}} \right)^+$$

dove L_{mean} e L_{var} sono costanti che indicano la massima differenza accettabile rispettivamente tra medie e tra varianze delle pendenze perché un nodo trasmetta eccitazione ad un vicino, mentre $(\cdot)^+$

indica la funzione parte positiva.

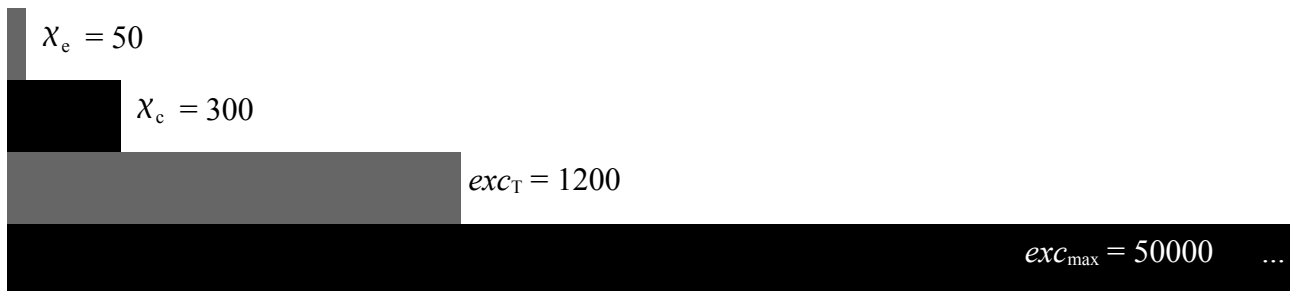
3.5.2.3 L'emissione di segnale

Un nodo non emette segnale finché non ha superato sia la soglia di assuefazione h_T sia la soglia di eccitazione exc_T . L'emissione del segnale comporta, oltre ovviamente alla trasmissione²³ di una nuova terna di valori (x, y, z) pari alla posizione del nodo emittente nello spazio 3D in cui si sviluppa la rete, la perdita immediata di una quantità di eccitazione pari ad una costante χ_e , che dev'essere minore di χ_c .

Se la frequenza di emissione di un nodo non è sufficientemente elevata rispetto alla velocità con cui cresce la sua eccitazione (e questo si verifica tipicamente coi nodi che si connotano), il livello di eccitazione continuerà a crescere ben sopra la soglia exc_T . Esiste tuttavia un livello di **saturazione** dell'eccitazione, exc_{max} , sopra il quale l'eccitazione non può salire.

Il meccanismo complessivo dell'eccitazione vede dunque un'introduzione dell'eccitazione nel sistema nei nodi che si connotano, i quali generalmente raggiungono più o meno velocemente la saturazione, alimentando al contempo i nodi vicini e indirettamente l'intera aggregazione attiva. I nodi compatibili più vicini ai nodi connotati hanno in genere un'elevata velocità di eccitazione, mentre più ci si allontana dai nodi generatori di eccitazione più il processo di eccitazione per risonanza è lento. Si raggiunge in genere uno stato di equilibrio dinamico tra connotazione, risonanza ed emissione di segnale, in cui solo una parte dei nodi raggiungono la soglia per l'emissione con frequenza elevata e costante.

Questi sono i valori utilizzati in questo lavoro per le 4 costanti che regolano il ciclo dell'eccitazione:



²³ Il segnale in output dalla rete di codifica è posto in un *buffer*. Da qui sono estratti casualmente segnali che alimentano in input le reti di rappresentazione. In questo modo si realizza un disaccoppiamento rispetto all'ordine esatto di emissione dei segnali in output, che ha lo scopo di evitare il rischio di effetti spuri, a livello implementativo, dovuti all'inerente sequenzialità dello strumento software; il nostro modello teorico ha infatti un carattere distribuito e in parallelo.

3.5.3 Tipi di affinità

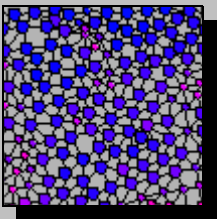
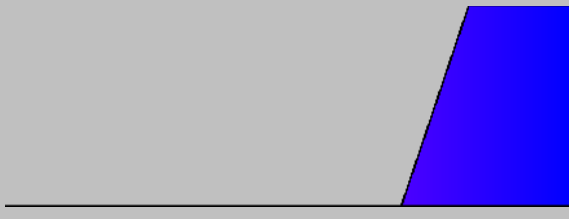
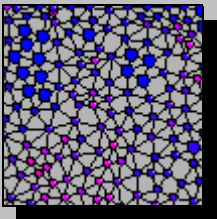

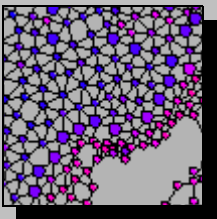

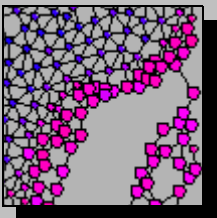

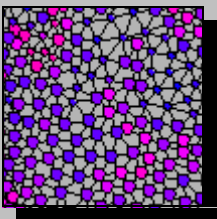
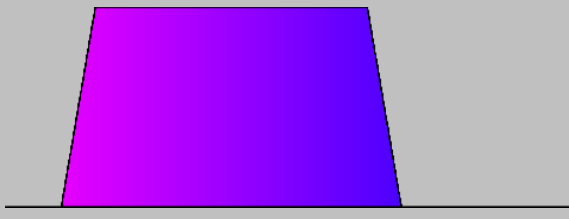
Sono stati definiti 8 tipi astratti di *star* a cui un nodo della rete di codifica può risultare più o meno affine:

- Una *star* di tipo *Land* (terra) ha un nodo centrale ad un livello alto di z con almeno 4 vicini e ha una forma prevalentemente convessa ed abbastanza regolare. Normalmente una *Land* è circondata da altre *star* dello stesso tipo.
- Una *star* di tipo *Plateau* (altopiano) ha un nodo centrale ad un livello molto alto di z con almeno 6 vicini²⁴ ed ha una forma quasi piatta. Normalmente una *Plateau* è circondata da altre *star* dello stesso tipo.
- Una *star* di tipo *Cliff* (dirupo o scogliera) ha (almeno 5) archi sia ascendenti sia discendenti, ma la pendenza discendente è prevalente. Se ha archi quasi piatti, spesso questi la connettono ad altre *star* di tipo *Cliff*.
- Una *star* di tipo *Shore* (spiaggia) ha un nodo centrale ad un livello molto basso di z e si trova vicina ad un margine della rete, cioè vicina ad un “buco”. Spessissimo una *Shore* fa parte di una “fila” di *star* di quel tipo.
- Una *star* di tipo *Lake* (lago) o *Valley* (valle) ha un nodo centrale ad un livello di z medio-basso nel caso della *Lake* e basso nel caso della *Valley*. La forma della *star* è prevalentemente concava. Normalmente una *Lake* o una *Valley* è circondata da altre *star* dello stesso tipo.
- Una *star* di tipo *Sink* (pozzo) ha almeno 6 archi e tutti nettamente ascendenti. La tipica *Sink* è isolata.
- Una *star* di tipo *Canyon* (gola o appunto canyon) ha un nodo centrale ad un livello piuttosto basso di z con almeno 5 vicini e ha una forma prevalentemente concava ma irregolare: i suoi archi sono quasi piatti od ascendenti. Spesso una *Canyon* fa parte di una “fila” o di una “ramificazione” di *star* di quel tipo collegate lungo i propri archi quasi piatti.

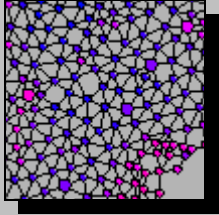

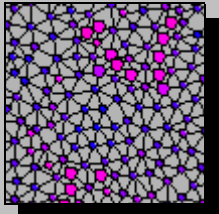
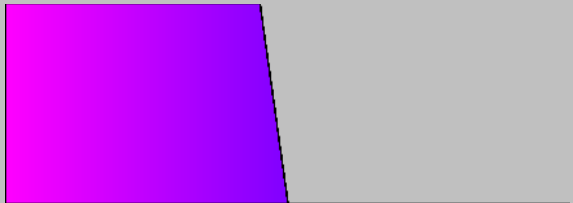
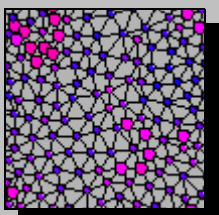

Nella tabella che segue si possono osservare esempi di nodi con una buona affinità a ciascun tipo; i nodi in questione sono raffigurati come cerchi più grandi.

Nella tabella è inoltre indicato per ciascun tipo di *star* il numero minimo di archi ed un esempio di funzione *focus*. Il *focus* per alcuni tipi dipende dalle caratteristiche della singola immagine, quindi il grafico è solamente indicativo dell'andamento della funzione nei vari casi.

²⁴ Quando non sono presenti forti variazioni di z od altre irregolarità, la rete ha una forte tendenza a disporsi come una trama di triangoli in cui ogni nodo abbia esattamente 6 vicini. Pretendere almeno 6 vicini equivale a pretendere che il nodo sia in una zona di forte regolarità e planarità.

tipo	esempio	archi	focus
<i>Land</i>		≥ 4	
<i>Plateau</i>		≥ 6	
<i>Cliff</i> ²⁵		≥ 5	
<i>Shore</i>		≥ 1	
<i>Lake</i>		≥ 1	

²⁵ L'immagine di esempio per il tipo *Cliff* è stata realizzata in modo differente dagli altri. L'ampiezza del *focus* di questo tipo (che copre la maggior parte dei valori validi di z , con l'eccezione dei soli valori estremi) fa sì che l'eccitazione si diffonda facilmente su molti nodi. Tuttavia solo una piccola parte dei nodi eccitati emetteranno segnale, gli altri si limiteranno a raggiungere una bassissima eccitazione. Abbiamo di conseguenza scelto di rappresentare nell'immagine solo i primi nodi che si sono eccitati (probabilmente soprattutto per connotazione) secondo il tipo *Cliff*.

tipo	esempio	archi	focus
<i>Sink</i>		≥ 6	
<i>Canyon</i>		≥ 5	
<i>Valley</i>		≥ 1	

Avendo già discusso della funzione *slopeCompatibility*, diamo nella prossima tabella una descrizione sintetica della forma (specificata per ogni tipo) assunta dalle condizioni di adeguatezza delle pendenze e dalle altre due funzioni²⁶ che regolano la connotazione e la risonanza dei nodi.

tipo	<i>slopeAptness</i>	<i>starAptness</i>	<i>starCompatibility</i>
<i>Land</i>	$\bar{s} < 0 \wedge \sigma_s \simeq 0$	$= 1$	
<i>Plateau</i>	$\bar{s} \simeq 0 \wedge \sigma_s \simeq 0$	$= 1$	$= 0,1$
<i>Cliff</i>	$\bar{s} \ll 0 \wedge \sigma_s \gg 0$	$= 0$ se gli archi sono tutti piatti o tutti ascendenti o tutti discendenti; $= 1$ altrimenti	$= 0,25$ lungo gli archi piatti; $= 0,1$ lungo gli altri archi
<i>Shore</i>	$\min s \simeq 0 \wedge \bar{s} > 0$	$= [2g(\theta_{\max}) - 1]$ se $\theta_{\max} > 120^\circ$; $= 0$ altrimenti	$= 1$ lungo gli archi piatti; $= g(\theta)$ altrimenti (ma come minimo $= 0,1$)

²⁶ Evitiamo di ripetere, nella descrizione delle due funzioni, la condizione sul numero di archi. Quando il numero di archi è inferiore al minimo ammesso per quel tipo, le due funzioni semplicemente si annullano.

tipo	<i>slopeAptness</i>	<i>starAptness</i>	<i>starCompatibility</i>
<i>Lake e Valley</i> ²⁷	$\bar{s} > 0$	$= 1$	
<i>Sink</i>	$\bar{s} \gg 0$	$= 1$	$= 0$
<i>Canyon</i>	$\sigma_s \gg 0$	$= 0$ se ha archi discendenti; $= 1$ altrimenti	$= 0$ se ha archi discendenti; altrimenti, $= 1$ lungo gli archi piatti; $= 0,5$ lungo gli altri archi

Shore merita una spiegazione ulteriore. Se consideriamo la proiezione di una *star* sul piano XY, quelle semirette (con origine nel nodo centrale della *star*) che sono il prolungamento della proiezione degli archi della *star* determinano una partizione del piano in un ugual numero di angoli piani. θ_{\max} è l'ampiezza del massimo tra questi angoli. Dato un arco, considerate le ampiezze dei due angoli tra cui la proiezione di quell'arco è incluso, indichiamo con θ la maggiore di esse. Sono questi θ e i θ_{\max} che compaiono nella tabella. La funzione g è invece definita così:

$$g(\alpha) = \begin{cases} 0 & \Leftarrow \alpha \in [0, \pi/2[\\ |\cos(\alpha)| & \Leftarrow \alpha \in [\pi/2, \pi[\\ 1 & \Leftarrow \alpha \in [\pi, 2\pi[\end{cases}$$

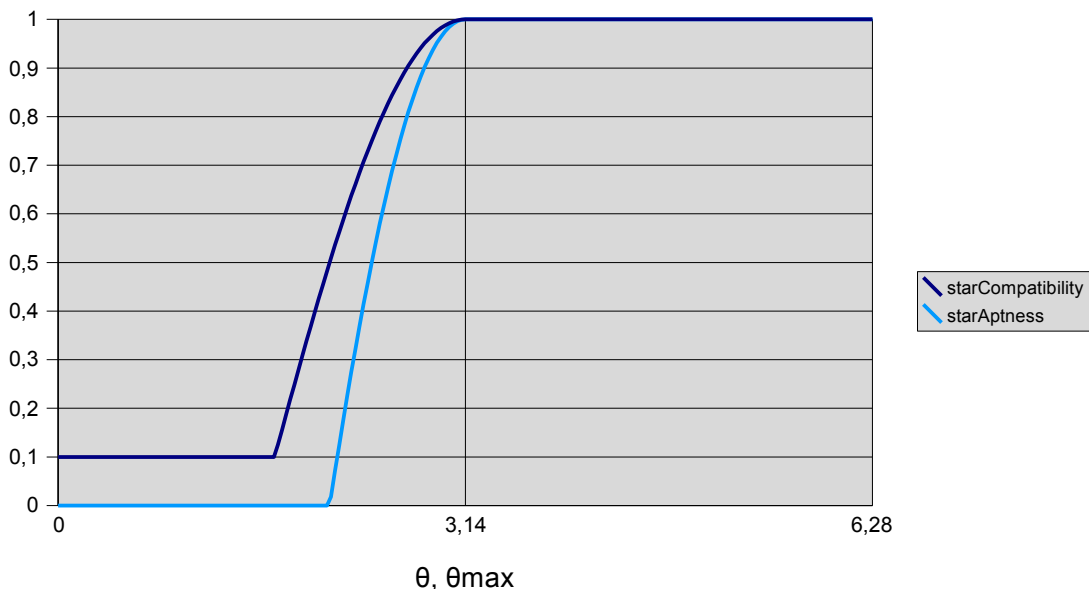


Fig. 68 - Grafici delle due funzioni che regolano l'eccitazione di tipo *Shore* sulla base degli angoli formati dagli archi della *star*. L'angolo è indicato in radianti.

²⁷ *Lake e Valley* si distinguono solo per il *focus*. Tra l'altro i supporti delle funzioni *focus* di questi due tipi sono anche parzialmente sovrapposti.

Il limite dei 120° per la *starAptness* del tipo *Shore* è stato scelto sulla base della considerazione che nell'algoritmo LGWR un singolo arco può facilmente essere eliminato per poi essere rapidamente rigenerato. Si dice che gli archi talvolta “lampeggiano”. In un dato istante l'assenza di un singolo arco può non essere significativa, trattandosi solo di un breve transitorio; essendo la forma tipica di una *star* quella ad esagono (con l'angolo tra arco e arco pari a $360^\circ / 6 = 60^\circ$), la scomparsa temporanea di un arco in una *star* standard (non di bordo) produce un angolo di un'apertura pari a $120^\circ (= 60^\circ \times 2)$. Essendo per noi particolarmente significativa come possibile *Shore* solo una *star* effettivamente di bordo, escludendo dalla connotazione le *star* con $\theta_{\max} < 120^\circ$ stiamo escludendo quelle *star* non di bordo che hanno ottenuto un'apertura notevole solo per la temporanea cancellazione di un arco. Per quanto riguarda la risonanza, abbiamo adottato una politica di maggiore tolleranza osservando che spesso l'estensione di lunghi archi della rete di codifica dalla regione della capsula a regioni eosinofile fuori dalla capsula fanno sì che elementi chiaramente *Shore* siano raggiungibili dall'eccitazione solo lungo archi con θ prossimo ai 90° .

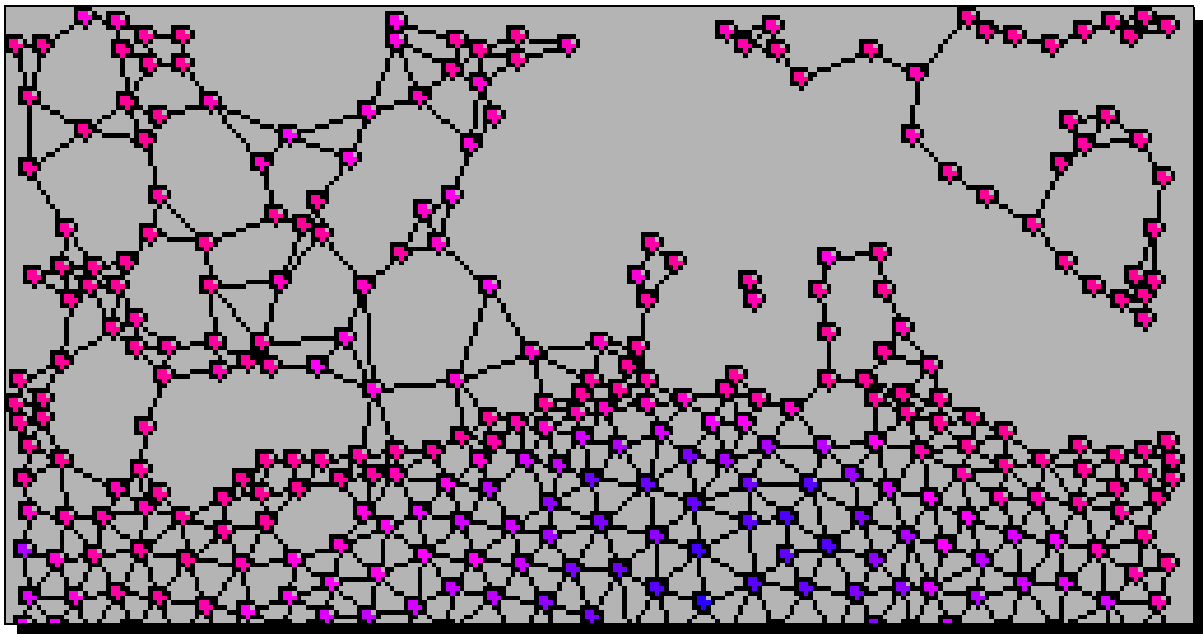


Fig. 69 – Dettaglio di una rete di codifica. Si notino le ampiezze degli angoli formati dagli archi nella regione corrispondente alla capsula e al materiale esterno alla capsula.

3.6 L'algoritmo GWR modificato per la costruzione delle reti di rappresentazione

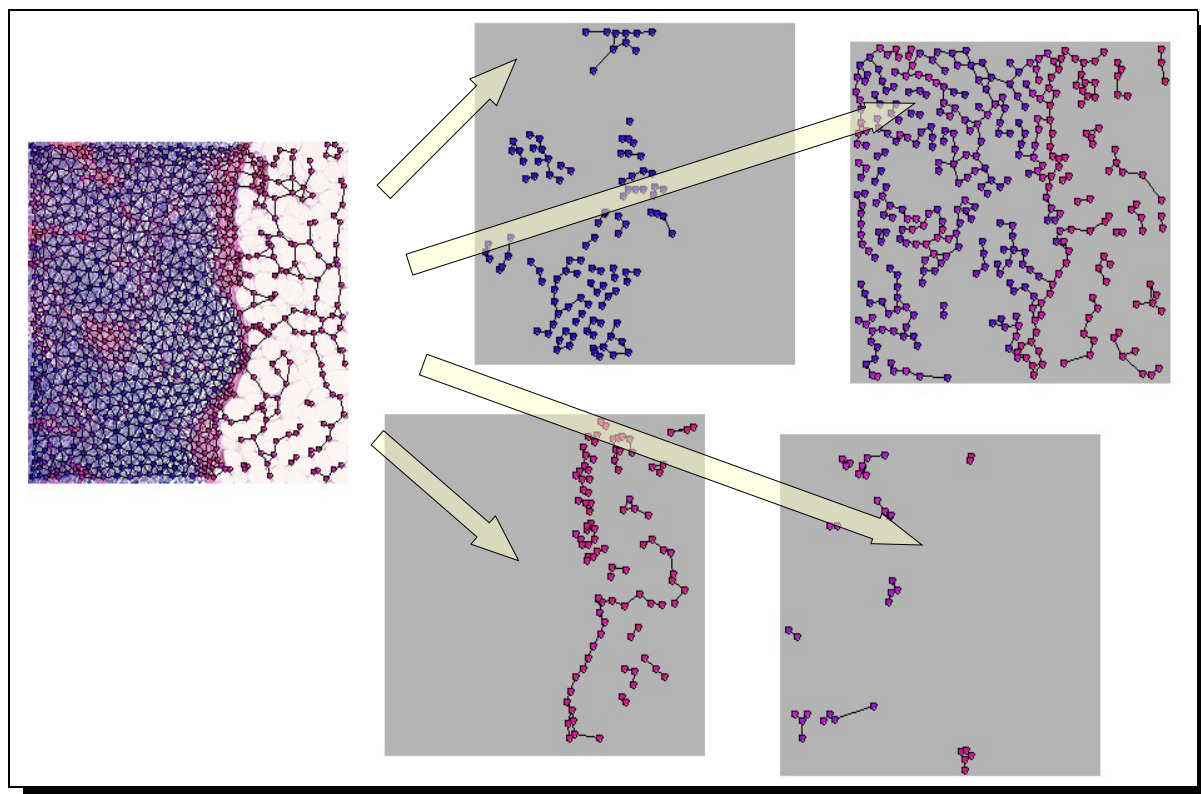


Fig. 70 – Reti di codifica e di rappresentazione (Fig. 10, già presentata a pag. 17).

I segnali (relativi ai 8 diversi tipi) emessi in output dalle aggregazioni attive della rete di codifica alimentano le reti di rappresentazione, che sono fondamentalmente reti GWR. Una differenza rilevante, sia rispetto all'algoritmo *LGWR* sia rispetto al “capostipite” *GWR*, si ha tuttavia nel meccanismo di cancellazione degli archi²⁸.

Si ricordi che nell'algoritmo *GWR* un arco viene cancellato quando la sua età supera una soglia prestabilita. L'età tuttavia non ha in tale contesto il significato intuitivo di “iterazioni trascorse dal momento della creazione del nodo”, ma assume un significato tecnico che dipende dalle caratteristiche di dettaglio della *GWR*; l'età viene infatti azzerata quando l'arco si trova ad essere l'arco di collegamento tra il vincitore e il secondo (una sorta di *refresh*), tuttavia secondo l'algoritmo *GWR* gli archi non “invecchiano” con il passare delle iterazioni ma soltanto quando si trovano a far parte della *star* del vincitore.

Nella variante di *GWR* da noi definita, invece, un arco viene cancellato se per un periodo suffi-

²⁸ Che a sua volta regola la cancellazione dei nodi, non potendoci essere un nodo che non sia estremità di alcun arco.

cientemente grande (in termini di numero di iterazioni, cioè di numero di singoli segnali emessi), proporzionale al numero di archi²⁹, non si trova mai ad essere l'arco di collegamento tra i due nodi più vicini al segnale organizzante.

In sostanza l'effetto di questa variazione nell'algoritmo è che la rete non si stabilizza, bensì raggiunge un punto di equilibrio dinamico con continua creazione e scomparsa di archi e nodi, tale per cui i segnali "coperti" dai nodi sono solo quelli sufficientemente frequenti; questo serve ad escludere dalla rete di riconoscimento quelle regioni che corrispondono sì a zone in cui i nodi della rete di codifica sono eccitati, ma in cui l'eccitazione è scarsa e solo saltuariamente raggiunge la soglia di emissione del segnale. A livello di rappresentazione degli elementi caratteristici non interessa, come nel caso della codifica, che la rete rifletta fondamentalmente la distribuzione del segnale nello spazio, è invece molto più rilevante anche l'aspetto della distribuzione del segnale nel tempo, giacché si intendono cogliere, con le reti di secondo livello, i tratti salienti di un processo dinamico come è quello dell'eccitazione dei nodi del primo livello.

3.7 La mappa analitica

3.7.1 Le risposte di riconoscimento

Per ogni nodo n della rete di codifica si definisce il valore $r_i(n)$ di risposta della i -esima rete di rappresentazione nei confronti di quel nodo. Vale

$$r_i(n) = \sum_{x \in R_i} d_{i,n}(x) = \frac{1}{\rho_{i,n}^2} \sum_{x \in R_i} \begin{cases} 1, 1 - 0,1 \frac{\delta_{XY}^2(n, x)}{\rho_{i,n}^2} & \Leftarrow \delta_{XY}(n, x) \leq \rho_{i,n} \\ 0 & \Leftarrow \delta_{XY}(n, x) > \rho_{i,n} \end{cases}$$

dove R_i è l'insieme di tutti i nodi della i -esima rete di rappresentazione mentre $\rho_{i,n}$ è il raggio di un intorno circolare definito per ogni nodo ed ogni tipo; solo i nodi di rappresentazione contenuti in tale intorno contribuiscono alla definizione del valore della risposta relativa a quel tipo, e contribuiscono maggiormente quanto più forte è l'addensamento degli stessi verso il centro dell'intorno³⁰.

Se nella formula mancasse il correttivo $- 0,1 \left(\delta_{XY}^2(n, x) / \rho_{i,n}^2 \right)$, la risposta $r_i(n)$ sarebbe semplicemente una misura della densità superficiale dei nodi nell'intorno. Il fattore normalizzante $1 / \rho_{i,n}^2$

²⁹ La costante di proporzionalità vale 10 ma è nello strumento sviluppato è un parametro regolabile dall'interfaccia grafica.

³⁰ Posizioni, intorni, distanze vanno tutte intese, in questo contesto, rispetto alla proiezioni delle reti sul piano XY.

è infatti inversamente proporzionale all'area della superficie dell'intorno considerato. Il correttivo rafforza leggermente le risposte quando i nodi sono vicini al centro dell'intorno³¹.

Gli intorni $\rho_{i,n}$ variano da nodo a nodo proporzionalmente alla lunghezza massima (della proiezione sul piano XY) degli archi della *star* di ciascun nodo; in questo modo la valutazione dell'intorno viene fatta su una regione più ristretta là dove la rete è maggiormente fitta. Il fattore di proporzionalità dipende anche dal tipo ma a questo proposito ciò che è significativo è che esso è molto più grande per *Lake*, un tipo che vuole essere utilizzato come indicatori della presenza di oggetti (le metastasi o forti istiocitosi) che nell'immagine istologica formano masse con un'ampia estensione superficiale; in questo modo la valutazione della densità dei nodi di rappresentazione verrà correttamente fatta su un'area più ampia.

tipo	ampiezza relativa di ρ
<i>Land</i>	1
<i>Plateau</i>	2
<i>Cliff</i>	1
<i>Shore</i>	1
<i>Lake</i>	3
<i>Sink</i>	0,5
<i>Canyon</i>	1
<i>Valley</i>	1

3.7.2 Deduzione della classificazione di un nodo dalle risposte di riconoscimento

L'insieme delle 8 risposte dev'essere opportunamente elaborato per essere utilizzato per la classificazione dei nodi della rete di codifica.

Facilmente i nodi che manifestano affinità verso un particolare tipo astratto lo manifestano anche verso un altro tipo più generico, ma non viceversa; questo si verifica per esempio coi nodi affini a *Plateau* che sono quasi sempre affini anche a *Land*. In primo luogo l'elaborazione ha perciò lo scopo di risolvere ambiguità tra coppie di possibili classificazioni in cui una delle classificazioni possibili sia in un certo senso più specifica dell'altra. Per far questo, si confrontano in sequenza alcune coppie di risposte:

³¹ Ha fondamentalmente la funzione di *tie breaker* visto che le risposte rappresentano la competizione fra varie possibili classificazioni del nodo.

ordine	tipo più specifico	tipo più generico
1	Shore	Valley
2	Shore	Lake
3	Shore	Canyon
4	Shore	Sink
5	Canyon	Lake
6	Canyon	Valley
7	Canyon	Sink
8	Canyon	Cliff
9	Plateau	Land
10	Cliff	Valley
11	Cliff	Lake

Per ognuno di questi confronti, se la risposta più specifica è pari almeno ad una certa frazione (il 20%) della risposta più generica, ne “prende il posto”, ossia la risposta più generica viene posta uguale a 0 mentre quella più specifica, se era minore di quella più generica, viene alzata al livello di quest’ultima.

Al termine di questa rielaborazione, le risposte così modificate entrano in “competizione”: il valore massimo nella settupla determina l’assegnazione del nodo ad una classe secondo la tabella mostrata in 2.4.1.

Nella generazione della mappa analitica, ai pixel più vicini ad un nodo della rete di codifica piuttosto che a qualsiasi altro verrà dato il colore corrispondente alla classe ontologica che è stata attribuita a quel nodo. Fanno eccezione quei pixel “scartati” dal processo di segmentazione come non appartenenti a nessuno dei due insiemi *fuzzy*, che saranno colorati di nero ed assegnati alla classe *AdipocyteOrExtra*.

Nelle zone prossime al bordo, va rimarcata l’inaffidabilità della colorazione della mappa dovuta alla scarsa presenza di nodi che rende la classificazione dipendente da valori di risposta sempre estremamente bassi e scarsamente significativi. Il problema non è serio perché per risolverlo è sufficiente acquisire un’altra immagine meglio centrata sulla zona che si desidera indagare.

3.8 L'ontologia della macchina

Questo lavoro ci ha portato a definire un'ontologia che rappresenta in maniera formalizzata le categorie interne del sistema di analisi automatica sviluppato. La definizione di questa ontologia si è rivelata cruciale in quanto ci ha fornito le idee-guida di tutto il processo di estrazione degli elementi caratteristici della codifica e poi di costruzione della mappa di classificazione dell'immagine istologica.

Questa ontologia, *ontologia della macchina* in opposizione all'*ontologia dell'esperto umano*, è strutturata secondo due classi principali disgiunte:

- La classe *VisualLandscape* contiene tutte quelle classi che rappresentano i tipi astratti di *star* che la macchina sa individuare nella rete di codifica. Queste classi costituiscono una rappresentazione interna della macchina utilizzata nella fase di analisi.
- La classe *HistologicalAnalysis* contiene tutte quelle classi utilizzate dalla macchina nella fase di sintesi (i “colori”). Queste classi vengono utilizzate nella “comunicazione” all'utente umano dei risultati dell'analisi, cioè nella visualizzazione della mappa analitica. Queste classi descrivono una “concettualizzazione” della struttura interna del linfonodo che si avvicina maggiormente a quella degli anatomopatologi.

Pensiamo che tale distinzione non sia puramente tecnica, ma abbia un significato più profondo. Le caratteristiche del *landscape* (panorama) 2.5D sono individuabili anche da parte di un essere umano non competente in anatomia patologica, sulla base delle normali capacità visuali elementari (riconoscimento di forme, direzionalità, regolarità ecc.). La capacità di categorizzazione che serve all'analisi istologica si acquisisce invece con l'addestramento, è una capacità posseduta dagli anatomopatologi sulla base della loro specifica esperienza su quel dominio.

Siamo spinti a ritenere che questo “doppio livello” sia necessario perché riflette una dicotomia reale dei processi visuali (rappresentazione più “intuitiva” ed elementare, puramente ad uso interno *versus* rappresentazione appresa e più “precisa”, utilizzabile anche per la comunicazione). Questo ci ricorda la distinzione operata in [Harnad 1987] tra **rappresentazioni categoriali** e **rappresentazioni simboliche**:

- Le rappresentazioni categoriali (di più basso livello, probabilmente innate) permettono l'identificazione di oggetti tramite la formazione di categorie.
- Le rappresentazioni simboliche (di alto livello, apprese), basate sulla combinazione dei nomi (simboli) delle categorie, hanno una forma che permette il loro utilizzo in manipolazioni di tipo logico-sintattico.

Harnad parla anche di un livello di **rappresentazione iconica**, la più vicina, nell'architettura del sistema della visione, al livello della percezione, di cui rappresenta una semplice “trasformazione mentale” di tipo “analogico”. Applicando queste idee al contesto di cui ci stiamo occupando, se le rappresentazioni categoriali della macchina sono quelle fondate sulle sottoclassi di *VisualLandscape* (le reti di rappresentazione) e se le rappresentazioni simboliche sono quelle fondate sulle sottoclassi di *HistologicalAnalysis* (la mappa analitica), il livello della rappresentazione iconica non sarebbe altro che la rete di codifica.

3.8.1 La classe VisualLandscape

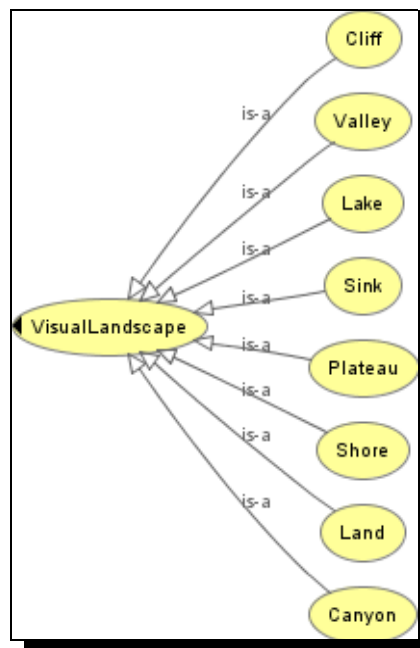


Fig. 71 – La classe *VisualLandscape* e le sue sottoclassi.

La classe *VisualLandscape* ha come sottoclassi *Land*, *Plateau*, *Cliff*, *Shore*, *Lake*, *Sink*, *Canyon* e *Valley*, le cui caratteristiche sono state descritte in 3.5.3.

3.8.2 La classe *HistologicalAnalysis*

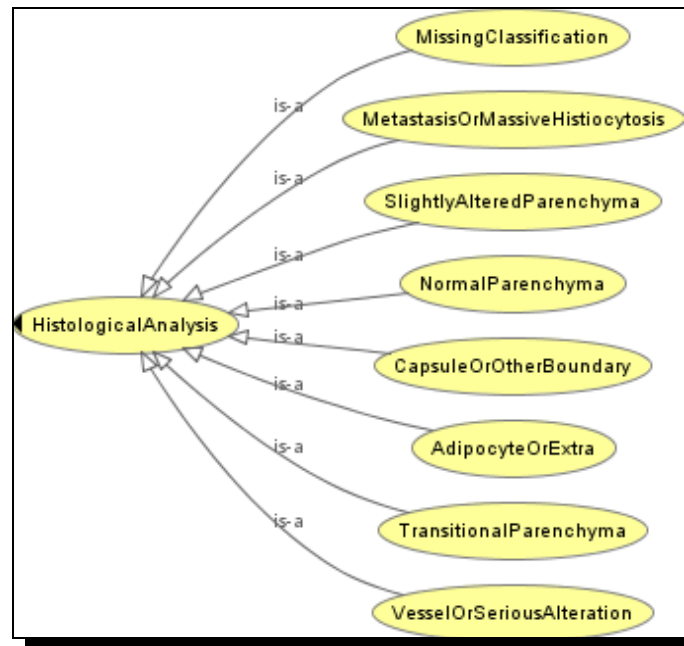


Fig. 72 – La classe *HistologicalAnalysis* e le sue sottoclassi.

La classe *HistologicalAnalysis* ha come sottoclassi *NormalParenchyma*, *SlightlyAlteredParenchyma*, *TransitionalParenchyma*, *CapsuleOrOtherBoundary*, *MetastasisOrMassiveHistiocytosis*, *VesselOrSeriousAlteration*, *AdipocyteOrExtra*, *MissingClassification*.

La classe *NormalParenchyma* rappresenta una parte di parenchima completamente priva di alterazioni. Nella mappa analitica è indicata col colore **blu scuro**.

La classe *SlightlyAlteredParenchyma* rappresenta una parte del parenchima con una leggera presenza di istiociti. Questa classe è utile soprattutto in contrasto con *NormalParenchyma*, per l'individuazione di istiocitosi. Nella mappa analitica è indicata col colore **blu chiaro**.

La classe *TransitionalParenchyma* rappresenta regioni “di confine” nel parenchima, per esempio i seni marginali (al confine con la capsula) o aree che circondano vasi; sono talvolta i punti di più difficile interpretazione, nei quali tuttavia si esclude che si trovino metastasi. Nella mappa analitica è indicata col colore **grigio**.

La classe *CapsuleOrOtherBoundary* rappresenta in genere la capsula del linfonodo; nel nome della classe si fa riferimento ad un'altra possibile interpretazione: talvolta questa classe viene applicata alle zone confinanti con gli adipociti.³² Nella mappa analitica è indicata col colore **rosa salmone**.

³² Questo in realtà è un limite del sistema, che è stato discusso in 2.4.2.4, ma l'ontologia deve descrivere quello che la macchina effettivamente fa.

Per la classe *MetastasisOrMassiveHistiocytosis* vale un discorso simile. Talvolta in questa classe, che vorremmo selettiva verso le sole metastasi, ricadono istiocitosi particolarmente importanti e con una morfologia che anche per occhi umani inesperti può confondersi con quella delle metastasi. Va detto che, sebbene in gran parte dei casi l'anatomopatologo, anche all'ingrandimento utilizzato in questo lavoro (e quindi fondamentalmente attenendosi ad informazioni di tipo istologico), sia in grado di distinguere un'istiocitosi da una metastasi, esistono situazioni in cui per avere una maggiore sicurezza nel giudizio si ricorre al livello citologico; non stupisce pertanto che per un sistema di analisi istologica si debba ricorrere ad una classe ibrida. Nella mappa analitica è indicata col colore **rosso**.

La classe *VesselOrSeriousAlteration* rappresenta vasi e altre strutture con una forte presenza di collagene, oltre che alcune forme di istiocitosi con una colorazione di eosina superiore a quella tipica delle metastasi. È una classe dal significato piuttosto ampio che ha il ruolo fondamentale di definire meglio, per differenza, la classe delle metastasi. Nella mappa analitica è indicata col colore **verde oliva**.

La classe *AdipocyteOrExtra* non fa veramente parte del processo di costruzione della mappa analitica a partire dalle reti autorganizzanti.³³ È una classe che ha senso solo al livello dei pixel della mappa di codifica: ad essa appartengono quelle regioni dell'immagine che non hanno un'attribuzione di valore *z* perché rappresentano punti non colorati; si riferisce dunque ad adipociti e ad altri "vuoti" del preparato istologico (incluso lo spazio all'esterno della capsula). Nella mappa analitica è indicata col colore **nero**.

La classe *MissingClassification* rappresenta aree dell'immagine che non hanno ricevuto alcuna altra classificazione; questa circostanza si verifica però molto di rado. Nella mappa analitica è indicata col colore **bianco**.

³³ Forse la mancanza di una rappresentazione di questa classe all'interno del sistema adattativo (rete di codifica, reti di rappresentazione) è la causa di alcuni suoi difetti.

4 *LayeredHistologicalTool*

L'implementazione in uno strumento software del modello sin qui descritto è un aspetto centrale del presente lavoro. L'applicazione è stata sviluppata in linguaggio Java³⁴ e rappresenta una nuova versione, radicalmente modificata, di *HistologicalTool* sviluppato nel contesto di [Sacchetti 2005] e lì ampiamente documentato.



Fig. 73 – Dettaglio dell'applicazione *LayeredHistologicalTool*.

L'applicazione presenta i 4 passi del sistema visuale come 4 schermate che posso essere selezionate con un'interfaccia a schede:

1. Passo di *clustering*, nel quale si realizza la segmentazione *fuzzy*.
2. Passo di *encoding*, nel quale viene costruita la mappa di rilevanza e viene organizzata la rete di codifica.
3. Passo di *representation*, dove vengono costruite e memorizzate le reti di rappresentazione.
4. Passo di *synthesis*, dove vengono mostrate le reti costruite e la corrispondente mappa analitica.

³⁴ Java è un marchio registrato della *Sun Microsystems, Inc.*

4.1 Il passo di segmentazione

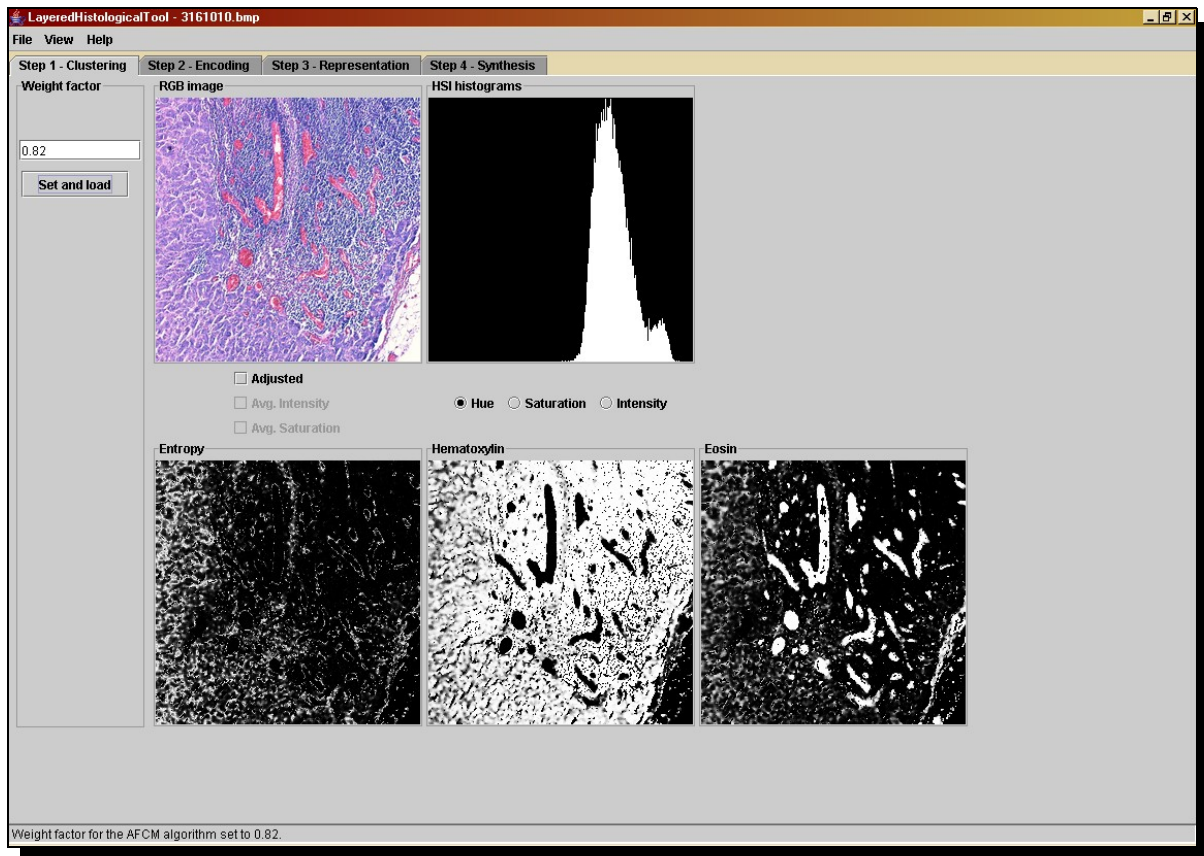


Fig. 74 – Passo di segmentazione di *LayeredHistologicalTool*.

Nel passo di segmentazione troviamo in primo luogo la visualizzazione dell'immagine istologica (caricata attraverso il comando *File ► Open*), cui possono applicarsi vari filtri attraverso le *checkbox* sottostanti. A fianco è presente uno dei tre istogrammi (selezionabili attraverso i bottoni sottostanti) della distribuzione dei valori di tinta, di saturazione o di intensità dei pixel dell'immagine.

Il pulsante *Set and load* esegue la segmentazione *fuzzy*, col parametro peso prescelto. Se l'immagine caricata è già stata segmentata in precedenza, l'applicazione ha conservato le mappe di *clustering* che in tal caso si limita a caricare da file.

Quando un'immagine è stata segmentata, nella parte inferiore della finestra sono mostrate le mappe dell'entropia e dei due segmenti *fuzzy*.

4.2 Il passo di codifica

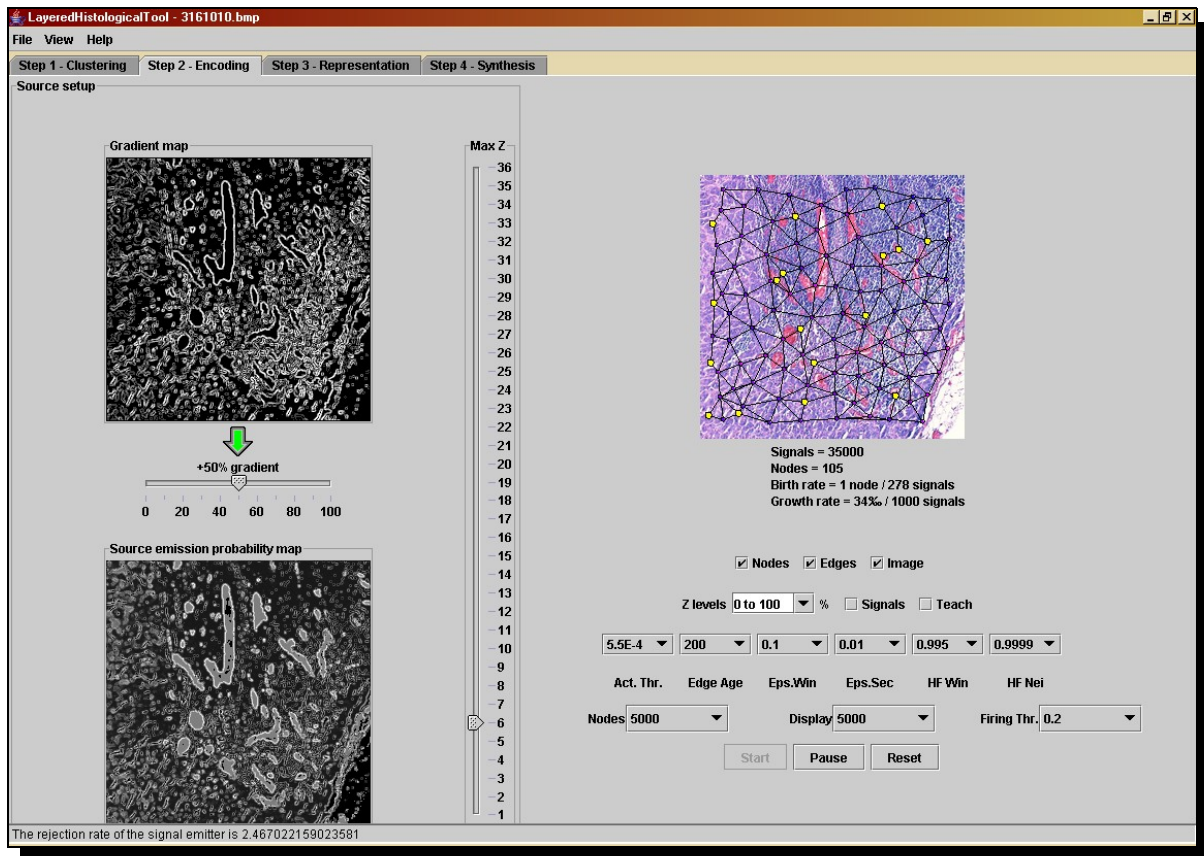


Fig. 75 – Passo di codifica di *LayeredHistologicalTool*.

Nel passo di codifica sul lato sinistro della finestra si trova un'interfaccia che permette di modificare il peso del componente gradiente nella costruzione della mappa di rilevanza. La figura in basso a sinistra è la mappa di rilevanza risultante (cliccandovi sopra, è possibile conoscere il *rejection rate* della sorgente del segnale).

Il controllo al centro della finestra permette la regolazione del livello massimo di z , che in questo lavoro è sempre stato tenuto a 6.

Sulla destra della finestra abbiamo il *controller* e il visualizzatore della LGWR (rete di codifica). I parametri dell'algoritmo sono tutti configurabili. Sono possibili diverse modalità base di visualizzazione della rete (solo nodi, nodi ed archi, solo archi, con o senza immagine sullo sfondo, con o senza raffigurazione del segnale organizzante ecc.); il controllo *Z levels* permette di effettuare dei “tagli” rispetto ad un intervallo di valori z nella visualizzazione della rete; cliccando sull'immagine della rete è inoltre possibile ruotare tra sistemi di colorazione che evidenziano varie caratteristiche delle *star*.

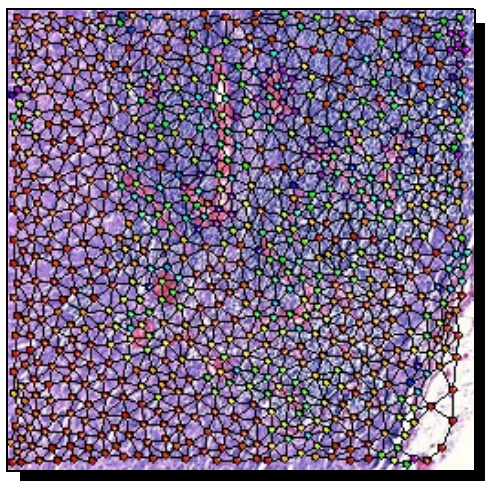


Fig. 76 – Visualizzazione alternativa della LGWR in cui il colore dei nodi rappresenta il valore di varianza delle pendenze degli archi della *star* (dal rosso, bassa varianza, al violetto, alta varianza).

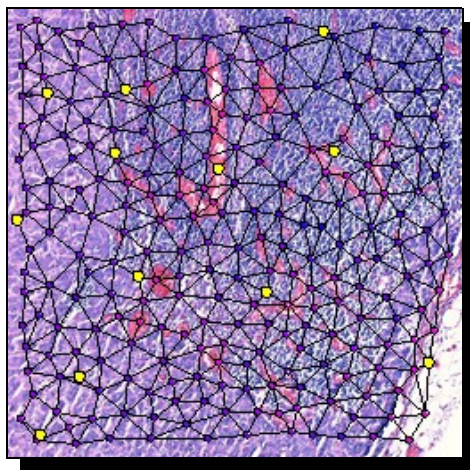


Fig. 77 – Visualizzazione standard della LGWR. Il colore dei nodi rappresenta la quota z . I nodi gialli sono quelli creati di recente.

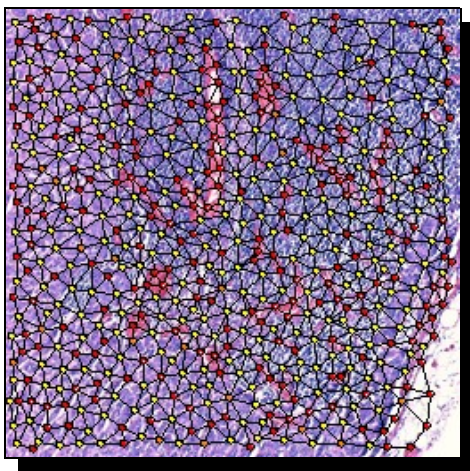


Fig. 78 – Visualizzazione alternativa della LGWR in cui il colore dei nodi rappresenta il valore di media delle pendenze degli archi della *star* (giallo negativo, rosso positivo, arancione vicino allo zero).

4.3 Il passo di rappresentazione

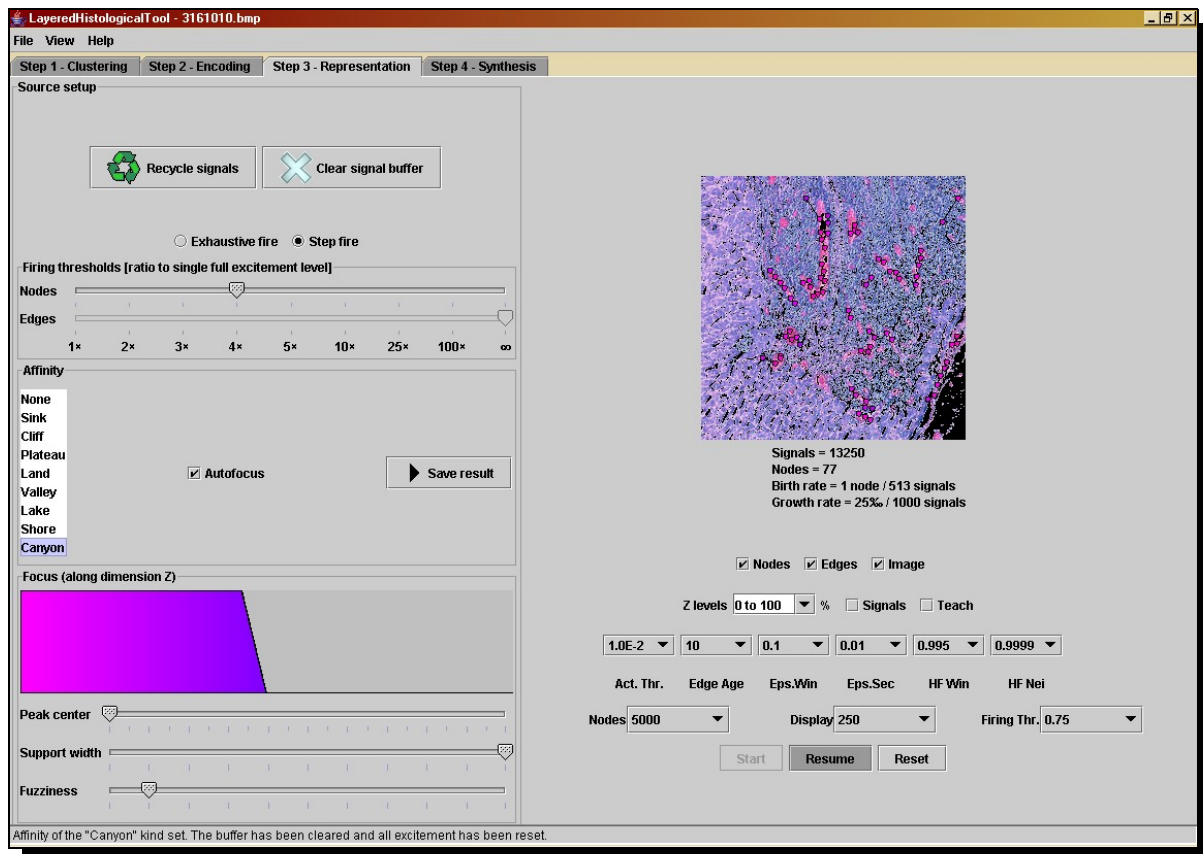


Fig. 79 – Passo di rappresentazione di *LayeredHistologicalTool*.

Questo software emula il processo di eccitazione simultanea rispetto agli 8 tipi astratti di *star*, che a livello teorico è stato descritto come in parallelo, costruendo una alla volta tutte le 8 reti di rappresentazione; essendo gli 8 processi eccitativi indipendenti, ciò non dovrebbe avere seri effetti sui risultati.

Nel passo di rappresentazione, sul lato sinistro della finestra si trovano vari controlli che permettono di regolare alcuni aspetti del processo di eccitazione (soglia di emissione, eccitazione ceduta al momento dell'emissione del segnale, forma della funzione *focus* ecc.) e del *buffering* del segnale in uscita dalla rete di codifica. La lista dei tipi di affinità permette all'utente di selezionare un tipo di eccitazione e quindi di costruire la corrispondente rete di codifica; esistenza un sistema di "autofocus" che regola la forma della funzione *focus* secondo quanto descritto nel modello, tuttavia

il sistema può essere disattivato (mediante la relativa *checkbox*) lasciando all'utente la possibilità di definire *on the fly* nuove funzioni *focus*.

Sul lato destro della finestra vi è l'area di visualizzazione della GWR di rappresentazione (relativa al tipo corrente), molto simile a quella della LGWR. Premendo il tasto *Save result* è possibile memorizzare la configurazione attuale della rete di rappresentazione. In questo modo, organizzando una rete alla volta e salvando i risultati, si può arrivare alla completa definizione dell'insieme di 8 reti di rappresentazione necessario nella fase di sintesi.

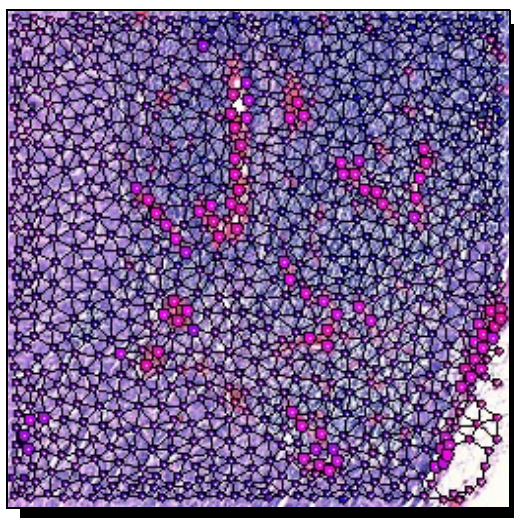


Fig. 80 – Visualizzazione dell'eccitazione sulla rete di codifica. Dopo aver selezionato nel passo di rappresentazione un tipo di affinità, se si ritorna alla scheda precedente (passo di codifica) la visualizzazione della LGWR mostrerà in evidenza come cerchi più grandi quei nodi con valore di eccitazione diverso da zero.

4.4 Il passo di sintesi

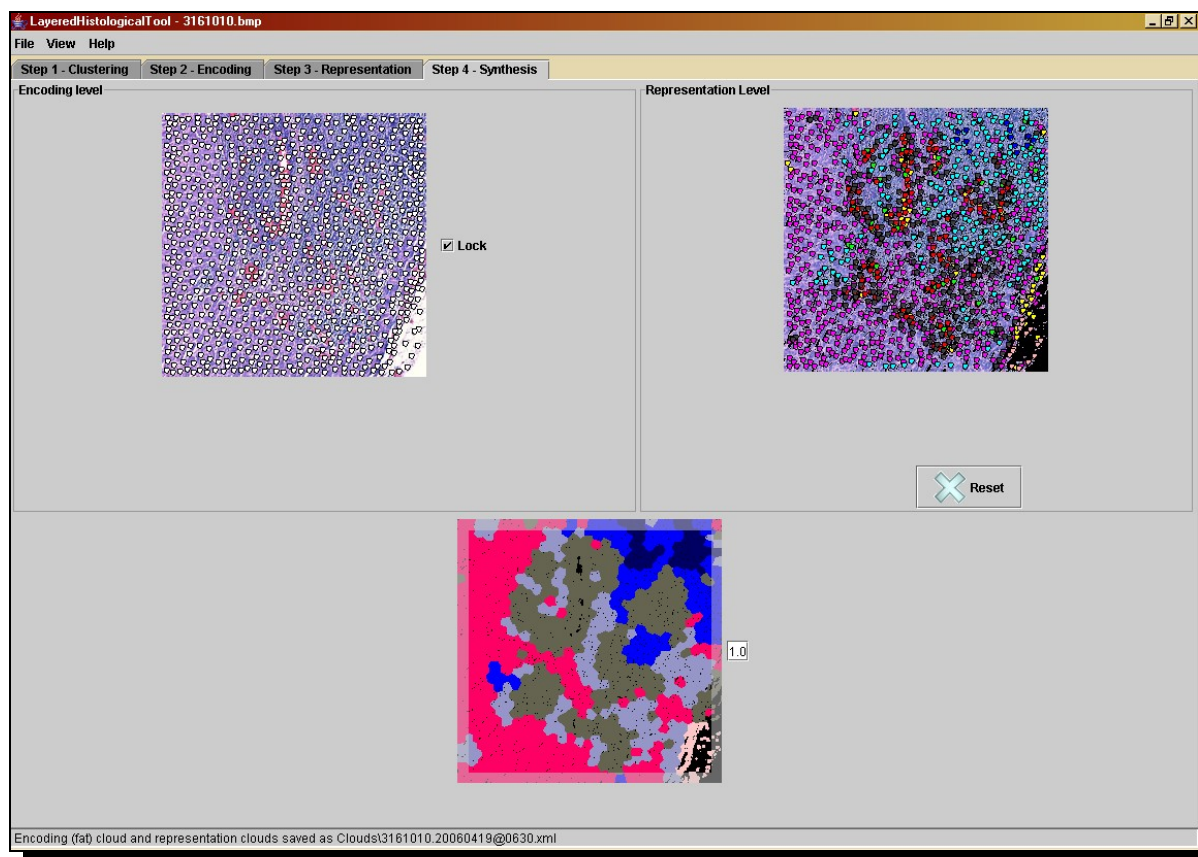


Fig. 81 – Passo di sintesi di *LayeredHistologicalTool*.

Nel passo di sintesi, nella parte superiore della scheda si trova una visualizzazione compatta dei risultati dell’elaborazione in fase di analisi: sulla sinistra le posizioni dei nodi della rete di codifica (posizioni che possono essere “congelate”, mediante la *checkbox* etichettata con *Lock*, per lo svolgimento di test sulla costruzione della mappa analitica senza modificare la suddivisione dell’immagine in celle di Voronoi), sulla destra le posizioni dei nodi delle 8 reti di rappresentazione (a ciascuna rete è assegnato un colore).

Nella parte inferiore della finestra è collocata la mappa analitica costruita sulla base delle reti di codifica e di rappresentazione.

4.5 Funzioni aggiuntive

Dal menu *File* è possibile accedere a tre funzioni aggiuntive:

- Il salvataggio in un documento XML delle informazioni necessarie alla costruzione della

mappa analitica, cioè le posizioni dei nodi della rete di codifica e delle reti di rappresentazione.

- Il recupero delle ultime informazioni salvate su file XML per l'immagine corrente, per permettere una veloce ricostruzione della mappa di codifica.

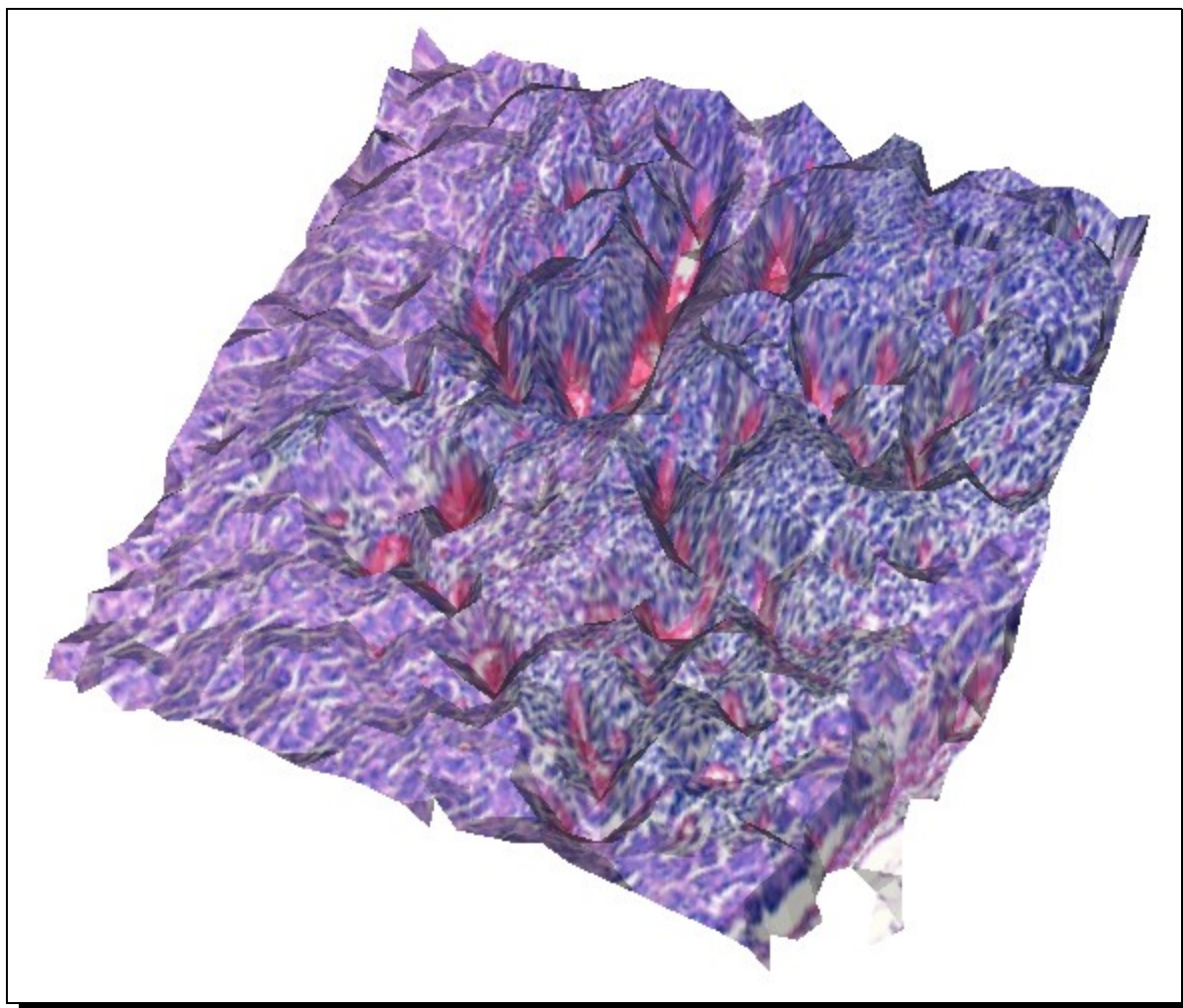


Fig. 82 – Visualizzazione 3D ottenuta a partire dall'esportazione della rete di codifica in formato OFF.

- L'esportazione della rete di codifica, opportunamente triangolata, in formato OFF per visualizzazioni tridimensionali.

Altre funzioni sono disponibili nel menu *View*:

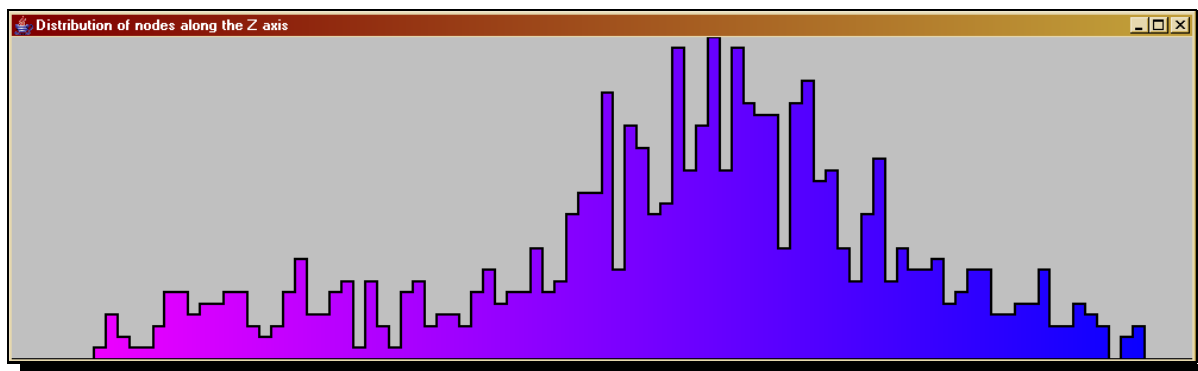


Fig. 83 – Finestra visualizzata col comando *View ► Show nodes distribution*

- La visualizzazione in forma di istogramma della distribuzione dei nodi lungo l'asse Z.

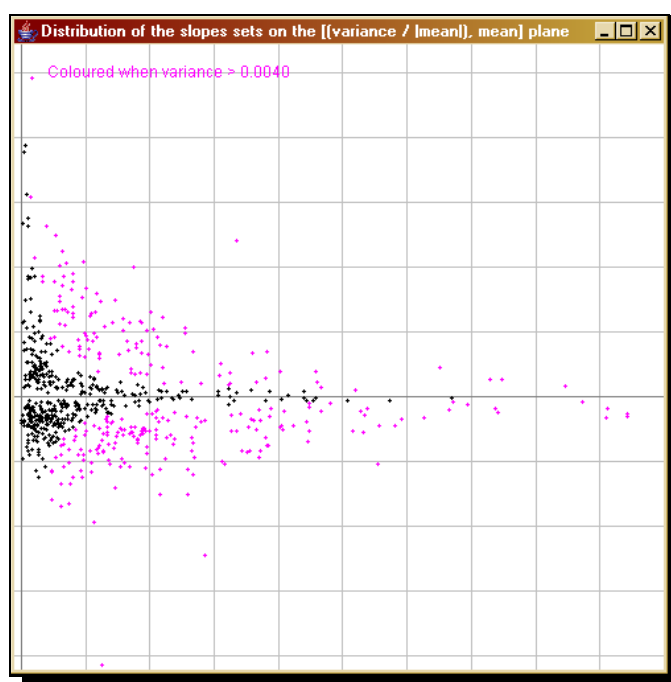


Fig. 84 – Finestra visualizzata col comando *View ► Show slopes distribution*

- La visualizzazione in forma di diagramma 2D della distribuzione dei valori di media e varianza delle pendenze degli archi delle *star*.
- Il calcolo del “punto di flesso” della rete di codifica, cioè del livello *z* sopra il quale iniziano a prevalere le *star* con pendenze degli archi negative (cfr. nota 21 a pag. 75).

5 Conclusioni

Questo studio si poneva l'obiettivo dell'analisi automatica di immagini istologiche di una particolare classe. Non si intendeva effettuare una diagnosi bensì esplicitare il contenuto informativo rilevante presente nelle immagini e quindi facilitare le diagnosi (umane od automatiche).

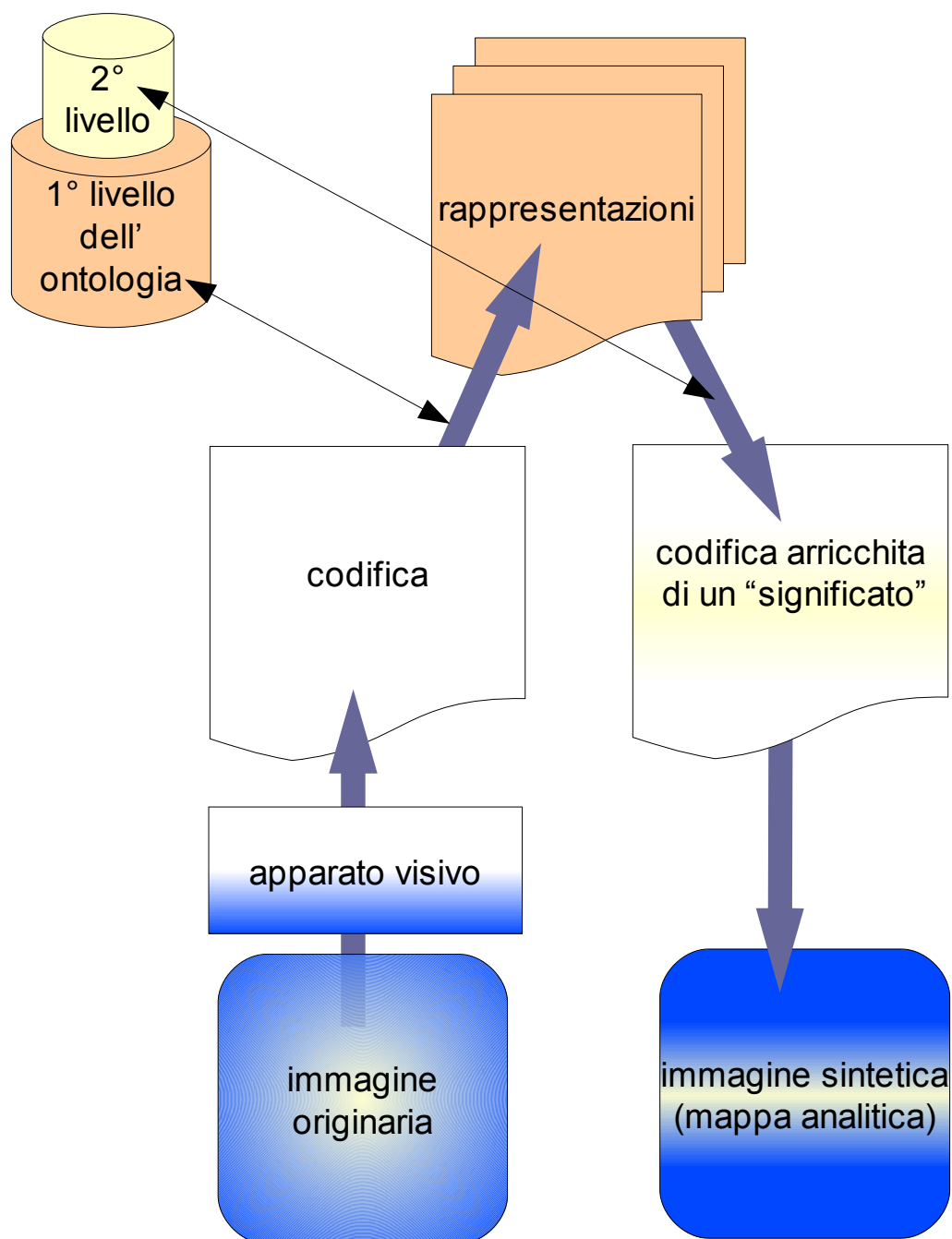
In questa prospettiva, il risultato significativo è una prima definizione di un metodo per costruire attraverso modalità distribuite una rappresentazione categoriale e simbolica, interna ed esplicita, della macchina.

Buona parte di questo lavoro è fortemente specifico rispetto al dominio del problema: lo sono i criteri della segmentazione, fondati sulle caratteristiche particolari della colorazione ematossilina-eosina; lo sono alcuni dettagli della codifica; lo è tutto ciò che si trova descritto nell'ontologia della macchina (tipi di *feature* geometrico-morfologiche da estrarre e classi ontologiche di riferimento in fase di sintesi).

Facendo tuttavia astrazione da questi aspetti, si può immaginare la caratterizzazione di una macchina generica, di cui questa sarebbe una realizzazione particolare, in questi termini:

- Un'ontologia umana di riferimento che descriva in modo sufficientemente preciso il dominio del problema.
- Un "apparato visivo" (qui, la segmentazione) dedicato al compito fondamentale dell'elaborazione iniziale dell'immagine a partire da quelle informazioni subito presenti al livello percettivo (informazioni di tipo cromatico e di vicinanza tra pixel).
- Un sistema a calcolo distribuito e stocastico che si occupa di codificare in forma adattativa le informazioni trasmesse in forma di segnali dall'apparato visivo.
- Un'ontologia della macchina suddivisa in due livelli (ma si potrebbe pensare ad una più complessa gerarchia di livelli): un primo livello che classifica gli elementi salienti della codifica e un secondo livello che tenta di darne una prima interpretazione avvicinandosi alle classi dell'ontologia umana.
- Il conferimento di un comportamento attivo ai componenti di base della struttura di codifica, che permetta loro (sempre in forma stocastica e distribuita) di "riconoscersi" come facenti parte degli elementi salienti della codifica descritti dal primo livello dell'ontologia della macchina.

- Una rappresentazione degli elementi salienti della codifica “reificata” sotto forma di una pluralità di altre strutture adattative.
- Una funzione di sintesi che rimetta in rapporto il livello di rappresentazione col livello di codifica, attribuendo un “significato” ai componenti della codifica sulla base del secondo livello dell’ontologia della macchina.
- Un sistema di visualizzazione che riproduca l’informazione di “significato” (nel senso di classificazione secondo il livello più alto dell’ontologia della macchina) in un formato comprensibile per l’uomo, possibilmente un’immagine sintetica analoga a quella di partenza.



Da questo punto di vista metodologico, le due ontologie (dell'esperto umano e della macchina) hanno davvero un ruolo centrale, anche nel descrivere quanta parte delle capacità visuali richieste dal dominio del problema si è riusciti a conferire alla macchina. Tornando al nostro caso specifico, la distanza tra la ricchezza e la complessità dell'ontologia dell'anatomopatologo e la relativa semplicità dell'ontologia della macchina sviluppata ci danno una misura delle difficoltà ancora da affrontare.

Riteniamo, per esempio, che non sia casuale se proprio un punto di sofferenza dell'ontologia della macchina (la classe *AdipocyteOrExtra*) si sia rivelato un potenziale ostacolo alla creazione di buone mappe analitiche, anche se solo in quei casi in cui la capacità di “vedere” quella classe di oggetti (gli adipociti) è cruciale per una corretta interpretazione dell'immagine istologica.

A parte questo problema, tuttavia, le mappe analitiche prodotte in questo studio ci sembrano incoraggianti. Sarebbe però necessario un accertamento sistematico dei risultati su un campione ampio, in mancanza del quale è difficile dare una valutazione oggettiva sulla bontà del sistema.

Ad ogni modo, se il metodo seguito ha una sua validità, non pare difficile che sviluppi futuri di questo lavoro, rimanendo in questo paradigma (ed approfondendo dunque il processo di mediazione tra ontologie che ne è alla base), possano estendere le capacità di rappresentazione della macchina, avvicinando ulteriormente la sua ontologia a quella umana.

Inoltre, sarebbe auspicabile in lavori futuri l'integrazione in questo sistema della capacità di esplorazione di un intero vetrino, percorrendo il linfonodo lungo la capsula (che viene riconosciuta automaticamente con buona precisione), e della possibilità di ingrandire dettagli acquisendo così informazioni di tipo citologico che possono rivelarsi decisive per risolvere ambiguità di classificazione.

6 Bibliografia

[Bertaiola 2004] S. Bertaiola: *Studio di un'ontologia nell'ambito della patologia polmonare come supporto per l'elaborazione di immagini istologiche*, tesi di laurea, Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi di Pavia, 2004

[Borsatti 2004] E. Borsatti: *Il linfonodo sentinella - principi e applicazioni*, Progetto Azalea, 2004
<http://www.azaleaweb.it/pub/fulltext/12534.pdf>

[Demir 2005] C. Demir, B. Yener: *Automated cancer diagnosis based on histopathological images: a systematic survey*, Department of Computer Science, Rensselaer Polytechnic Institute, 2005
<http://www.cs.rpi.edu/research/pdf/05-09.pdf>

[Fostini 2003] V. Fostini: *Adattamento neurale per l'analisi di immagini istologiche basato sulle mappe di energia*, tesi di laurea, Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi di Pavia, 2003

[Fritzke 1997] Bernd Fritzke: *Some competitive learning methods*, Ruhr-Universität Bochum, 1997
<http://www.neuroinformatik.ruhr-uni-bochum.de/ini/VDM/research/gsn/JavaPaper/t.html>

[Harnad 1987] S. Harnad: *Categorical perception: the groundwork of cognition*, Cambridge University Press, 1987

[Hoffman 1998] D. D. Hoffman: *Visual intelligence: how we create what we see*, Norton, 1998

[Kohonen 2001] T. Kohonen: *Self-Organizing Maps*, Springer Series in Information Sciences, Springer, 2001

[Liew 2005] A. W.-C. Liew, H. Yan, N.-F. Law: *Image segmentation based on adaptive cluster prototype estimation*, IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2005
http://www.cse.cuhk.edu.hk/~wcliew/my_papers_eCopies/ieeefs05.pdf

[Mapelli 2006] F. Mapelli: *Segmentazione di immagini istologiche tramite un algoritmo multi-image*, tesi di laurea in via di presentazione, Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi di Pavia, 2006

[Marsland 2002] S. Marsland, J. Shapiro, U. Nehmzow: *A self-organising network that grows when required*, Neural Networks, 2002 <http://cswww.essex.ac.uk/staff/udfn/ftp/gwr.pdf>

[Portinari 2003] G. Portinari: *Uno strumento integrato per l'analisi adattativa di immagini istologiche*, tesi di laurea, Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi di Pavia, 2003

[Sacchetti 2005] M. Sacchetti: *Un sistema adattativo dinamico per l'analisi di immagini istologiche*, tesi di laurea, Facoltà di Ingegneria, Università degli Studi di Pavia, 2005

[von Neumann 1951] J. von Neumann: *Various techniques used in connection with random digits*, Resources of the National Bureau of Standards - Applied Mathematics Series, 1951

