
**БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО МАТЕМАТИКА И ИНФОРМАТИКА**

Д 106

ЕКАТЕРИНА ДЕЧКОВА ДЕЧЕВА-АТАНАСОВА

**СИСТЕМА ЗА АНАЛИЗ И КЛАСИФИКАЦИЯ НА
ХРОМОЗОМИ С ИЗПОЛЗВАНЕ НА ЦИТОГЕНЕТИЧНИ
ЗНАНИЯ**

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователната и научна степен

“доктор”

Научен консултант:

Ст.н-с- I ст. д-р Валентин Томов Томов

София, 2001 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

Увод	3
Глава 1. Методи и средства за автоматизиране на анализа и класификацията на хромозоми.	6
1.1. Основни задачи на анализа и класификацията на хромозоми.....	6
1.2. Преглед на съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми.....	11
1.2.1. Предпроцесор.....	15
1.2.2. Анализатор.....	15
1.2.3. Класификатор.....	26
1.3. Използване на методи и средства на изкуствения интелект в съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми.....	28
1.3.1. Обработка на изображения на митози и на хромозоми, основана на знания.....	30
1.3.2. Класификация на хромозоми, основана на знания.....	34
Глава 2. Основна идея при построяването на система за анализ и класификация на хромозоми CAIS.	37
2.1. Обща схема на системата.....	38
2.2. Методи за предварителна обработка на митозно изображение.....	39
2.3. Методи за анализ на обектите в митозното изображение.....	42
2.4. Методи за класификация на хромозомите.....	48
2.4.1. Цитогенетични знания за класификацията на хромозоми.....	48
2.4.2. Методи за автоматична класификация на хромозоми.....	52
Глава 3. Използване на средствата на обектно-ориентираното програмиране при организиране на системата.....	57
3.1. Основни принципи на обектно-ориентираното програмиране.....	57
3.2. Описание на класовете обекти, с които работи системата CAIS.....	59
3.2.1. Класове за обработка, анализ и класификация на изображения.....	60
3.2.2. Класове за управление и за взаимодействие със системата.....	67
3.3. Взаимодействие между класовете.....	70
Глава 4. Реализация на експериментална система CAIS за анализ и класификация на хромозоми.....	72
4.1 Зареждане на изображение от файл.....	74
4.2 Предварителна обработка;.....	76
4.3 Изолиране на хромозомите в изображението.....	77
4.4 Извличане на признаци на хромозомите.....	79
4.5 Класификация.....	82
4.6 Запис на изображение във файл.....	87
Заклучение	88
Литература	91
Приложение	97

Увод.

През последните 30 години цитогенетичният анализ придоби особено голямо значение при анализирането на хромозомните аномалии, които предизвикват различни малформации и умствено изоставане, при откриването на хромозомни аномалии, свързани със злокачествени заболявания, както и при мониторинга на биологичния ефект от замърсяването на околната среда. Всичките тези три типа цитогенетичен анализ са скъпи и трудоемки, поради което е необходимо тяхното автоматизиране, за да се посрещнат повишените изисквания на съвременното. Автоматичният цитогенетичен анализ е мултидисциплинарна задача, която изисква усилия на специалисти от различни области: цитогенетика, биологична дозиметрия, медицина, информатика и изкуствен интелект, обработка на изображения и разпознаване на образи. От друга страна, през последното десетилетие е повишен интересът към изследванията на възможностите за прилагане на средства от изкуствения интелект при обработката и анализа на изображения, особено в областта на медицинските науки.

Цел на настоящата дисертация е да се изследват възможностите за автоматичен анализ и класификация на хромозоми и да се разработи съответна програмна система, като се използват някои методи и средства на изкуствения интелект. От тази цел произтичат следните задачи:

- да се изследват методите и средствата за автоматичен анализ и класификация на хромозоми, които се използват в съвременните системи, както и възможностите за прилагане на методите и средствата на изкуствения интелект при разработването на такива системи;
- да се разработи детайлизиран проект на система за анализ и класификация на хромозоми;

- да се избере подходящ начин за представяне на знанията при анализа и класификацията на хромозоми;
- да се разработят и реализират съответни методи за предварителна обработка на изображения, за анализ и за класификация на хромозоми;
- да се реализира и експериментира система за анализ и класификация на хромозоми.

Дисертацията има следната структура.

Глава 1 съдържа постановка на задачата и е направен обзор на методите и средствата за автоматизиране на анализа и класификацията на хромозоми. Разглежда се принципната структура на съвременните системи за автоматичен анализ и класификация на хромозоми и отделните им компоненти. Разгледани са и някои възможности за използване на методи от изкуствения интелект в такива системи.

Глава 2 излага основната идея при построяването на система за анализ и класификация на хромозоми CAIS. Разгледана е общата схема и функционирането на системата. Описват се използваните методи за предварителна обработка, анализ и класификация на хромозоми.

Глава 3 описва организацията на работата на системата CAIS, като се използват средства за обектно-ориентирано програмиране. Анализирани са обектно-ориентирания подход, неговите предимства, както и възможностите му за представяне и организиране на процедурен тип знания. Описани са класовете обекти, с които работи системата и механизма за осъществяване на взаимодействие между класовете и останалите части на системата.

Глава 4 съдържа описание на работата на експериментална система за анализ и класификация на хромозоми CAIS и са дадени някои резултати от експерименти

със системата.

В заключението са отразени постигнатите резултати и научните и приложни приноси на работата.

Приложението съдържа макети на използваните в програмната реализация класове и резултати от работата на системата.

Благодарности.

Приятно ми е да изразя своята благодарност към хората, които помогнаха да бъде осъществена настоящата работа.

На първо място особено благодаря, макар и посмъртно, на моя научен консултант ст.н.с. I ст. д-р Валентин Томов за цялостното и съществено ръководство, за неговите ценни съвети и постоянна подкрепа.

Изказвам своята благодарност на доц. д-р Мария Цанчева от катедра “Медицинска генетика” на Университетска болница “Царица Йоана” за нейното активно съдействие и изключително ползотворно сътрудничество по време на изследванията, дали основа на настоящата дисертация.

Благодаря и на всички колеги от секция “Изкуствен интелект” на Института по математика и информатика, както и от Института по информационни технологии при БАН, за ползотворните разговори и обсъждания на идеите, залегнали в дисертацията.

Глава 1. Методи и средства за автоматизиране на анализа и класификацията на хромозоми.

Традиционният хромозомен анализ е скъп, отнема много време, а понякога е и отегчителен. С увеличаването на възможностите за анализ посредством диференциално оцветяване на хромозомите се увеличи и броят на параметрите, които се изследват. Освен това, ежегодно се увеличава броят на хромозомните изследвания, тъй като те се извършват както с диагностична, така и с профилактична цел. Тези факти водят до увеличаване на трудоемкостта при изследването на хромозомите, поради което голям интерес представлява автоматизирането на този процес.

1.1 Основни задачи на анализа и класификацията на хромозоми.

Хромозомният анализ е мощно средство за изследване на наследствените заболявания на човека. Като пример могат да се посочат изследванията на някои ракови заболявания на кръвта, пренаталната диагностика на бременни, застрашени да родят умствено или физически увредено дете. Изследванията на генетичния ефект от замърсяването на околната среда с химически продукти и радиоактивни излъчвания, е също област на приложение на хромозомния анализ.

Хромозомите представляват клетъчни органоиди, които осъществяват предаването в потомството на видовете и индивидуалните особености на организмите. Те се характеризират с постоянен диплоиден брой и постоянна структура за всеки вид. Съвкупността от количествените и качествени признаци на хромозомите на даден вид се нарича **кариотип**. Нормалният човешки кариотип се състои от 46 хромозоми (открито от J. H. Tjio, A. Levan, Швеция, 1956 г., и J. L. Hamerton, Англия, 1956 г.), разделени на следните класове: 22

двойки автозоми и една двойка полови хромозоми (гонозоми). Хромозомите се състоят от дезоксирибонуклеинова киселина (ДНК). По време на метафазното деление на клетката ДНК се копира в дъщерните клетки. На специална стъпка от това деление, наречено **метафаза**, хромозомите се разделят на малки независими телца, като общото количество ДНК се удвоява. Това е най-подходящото време за анализ. Ако хромозомите се оцветят по специален начин, те стават видими.

Всяка хромозома представлява нишковидна структура от две еднакви взаимно завити нишки с еднакъв диаметър, наречени хроматиди. Хромозомата се състои от две успоредно лежащи хроматиди, съединени във видимо стеснение, наречено **центромер**. Той разделя хромозомата на две рамена - дълго и късо. В зависимост от положението на центромера се различават следните типове хромозоми [1,3,8,9]:

- **медианен (метацентричен)** - центромер в средата; двете рамена са равни;
- **субмедианен (субметацентричен)** - центромер по-близо до единия край;
- **субтерминален (ахроцентричен)** - центромер в единия край.

За установяване на различията между отделните хромозоми са въведени следните измервания и индекси [8]:

- **абсолютна дължина** на хромозома, изразена в микрони;
- **относителна дължина** на хромозома – отношение на дължината на хромозомата към общата дължина на хаплоидния набор хромозоми (22 автозоми + X-хромозомата);
- **центромерен индекс** - отношение на дължината на късото рамо към цялата дължина на хромозомата.

Въз основа на тези показатели хромозомите могат да се разделят на следните групи, известни като Денвърска класификация [1,3,8,9]:

група А - големи метацентрици; състои се от хромозомни двойки 1 - 3; това са най-големите хромозоми; двойки 1 и 3 са метацентрични, а двойка 2 - субметацентрични;

група В - големи субметацентрици; състои се от хромозомни двойки 4 и 5; тези хромозоми са големи, субметацентрични; двойка 4 са малко по-големи; трудно различими;

група С - средни метацентрици; съдържа хромозомни двойки 6 - 12 и X-хромозомата; хромозомите са средно големи, субметацентрични, трудно различими; двойки 6 и 7 са сходни с X-хромозомата; разделени са на три подгрупи: I - хромозоми 6, 7, X; II - хромозоми 8, 9; III - хромозоми 10, 11, 12;

група D - големи акроцентрици; тази група съдържа хромозомни двойки 13 -15; хромозомите имат средни размери и са почти акроцентрични; двойките 13 и 14 често, а 15 - по-рядко, имат на краищата на късите си рамена спътници;

група E - малки субметацентрици; съдържа хромозомни двойки 16 - 18; хромозомите от тази група са доста къси; двойка 16 са по-метацентрични, на края на едното рамо имат вторично прищъпване; двойки 17 и 18 са субметацентрични;

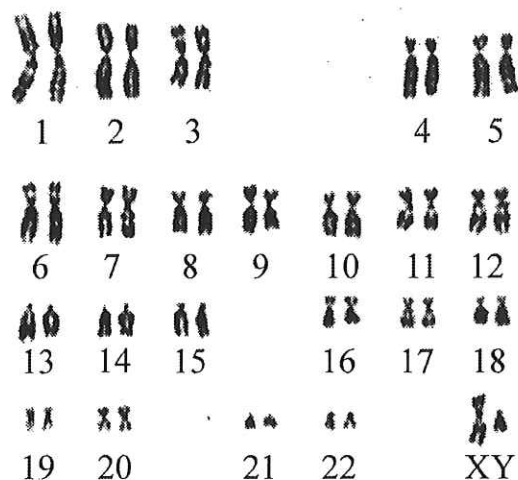
група F - малки метацентрици; състои се от хромозомни двойки 19 и 20; хромозомите са къси, почти метацентрични; почти неразличими помежду си;

група G - малки акроцентрици; включва хромозомни двойки 21, 22 и Y; тези хромозоми са много къси, акроцентрични; двойки 21 и 22 обикновено носят на късите си рамене добре изразени спътници; Y-хромозомата няма спътници, хроматидите на дългото рамо са по-сближени и успоредни, за нея е

характерно, че е най-дългата в групата и същевременно има най-малък центромерен индекс.



Фигура 1.1. Изображение на метафаза.



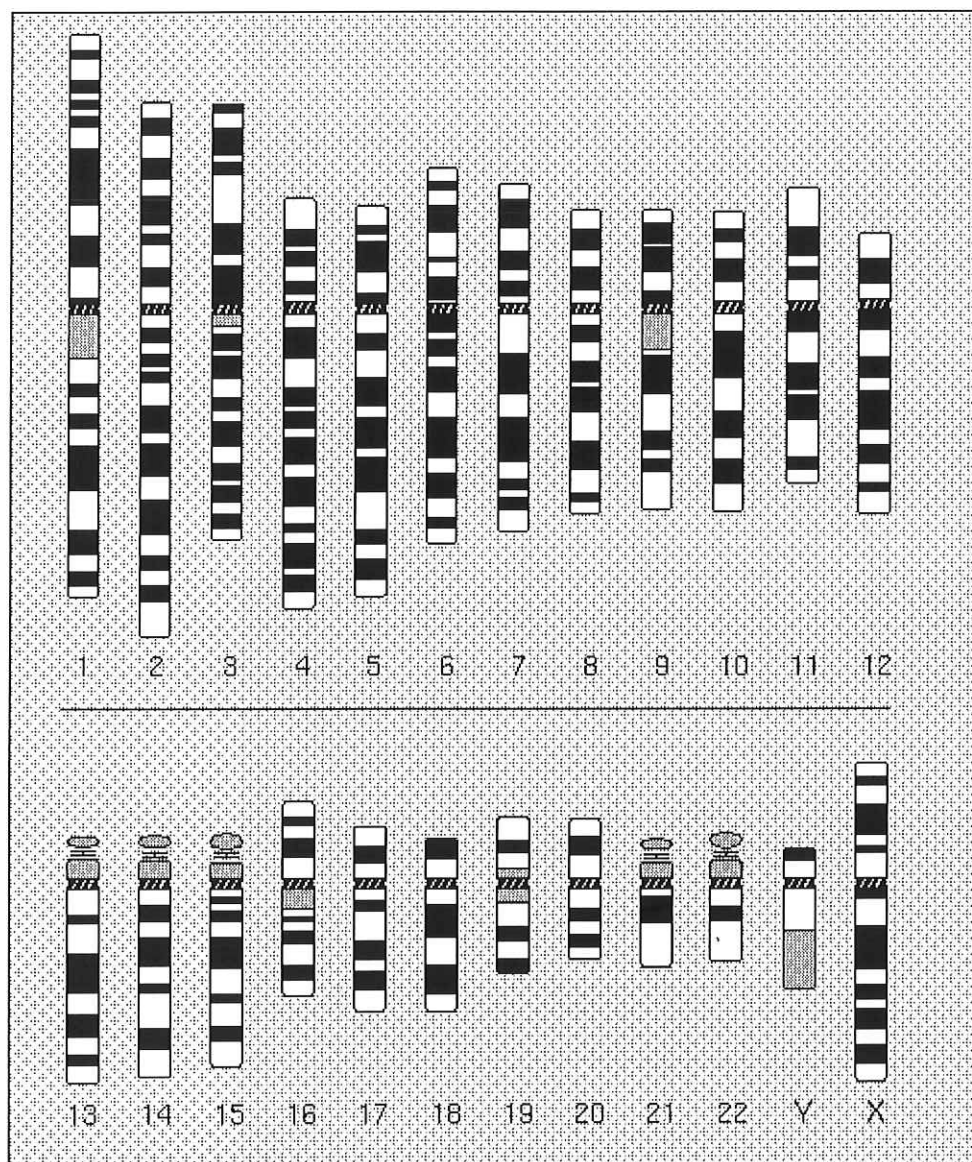
Фигура 1.2. Човешки кариотип.

Тази систематика е направена въз основа на международна номенклатура и систематизация, изработена на Международната конференция по изучаване на човешките хромозоми в Денвър (1960 г.), и допълнена на аналогични конференции в Лондон (1963 г.), Чикаго (1966 г.) и Париж (1971 г.) [1,3,8,9,58].

Размерът на хромозомата и позицията на центромера не са достатъчни за индивидуализирането на всяка хромозома. Ето защо се използват различни начини на диференциално оцветяване на хромозомите, чрез които се постига индивидуален рисунък на всяка хромозома.

Най-старата техника е оцветяването на цялата ДНК. В този случай хромозомите се оцветяват еднородно и могат да се различат само по размера и центромерните индекси. С друга техника, наречена оцветяване по метода на Geimza, ДНК се оцветява по по-специфичен начин, като в структурата на хромозомата се отделят някои основни групи, наречени ивици, които се отличават от останалата част на хромозомата. В този случай всеки хромозомен клас притежава определени характеристики на лентовия образец, които дават

възможност за класификация в 24-те хромозомни класа - двойки 1 - 22, X и Y. Използва се още оцветяване, специфично за структурата на хромозомите, например позицията на центромера, и флуоресцентно оцветяване [1,3,8,9,11]. На конференцията в Париж [1,3,8,9,58] е установена т.нар- **стандартна идиограма**, която представлява диаграма на характерните образци на ивиците в лентово оцветени хромозоми. Стандартната идиограма е показана на фиг. 1.3:



Фигура 1.3. Стандартна идиограма.

Аномалиите в броя и структурата на хромозомите водят до различни вродени патологии на човека. Такива са числовите и структурни мутации, като

липса или наличие на добавъчна хромозома, различни видове разкъсвания на хромозоми и др., а също и наличие на клетки с различен кариотип [1,3,8,9].

1.2. Преглед на съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми.

Един от първите опити за компютърно разпознаване на хромозоми е работата на Ledley [46,47] от началото на 60-те години. Неговият подход е доразвит от Lee и Fu [2,45]. Правени са и други опити да се автоматизират различни етапи на хромозомния анализ [5, 7, 12,13,24,25,37,41,44,53,56,62,71,78, 81].

В началото на 70-те години в Jet Propulsion Laboratory (JPL) е разработена първата система, предназначена за масово производство, която няма особен успех [13]. Няколко години по-късно са разработени няколко кариотипиращи програми на базата на анализатори на изображения с общо предназначение. Такава е, например, системата IBAS на фирмата KONTORN [15]. Въпреки, че тази система работи добре при откриването на метафазата, кариотипирането се извършва по доста примитивен начин, като се използват само размерите на хромозомите и центромерните им индекси.

В секцията по медицинска генетика на Medical Research Center (MRC) в Единбург е разработена система за бързо откриване на метафазни изображения и за кариотипиране, която понастоящем е вградена в компютърната система Cytoscan. Тя се използва в повече от 100 лаборатории по цитогенетика по света.

В цитогенетичната лаборатория в Клермон Феран (Франция) е разработена кариотипиращата система Chromoscan. Тя използва конвенционален компютър от тип IBM PC за анализ на хромозомни аберации и за ракова цитогенетика. Използва се за рутинни дейности в 12 цитогенетични лаборатории във Франция

и Белгия. С нея се прави опит за правилна автоматична класификация чрез невронни мрежи, който е частично успешен, но не са известни детайлни подробности за работата на тази система.

Друга такава система е разработена в Техническия университет в Delft на базата на видеопроцесора с общо предназначение VICOM [78]. По-късно там е разработена система за полуавтоматичен хромозомен анализ ATHENA за компютър Macintosh II. Ниската цена компютъра и добрите му възможности за интерфейс с потребителя дават възможност тази система да се разпространи по-широко сред клиничната колегия. Без да се жертва скорост и точност, се постигат резултати с добро качество.

Първата широко използвана в клиничната практика кариотипираща система е MAGISCAN II [25,27]. Тя е резултат от дългогодишно сътрудничество на секцията по медицинска генетика на MRC в Edinburgh с фирмата JOYCE-LOEBL. Понастоящем системата изисква операторска намеса само при откриването на метафазните изображения, а кариотипирането се извършва напълно автоматично. След като се кариотипират определен брой метафази се прави комплексен кариотип с цел да се открият евентуални структурни аномалии. По този начин се пести много време и работата със системата е значително облекчена.

През 1990-1999г фирмата Ista Video Test по поръчка на Foresthill Products разработва системата Visus Image Analysis [93] за компютри от тип IBM PC. Системата дава възможност за въвеждане, обработка, редактиране и анализ на черно-бели (сиви) и цветни изображения. Потребителят може сам да задава последователност от операции за обработка на изображения във вид на конкретно приложение за автоматизиране на рутинния анализ. По този начин

методите за обработка на изображения могат да се автоматизират и приложат в естествените науки, медицината, науките за земята, а също и в производството. Едно такова приложение е специализираната програма за анализ и класификация на хромозоми VideoTesT-Karyo. След въвеждане на изображението автоматично се определя прагова стойност в градациите на яркост и се извършва прагова сегментация. Възможно е праговата стойност да се промени ръчно в диалогов режим. След това се извършва броене и измерване на хромозомите. Ако има допиращи се или припокриващи се хромозоми, се предлага на потребителя да ги раздели с помощта на предвидените за целта средства за редактиране на изображение. Възможно е също да се изтрият ненужни обекти в изображението, да се направят корекции на контурите на обектите, ръчно определяне на ивиците в лентово оцветени хромозоми, и др. Данните от измерванията на хромозомите се представят във вид на таблица на MS Excel. След като са направени всички корекции, хромозомите се подреждат в кариограма. Признаците за класификация са: дължина, площ, центромерен индекс, дължина на надлъжната ос, ширина в средата, средни стойности на градациите на яркост в 10 участъка. Възможно е да се избират само някои от тези признаци, да се определят ръчно кои да бъдат участъците от хромозомите и да се направи визуално сравнение с идиограма, за да се уточни класа. Възможно е и ръчно кариотипиране. Системата предлага сравнително удобни средства за обработка, редактиране и ръчна класификация на изображения на хромозоми. Тя може да бъде разглеждана по-скоро като “електронна ножица”, отколкото като средство за автоматична класификация. При грешки в някой етап от работата на системата се преминава в режим на ръчно кариотипиране, което

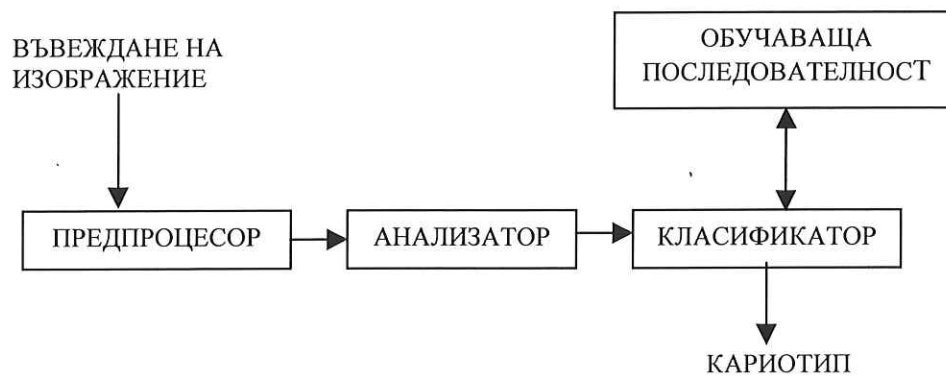
усложнява работата на потребителя. Не са известни данни за работата на системата.

Анализът и класификацията на хромозоми с помощта на подобни на споменатите дотук системи за анализ и класификация на хромозоми се състои от следните основни стъпки:

- сегментация на метафазното изображение;
- броене на хромозомите;
- измерване на хромозомите;
- откриване на позицията на центромера;
- определяне на признаци на ивиците;
- класификация на хромозомите.

По време на анализа на хромозомите всяка метафаза се разполага в зрителното поле на микроскопа при голямо увеличение. Изображението на метафазата се въвежда от телевизионна камера. Предвидени са и възможности за работа със системата в диалогов режим. Всички операции с изображения могат да са програмирани.

Сегментацията и броенето на хромозомите се извършва от част от системата, наречена **предпроцесор**. Измерването на хромозомите, автоматичното откриване на позицията на центромера, както и определянето на признаци на ивиците, са основни функции на друга част от системата, наречена на **анализатор**. Разпределянето на хромозомите в съответните им класове в зависимост от техните размери, центромерни индекси и признаци на ивиците се извършва от трета част на системата, наречена **класификатор** (Фиг. 1.3).



Фигура 1.3. Структура на система за анализ и класификация на хромозоми.

1.2.1. Предпроцесор.

Основна задача на предпроцесора е извършването на предварителна обработка на метафазното изображение. Тя включва: подобряване на качеството на изображението, сегментация и броене на хромозомите. Сегментацията на метафазното изображение представлява изолиране на обектите от изображението и се извършва чрез използването на глобални и локални прагове. Ако в метафазата присъстват хромозоми, които се допират или припокриват, почти е невъзможно изображението да се сегментира правилно. Обикновено това е първата стъпка на диалог с оператора за извършване на правилна сегментация [25,27,37,56,57,60,78]. След като приключи сегментацията, се извършва броене на хромозомите, като е възможно да се направят някои заключения за евентуални числови мутации.

1.2.2. Анализатор.

Хромозомите се класифицират в 24 класа въз основа на признаци, определени за всяка хромозома. Главните признаци, които се използват при класификацията на хромозоми, са: дължина, центромерен индекс и характеристики на ивиците.

Измерването на хромозомите не е така тривиална задача, както на пръв поглед изглежда. Размерите на различните метафази могат да варират два до три пъти поради различното им съкращение (под размер на метафазата се разбира сумата от дължините или площите на всички хромозоми в нея). Следователно, за да се компенсират тези вариации, трябва да се извърши нормализация на размерите [38,39,55].

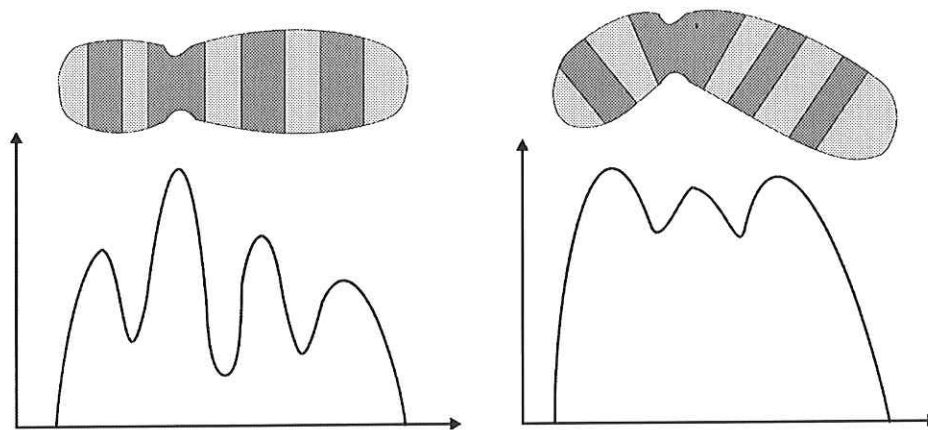
Техниките за определяне на признаци са два типа [35,49,64,72]:

- анализ на едномерния профил на отделните хромозоми;
- анализ на двумерното изображение на градациите на яркост на всяка хромозома.

Профилът на всяка хромозома се извлича, като се сумират градациите на яркост във всяка точка от надлъжната ос на хромозомата. Тъй като ивиците лежат по принцип перпендикулярно на тази ос, те се представят като екстремуми в профила [36]. За да се определи профилът, трябва да се определи оста на хромозомата. Когато хромозомата е права, най-често се използва оста на симетрия на хромозомата. В случая на извита хромозома сумирането по права ос води до частично изменение на лентовия образец и съответно на профила (Фиг. 1.4). Друга трудност при определянето на оста са много малките хромозоми. Те никога не се извиват, но дължината и ширината им са почти равни, поради което може да стане грешка при определянето на оста.

За да се избегнат тези трудности, се използват три основни профила [35,36,78]:

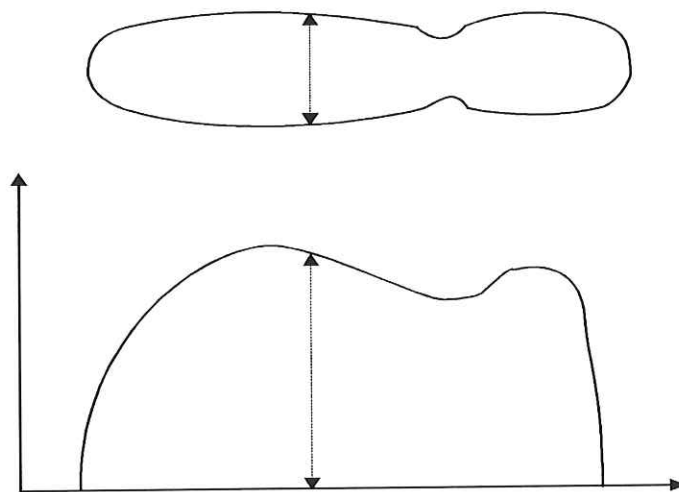
- обединен яркостен профил;
- усреднен яркостен профил;
- профил на ширината.



Фигура 1.4 Профил на права и извита хромозома.

Обединеният яркостен профил представлява суми от градациите на яркост във всяка точка от оста. Недостатък на този профил е съдържанието на информация както за градациите на яркост, така и за ширината на хромозомата. Тази трудност се избягва при усреднения профил, като във всяка точка от оста се извършва деление на степента на яркост на съответната ширина.

Профилът на ширината (Фиг. 1.5) се определя, като се взема локалната ширина на хромозомата във всяка точка от оста. Обикновено в позицията на центромера този профил има абсолютен минимум. Ето защо някои от техниките за откриване на центромера се основават на анализ на профила на ширината.



Фигура 1.5. Профил на ширината.

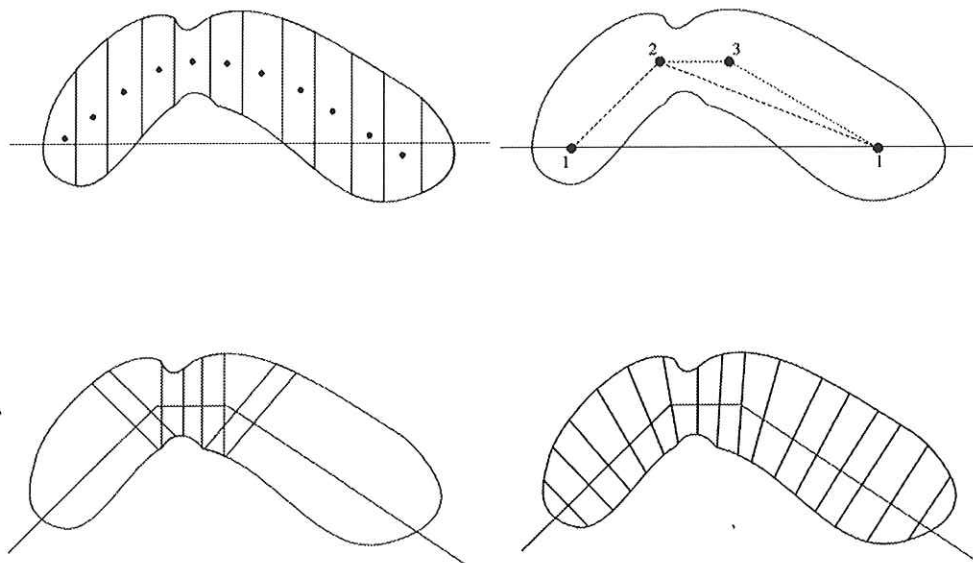
Хромозомите в метафазното изображение имат случайна ориентация и често пъти са извити. Ето защо е необходимо предварително да се извърши ротация и изправяне на такива хромозоми.

Ротацията на хромозомите се извършва така, че главната ос на хромозомата да сочи Y-посоката на мрежата на сканиране. Това води до частично преопределяне на хромозомата. Грешката при това преопределяне зависи от ъгъла на ротация и може да бъде твърде значителна. Groen [35] намалява тази грешка до 2% независимо от ориентацията, като използва билинейна интерполация.

Техниката на изправяне на извитите хромозоми е предложена и разработена най-напред от Groen [35]. Той счита, че хромозомите са извити повече в позицията на центромера, отколкото в краищата. Първата стъпка при изправянето е определянето на надлъжната ос на хромозомата посредством моменти от втори ред. След това се определя средата на всяка колонка, перпендикулярна на тази ос. По този начин се пресмята средната ос на хромозомата. Средните точки на крайните колонки се изключват от понататъшно разглеждане. Нова крайна точка на отсечка става точката, отстояща на максимално разстояние от отсечката, свързваща изключените крайни точки. Тази процедура продължава, докато максималното разстояние между средната и конструираната ос спадне под дадена граница. По този начин се извършва частична линейна апроксимация на средната ос (Фиг. 1.6).

След като се определи оста на хромозомата, тя се изправя чрез билинейна интерполация.

След като хромозомите са изправени, се използват същите техники за измерване, както при правите хромозоми.



Фигура 1.6. Частична линейна апроксимация на средната ос.

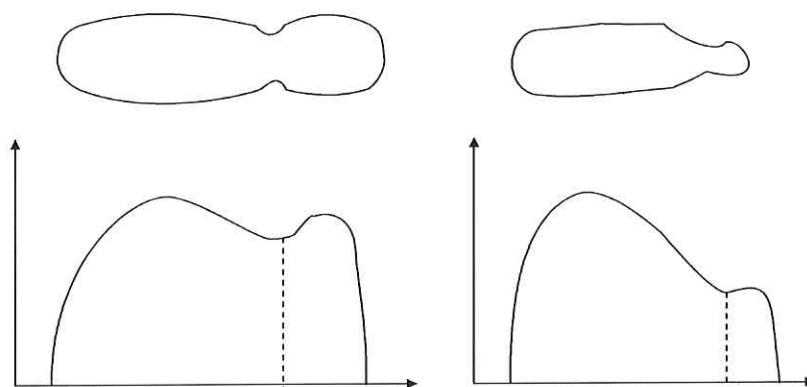
Определянето на позицията на центромера е твърде съществено за хромозомния анализ. Позицията на центромера има голяма разграничителна сила, а освен това в мнозинството класове определя ориентацията на хромозомите. Позицията на центромера играе ключова роля и в някои описатели на ивиците на хромозомите.

За автоматичното откриване на центромера са разработени няколко алгоритъма, но нито един от тях не достига 100% сигурност. Поради това в някои програми е предвидена втора стъпка на диалог с оператора, за да се коригират погрешно поставени или изпуснати центромери [53,56,60,78]. След като е открита позицията на центромера, може да се пресметне центромерният индекс, който е един от главните признаци за класификацията на хромозомите.

Алгоритмите за откриване на центромера могат да се разделят на две групи:

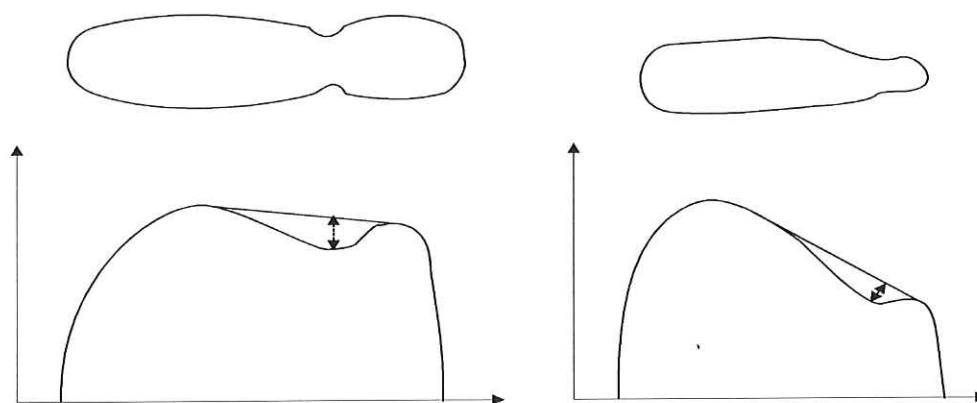
- методи, основаващи се на профила на хромозомата;
- методи, използващи контура на хромозомата.

Един метод от първия тип е търсенето на минимум в профила на ширината (Фиг. 1.7). Този метод е свързан с редица трудности при акроцентричните хромозоми, които нямат ясен минимум в профила. В този случай се търси минимум в първата производна на профила.



Фигура 1.7. Минимум в профила на ширината.

Друг метод от този тип е описването на изпъкнала обвивка на профила. В този случай се изследват областите, заключени между хордата и профила.

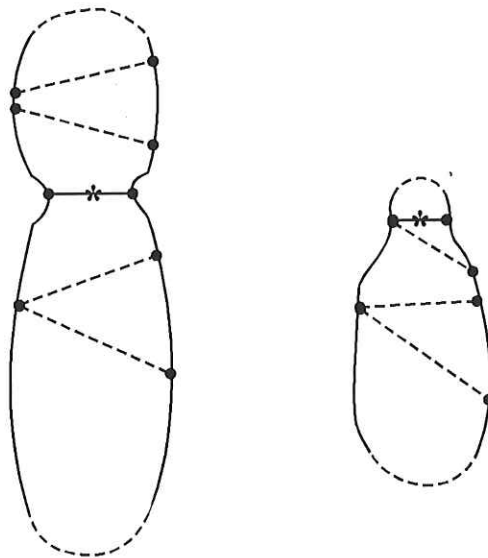


Фигура 1.8. Максимално отдалечени от изпъкналата обвивка точки.

Точката от профила, отстояща на максимално разстояние от изпъкналата обвивка, определя позицията на центромера. Този метод е разработен и изследван от Piper [63] (Фиг. 1.8).

Първият метод от втория тип се основава на търсене на противоположни точки от контура на хромозомата, които стоят най-близо една до друга (Фиг.

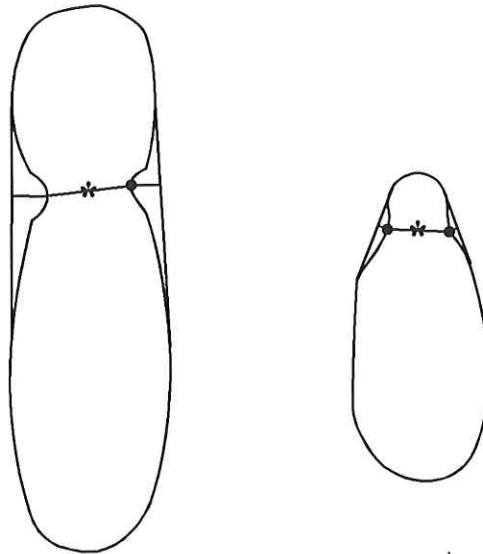
1.9) [78]. За да се предотврати поставянето на центромера в някой от краищата на хромозомата, най-високата и най-ниската точки от контура се изключват от разглеждане.разглеждане.



Фигура 1.9. Минимално раздалечени противоположни контурни точки.

Друг метод от този тип е анализът на кодирания по Freeman контур, където позицията на центромера се дефинира като мястото с най-голяма вдлъбнатина [26]. Този метод изисква високо качество на изображението и добра сегментация, тъй като е силно чувствителен към шум.

Rutovitz [71] е разработил метод, при който около хромозомата се описва изпъкнал многоъгълник (Фиг. 1.10). Разглеждат се областите, заключени между хордата и контура на хромозомата. За всяка област се пресмятат следните параметри: дължина на затварящата хорда, площ, максимална дълбочина и ъгъл между хордата и оста на хромозомата. Въз основа на тези параметри се избират двойки противоположни хорди, за които стойностите им надхвърлят някакъв праг. След това се прекарва центромерната линия, като се свързват най-ниско лежащите под всяка хорда точки.



Фигура 1.10. Най-ниско лежащи под хордите точки.

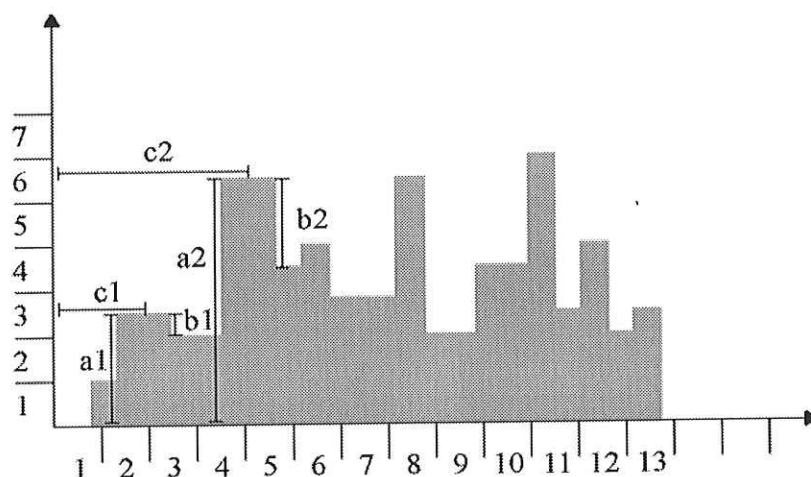
За да се разграничат отделните хромозомни класове е необходимо да се определи характерният лентов образ на всяка хромозома. Като се използват така наречените дескриптори на ивиците лентовите образи се представят като съвкупност от признаци. Дескрипторите могат да се основават на яркостния профил или на двумерното изображение на градациите на яркост на хромозомата. Лентовият образ може да се опише посредством локални или глобални дескриптори на ивиците.

а) локални дескриптори;

Локалните дескриптори представят признаци за всяка открита ивица, като например размер, позиция и яркост. Тези методи дават възможност да се открият аномалии в лентовия образ, например липсващи или допълнителни ивици. Недостатък на тези методи е променливият брой признаци, което ги прави по-непригодни за стандартните статистически класификационни процедури. Един пример на използване на локални методи е гаусовата декомпозиция на профила [29]. Профилът се разлага на множество от гаусови функции на разпределение. Ивиците се представят в профила посредством

средното значение, стандартното отклонение и стойността на върха. Методът е много бавен. Granlund [30] докладва за ниво на грешка 5% при класификация в 3 от 23 класа.

Друг метод е използването на т.нар. редици от преходите на ивиците (Band Transition (BT-)Sequences) [50,51,52] (Фиг. 1.9). В този случай всеки връх в профила се представя посредством код. Първоначално профилът се филтрира последователно линейно и нелинейно, в резултат на което се получава стъпаловиден профил. Той се разделя на 13 сегмента: 5 за късото, 7 за дългото рамо и 1 за областта на центромера (фиг. 1.11). Всяка BT-редица се състои от 14 BT-кода: по един за всеки от 13-те сегмента и един допълнителен код за крайната точка на късото рамо. Всеки BT-код се състои от следните атрибути: яркост на върха, разлика между интензитета на върха и съседната стойност, и позиция на върха. Яркостта на върха може да принадлежи на един от 6 класа яркост; разликите са разделени на 4 класа. Тези атрибути имат стойност 0 за сегментите, в които няма връх в профила. Lundsteen [53] докладва за ниво на грешка при използването на този метод от около 3%.



Фигура 1.11. Начин на определяне на BT-кодовете.

Още един локален метод е лапласовият филтриращ метод, първоначално предложен от Visser [78]. За да се открият ивиците, се филтрира двумерното

изображение на градациите на яркост. За всяка открита ивица се пресмятат няколко параметъра: площ, яркост, позиция. След процедура за селекция се извличат някои характерни ивици, които ефективно описват лентовия образец. Грешките при използването на този метод с различни множества данни лежат в областта между 1% и 9% [78].

б) глобални дескриптори;

Глобалните дескриптори представляват цялостно описание на профила или изображението. Признаците се извличат, без да се вземат под внимание ивиците. Следователно, този тип дескриптори са по-нечувствителни към аномалии в лентовия образец. В резултат глобалните методи дават фиксирана съвкупност от признаци, което ги прави особено пригодни за стандартните статистически класификационни схеми.

Типичен пример за използване на глобални дескриптори е използването на коефициентите на Фурие на профила [12]. Фурие-анализът, обаче, е силно чувствителен към локалните съкращения на хромозомите и затова е по-малко пригоден за използване. Друг глобален метод е съпоставянето на профила на хромозомата с предварително зададен шаблон.

Най-успешно приложният досега глобален метод е интерактивната кариотипираща програма на системата MAGISCAN II на фирмата Joyce Loebel [25,27,30], която се използва в клиничната практика в Rigshospital, Копенхаген. Методът е предложен от Granum [31,32] и се основава на т. нар. тегловно разпределение на яркостта (Weightened Density Distribution-WDD). Той използва усредненият яркостен профил на хромозомата. Пресмятат се т. нар. WDD-признаци чрез съпоставяне на този профил със съвкупност от функции с триъгълно оформени графики (Фиг. 1.12). Тези функции са нормализирани с

дължината на хромозомата и тегловен множител в интервала между 0 и 1. Използват се осем такива функции. По-голямата част от тях вземат предвид позицията на центромера. Тогава, всеки признак се пресмята по формулата (фиг. 1.13):

$$x_j = \frac{\sum_{i=1}^N w_j(i)d(i)}{\sum_{k=1}^N d(k)}$$

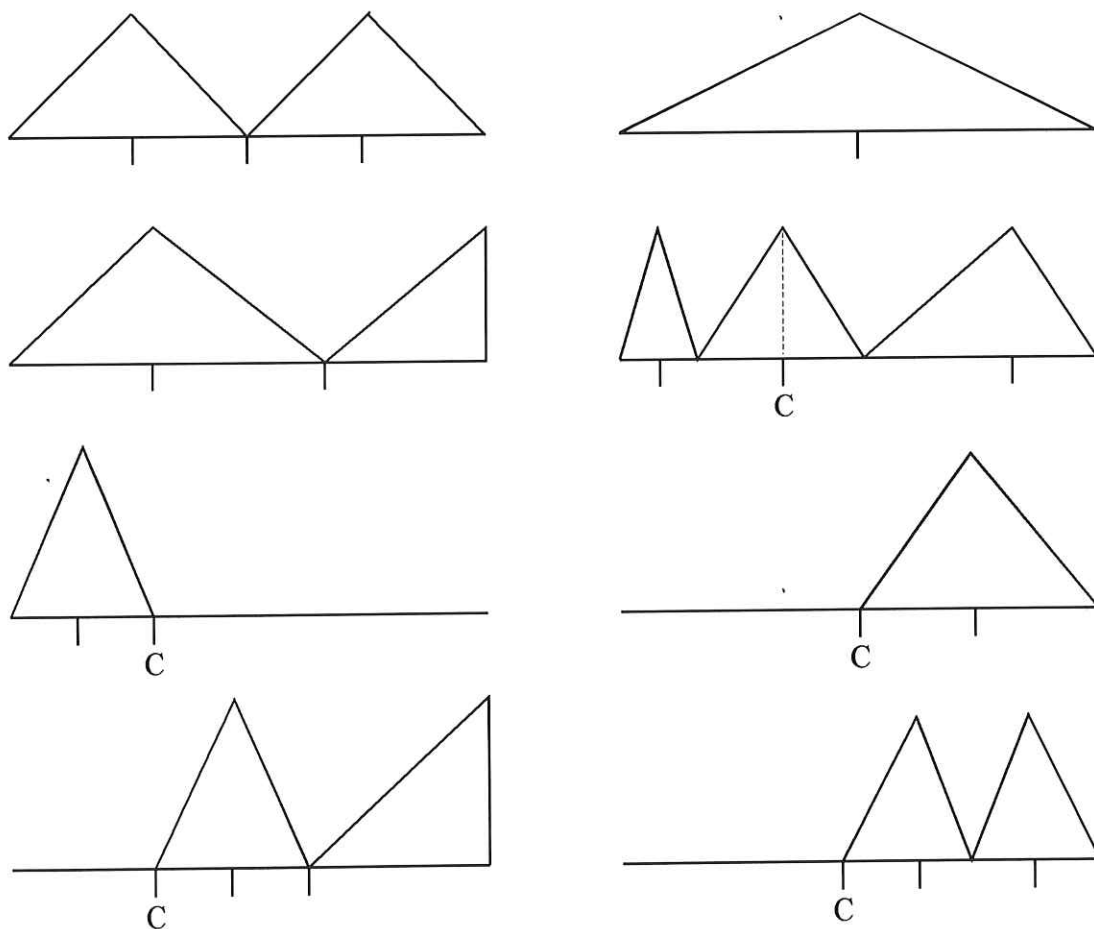
където:

x_j - j -ти признак;

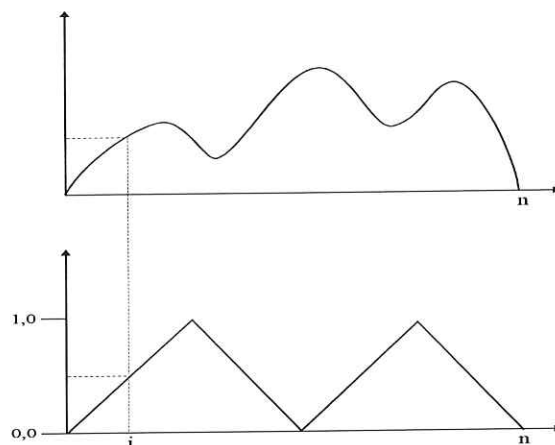
$w_j(i)$ - стойност на j -тата тегловна функция в i -тата точка;

$d(i)$ - градация на яркост в i -тата точка;

N - дължина на профила.



Фигура 1.12. Функции с триъгълно оформени графики.



Фигура 1.13. Определяне на WDD-признаци.

Granum [32] докладва за ниво на грешка 1% при използването на този метод. Успехът на този метод се основава до голяма степен на факта, че е известна позицията на центромера и ориентацията на хромозомите.

1.2.3. Класификатор.

След като се извлекат признаците е необходимо да се извърши класификация на хромозомите в техните съответни класове. Класификацията не е тривиална задача, тъй като хромозомите от дадена метафаза не приличат на идеалните хромозоми от стандарта. Съществуват различни фактори, които влияят върху извличането на признаците. Такива са, например, вътрешно клетъчните вариации на размерите, дължащи се на различната степен на съкращение. В следствие на това е възможно в хромозомите от един и същи клас да се получат различен брой ивици или да се слоят ивици, които нормално са разделени. Измененията, предизвикани от извитите хромозоми, също оказват влияние върху признаците [62].

Класификацията на хромозомите може да се извърши по няколко различни начина: традиционни статистически методи, теория на размитите множества, контекстно зависима класификация, синтактични методи.

а) традиционни статистически методи;

Традиционните статистически методи използват представителна обучаваща последователност, за да се определи решаващо правило. След това решаващото правило се използва, за да се класифицира тестваната съвкупност (метафазата). Възможен е йерархичен подход - първо груба класификация в Денвърските групи, а след това в 24-те хромозомни класа въз основа на признаците на ивиците. Някои примери на решаващи правила са [2,13,57,78]:

- линейни или квадратични дискриминантни функции [62,78];
- функции за разстояние (правило на най-близкия съсед) [59] - обектът се присъединява към дадения клас въз основа на мярка за разстояние до него;
- решаващо правило на Бейс [2,52,78] - използва се в случаите на нормално разпределение на признаците.

Всички тези правила са пригодни за използване в комбинация с глобалните дескриптори.

б) методи на размитите множества;

Методът на размитите множества [6] е твърде пригоден за предварителна обработка на цитологична информация. Класификацията се извършва въз основа на степени за принадлежност към даден хромозомен клас. Тези степени се пресмятат посредством измерените признаци. Класификацията става по дървовидна структура, като хромозомите могат да се присъединят към един или повече класа [82,83].

в) контекстно-зависима класификация;

При контекстно-зависимата класификация се взема предвид, че в един хромозомен клас има точно две хромозоми [67,70,73,80]. Когато към един и същи клас са присъединени повече от две хромозоми, допълнителните

хромозоми се прехвърлят към други класове в зависимост от вероятностите им за принадлежност към хромозомните класове. Възможно е хромозомите да се прехвърлят от един към друг клас въз основа на оценъчни функции [79]. Контекстно-зависимият метод може лесно да се комбинира с двата класификатора (статистически или с размити множества).

г) синтактична класификация;

При синтактичните методи за класификация на хромозоми се използва описание на контура на хромозомата чрез символи. Така полученият символен низ се подлага на граматически разбор на базата на контекстно свободна граматика. В резултат от разбора се заключава дали даден обект е хромозома и, ако да, от какъв тип е тя. За пръв път Ledley [46,47] е направил опит за синтактично класифициране на хромозоми в два класа - телоцентрични (метацентрични и субметацентрични) и акроцентрични. По-късно Lee и Fu [45] използват подобен подход за разделянето на хромозоми в три класа - метацентрични, субметацентрични и акроцентрични.

След като приключи класификацията, в повечето съвременни системи за автоматичен хромозомен анализ е предвидена последна стъпка за работа в диалогов режим, за да се коригират евентуалните грешки при кариотипирането. Накрая се извежда копие от така направената кариограма.

1.3. Използване на методи и средства на изкуствения интелект в съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми.

Съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми са резултат от близо 30-годишни усилия за прилагане на методите на традиционните подходи в обработката на изображения и разпознаване на образи. Те са изключително

сложни, имат не особено големи възможности и изискват значителна операторска намеса, за да постигнат задоволителен резултат.

Съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми притежават типичните недостатъци, характерни за традиционните големи програми за обработка на изображения и разпознаване на образи. Те са трудни за написване, проверка, отстраняване на грешки и модифициране. Поведението на някои рядко използвани части от системата понякога е непредсказуемо. Ето защо е необходимо тези системи да бъдат усъвършенствани, за да станат напълно автоматизирани. От друга страна, интелигентните системи, които са основани на знания, дават възможност тези знания да се представят по подходящ начин, да се предвижда поведението на системата, да има максимално съответствие между данните и зададения модел и да могат лесно да бъдат разширявани и допълвани.

Понастоящем в много лаборатории се разработват различни системи за анализ на хромозоми, основани на знания. В [65] е публикувана критика на традиционния автоматичен анализ на хромозоми и е дадена концептуална схема на система, основана на продукционни правила. Тази концепция е развита и приложена при разработването на прототип на такава система [54]. В Wolfson Image Analysis Unit към Department of Medical Biophysics при University of Manchester [65] са извършени експерименти с алтернативни стратегии за сегментация на хромозоми, основани на различни модели.

Направени са редица опити да се въведат по-гъвкави и съвършени стратегии за управление на системите за автоматичен анализ на хромозоми. Група учени от MRC Human Genetics Unit Western General Hospital в Edinburgh [65] е предложила да се използват мерки на достоверност, за да се оцени

процеса на вземане на решения, което евентуално да предизвика алтернативни пътища за обработка. Предлаганата система има същото представяне, както и по-ранните традиционни системи за анализ и класификация на хромозоми. Granlund [65] е описал система, която може да променя първоначалния модел в зависимост от очакваните стойности на признаците, като по този начин може да се открие група от хромозоми с аномалии в система за работа с много клетки. Piper [54] е предложил система за генерация на хипотези, зависещи от позицията на центромера, като се прави избор на най-добрата хипотеза посредством метод за оценяване на хипотезите. Piper и колектив [65] описват система за откриване на дицентрични хромозоми, в която хипотезите за позицията на центромера се оценяват, като се правят допълнителни измервания в оригиналното изображение и се извършва т.нар. съпоставяне с модела на изображението.

В Department of Electrical Engineering на University of Leuven са изследвани възможностите при кариотипирането да се обединят технологиите на изкуствения интелект с традиционните статистически методи за разпознаване на образи [36,54], като в класификационната процедура се въведат знания за ограниченията на областта. Системата е изпробвана с различни множества данни, включително и данните, събрани в Leuven и в MRC в Edinburgh. Всички тестове показват значително подобряване на качеството на класификацията в сравнение с оригиналната непараметрична Байесова класификация [54, 89, 90, 92].

1.3.1. Обработка на изображения на метафази и на хромозоми, основана на знания.

Традиционните схеми за сегментиране на изображения не работят добре с

допиращи се или припокриващи се обекти. Затова една от най-трудните части на автоматизирания цитогенетичен анализ е сегментацията на метафазното изображение на 46 отделни хромозоми. Тази задача е значително усложнена при прометафазите, тъй като техните хромозоми са по-дълги и повече се припокриват. Съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми извършват разделяне на припокриващите се хромозоми в диалогов режим. Този процес може до голяма степен да се автоматизира, ако се използват знания. За целта са необходими специално разработени средства за автоматично разделяне на припокриващи се хромозоми.

В [28] е описан метод на разделяне на припокриващи се хромозоми, като се използва контекстуална информация за управление на алгоритъм "разделяне-сливане". От групите хромозоми на няколко стъпки се отделят сегменти, които впоследствие се сливат в цели хромозоми. За целта се използват локални прагове, определени въз основа на локални хистограми от градиентите на яркост. Методът съкращава значително времето за разделяне на припокриващите се хромозоми в диалогов режим.

В [43] подробно е описана процедура за автоматично разделяне на припокриващи се хромозоми, основана на анализ на вдлъбнатината с оглед очакваната форма на хромозомата. Откриват се четирите точки на срязване на групата хромозоми, като се използват нейните изпъкналата обвивка, скелет и анализ на вдлъбнатината. Отделните хромозоми могат да бъдат възстановени след това от резултата от анализа, като се използва линеен метод на най-малките квадрати. За множество от 46 отделни групи хромозоми е постигнато ниво на успех 95%.

Друг метод за разделяне на припокриващи се хромозоми е основан на анализ на контура на обекта [86]. Извиването навътре на контура се счита за потенциално начало и целеви (опорни) точки за линиите, по които да се разреже групата припокриващи се хромозоми.. Методът е строго последователен и редът, в който обектът се разделя на отделни хромозоми, е изключително важен. Този ред се определя чрез успешното прилагане на критерии за формата. Представя се също така и схема за оценяване, която извършва ръководство на селекцията и подреждането на тези критерии.

В [88] е предложен модел и съответен метод за анализ на контура. Този метод се основава на факта, че по-голямата част от информацията, която е необходима за разпознаване и разделяне на групи от припокриващи се хромозоми представлява изключение в структурните конфигурации на хромозомните контури и би могла да се използва за по-внимателен анализ, като се използват знанията за този модел.

Още един начин за разделяне на групи хромозоми е при предварителната обработка на метафазното изображение да се въведат знания за формата на обектите [10]. По този начин задачата за разделяне се свежда до задача за идентификация. Възможно е да се направи успоредна класификация на части от хромозоми от метафазното изображение, както това се прави ръчно от цитогенетиците. Този метод е бърз и не зависи от съществуването на път за разделяне.

В Gotenburg, също и в Pattern Gecognition Group на Facultyof Applied Physics към University of Delft [54] се изследват методи за автоматична сегментация на прометафазни клетки, които имат повече припокриващи се хромозоми. В Gotenburg използват филтър на центъра на тежестта, разработен в

Manchester, при който се намират централните линии и ориентацията на хромозомите, след което се извършва ограничена класификация на получените като резултат части от хромозоми, за да се получи най-оптимална сегментация. За сега няма данни за резултатите от тези изследвания.

Van Vilet и Verbeek вместо знания използват ограничение на максималната кривина на контурите на хромозомите. Този метод гарантира добро разделяне при всички групи силно припокриващи се хромозоми.

За откриване на припокриващите се хромозоми е възможно да се използва подход на хомоложно съпоставяне [74]. За да се идентифицират припокриващите се хромозоми, се използва оригиналната информация от градациите на яркост, преди да е извършена предварителната обработка на изображението. Като се използват невронни мрежи се получава прототип на всяка отделна хромозома. Този прототипът се съпоставя с неговия припокриван хомолог, като се сравняват методите динамично програмиране и невронни мрежи. Този метод е използван за идентифициране на хромозома 2 в 50 метафазни образци. Експерименталните резултати показват, че хомоложното съпоставяне с използване на динамично програмиране, основано на профила на градациите на яркост, дава по-висока степен на правилно разпознаване, отколкото хомоложното съпоставяне с използване на три различни подхода на невронни мрежи.

Сегментацията на припокриващи се лентово оцветени хромозоми може значително да се съкрати, ако се използват обучаеми модели за очаквания изглед на ивиците [14]. Моделите се състоят от образци на вътрешно-хромозомни лентови профили. Кандидат хромозомните сегменти се класифицират в зависимост от тяхното съответствие на входящо множество от

образци и се съпоставят въз основа на тази класификация. Оценката на такива модели, като се използва множество от лентови образци с обяснения, дава правилна класификация при 90,8% за отделни хромозоми, 55,4% за хромозомни фрагменти и 77,6% за припокриващи се двойки хромозоми.

1.3.2. Класификация на хромозоми, основана на знания.

Много групи от учени изследват “по-интелигентни” процедури за класификация на хромозоми [20,33,54,65,66,67,68,69,75]. Те се концентрират главно върху ограниченията на класификацията, които произтичат от знанието за сходното устройство на метафазните клетки. В частност, известно е, че във всяка клетка всички или почти всички хромозомни класове съдържат точно две хромозоми и че те видимо си приличат. Използването на такова контекстуално знание за модифициране на класификацията на хромозомите обикновено се нарича “кариотипиране”.

В Institute of Science and Technology и Wolfson Image Analysis Unit при University of Manchester, и в University of Passau са изследвани някои технологии от областта на операционните изследвания, за да бъде оптимизирана класификацията на хромозоми [36]. Системата създава кариотипи въз основа на зададени данни за подобие. Ядрото на класификатора представлява много бърз транспортиращ алгоритъм. Освен това, в Passau са използвани методи от математическото програмиране за хомоложно съпоставяне, основани на данни от характеристики.

В Institute for Electronic Systems, University of Aalborg се използват модели на Марковски мрежи за класификация на хромозомни структури с лентови образци. Този метод е особено ефективен при класификацията на удължените

прометафазни хромозоми, които имат повече ленти от обикновените метафазни хромозоми [33,34].

В Delft е разработена класифицираща процедура за кариотипиращата система Athena, която се основава на локални описания на хромозомните ивици, както и са сравнени няколко алгоритми за класификация в 24-те хромозомни класа. Сравнени са също и няколко публикувани по-рано методи за определяне позицията на центромера [84].

В Wolfson Image Analysis Unit са приложени невронни мрежи при класификация на хромозоми. Първоначалните опити дават окуражителни резултати. Този подход би могъл да се окаже много ценен при класификация на прометафазни хромозоми [40,42].

В Leuven за класификация на хромозоми са приложени невронни мрежи с много нива feed-forward, обучени с back-propagation алгоритъм. Системата е тествана с множество от 928 хромозоми от денвърски групи А и В, като са използвани 8 признака и са получени по-добри резултати от непараметричния Байесов класификатор [91].

В Edinburgh от доста време се изследват работата и възможностите за усъвършенстване на кариотипиращите класификатори. Постигнати са забележителни успехи при разработването и частичното прилагане на система за кариотипиране, основана на знания, както и при изследване значението при прилагането на информация за подобие между хромозомните профили на яркост, но все още няма данни за резултатите [65].

В [68] е предложен евристичен метод за оценка на параметри в смесени модели на данни с изключения и е разработен Байесов класификатор за присъединяване на m обекта в n класа ($n \geq m$) с използване на ограничения.

Този метод за обработване на изключения е приложен към автоматична класификация на хромозоми с използване на ограничения. Показано е, че в сравнение с класическия модел методът намалява нивото на грешка с повече от 50%. Това разпределение може да отразява някои асиметрии в данните. В следствие са разработени алгоритми за класификация с използване на ограничения на клетки с липсващи или допълнителни хромозоми (тризомии) [69].

Глава 2. Основна идея при построяването на система за анализ и класификация на хромозоми CAIS.

Основното предназначение на системата CAIS (Chromosome Analysis Intelligent System) е да извършва анализ и класификация на хромозоми с помощта на компютър и да оказва съдействие на специалистите-цитогенетици при откриване на евентуалното наличие на хромозомно заболяване. Поради спецификата на работата, която тя трябва да извършва, нейната обща схема се основава на общата схема на съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми [16,22]. Това означава, че анализът и класификацията на хромозоми се извършва на три етапа: **предварителна обработка, анализ и класификация**, извършвани съответно от **предпроцесор, анализатор и класификатор**. От друга страна, работата на системата CAIS включва два типа дейности: обработка и анализ на изображения, и класификация на хромозоми. За извършването на тези дейности се използват съответни методи, които представляват знания съответно от две различни проблемни области - обработка и анализ на изображения, и класификация на хромозоми. Извършва се обработка и анализ на конкретен тип изображения - двумерни растерни черно-бели (сиви) изображения на биологични обекти, наблюдавани под микроскоп. Класификацията на хромозоми се извършва на няколко стъпки по определени от специалистите-цитогенетици евристични правила [3,8,9]. Първата стъпка е първоначална класификация въз основа на дължината и центромерния индекс на хромозомите и е обща за всички видове оцветяване на хромозомите. Втората стъпка се извършва само за тези обекти, които не са класифицирани правилно при първата стъпка и е зависима от оцветяването на хромозомите - еднородно

или лентово. Третата стъпка е класификация в диалогов режим. Системата е реализирана на езика C++ за компютри от типа IBM PC.

2.1. Обща схема на системата.

Системата CAIS [16] се състои от следните основни части: предпроцесор, анализатор и класификатор (Фиг. 2.1).

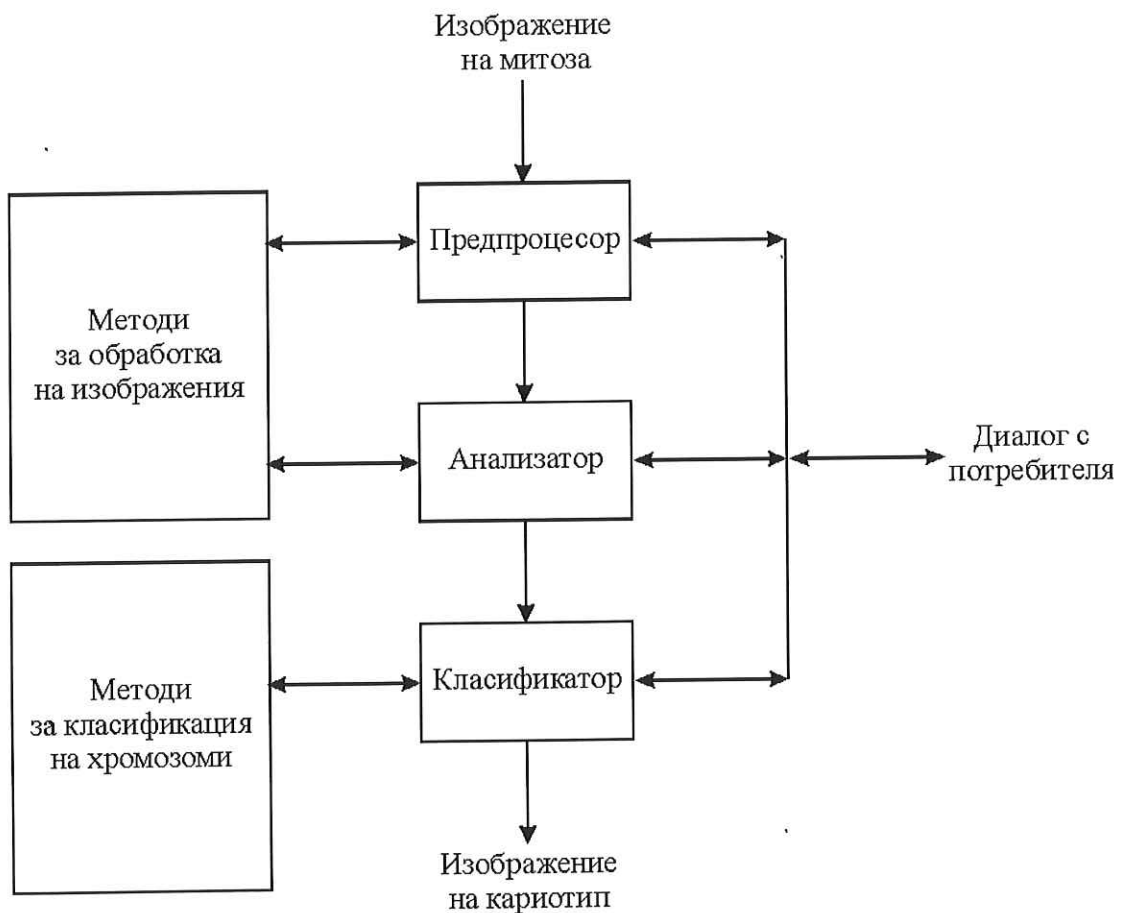
Предпроцесорът извършва първоначалната обработка на изображението. Предварителната обработка се извършва върху цялото метафазно изображение. Тя се основава на обработката на растерни изображения и има за цел подобряване качеството на изображението и изолиране на обектите в него. Изолирането на обектите се осъществява посредством прагова сегментация, като праговете се определят в диалогов режим. Изолираните обекти представляват растерни изображения, но с размери по-малки от тези на метафазното изображение.

Анализаторът определя признаци за отделните хромозоми, които да се използват при тяхната класификация. Основни такива признаци за хромозомите са дължината и центромерният индекс на всяка хромозома, независимо от типа на оцветяването, както и характеристики на ивиците за лентово оцветени хромозоми. За определянето на дължината и центромерния индекс се използва предварително построеният хромозомен контур, а за анализирането на ивиците се извършва филтриране, след което за всяка ивица се определят съответно нейната площ, яркост и позиция спрямо центромера.

Класификацията на хромозоми се основава на знания за зависимостта на класовете на хромозомите от техните дължини и центромерни индекси, както и от характеристиките на ивиците. Тези знания се представят в системата чрез процедури, които осъществяват евристични правила за отделяне на

хромозомите от различните класове. Използването на такива евристични правила позволява дървовидна класификация - първо в денвърските групи, след това по класове вътре в групите и допълнително уточняване на хромозомните класове.

По време на работата на системата се извършва диалог с потребителя с цел отстраняване на обекти, които не са хромозоми, разделяне на слети или припокриващи се хромозоми, сливане на разкъсани при сегментацията хромозоми, контрол на броя на хромозомите, корекции на неправилно поставени или изпуснати центромери, корекции в построения кариотип.

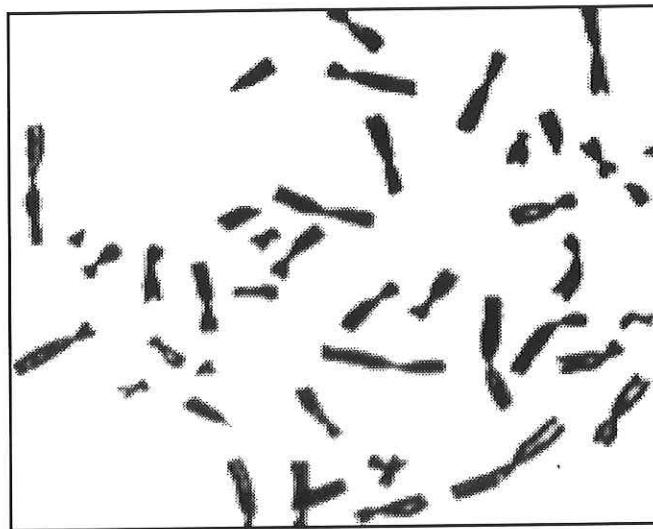


Фигура 2.1. Обща схема на система за анализ и класификация на хромозоми CAIS.

2.2. Методи за предварителна обработка на метафазно изображение.

Метафазното изображение (Фиг. 2.2) се въвежда от клетки, разположени

на предметно стъкло, с помощта на микроскоп, снабден с ТВ камера, свързана с компютър.



Фигура 2.2. Изображение на метафаза.

Изображението се представя във вид на матрица от $N \times M$ елемента (N и M зависят от разделителната способност на камерата). Всеки елемент на матрицата е цяло число в интервала $[0,255]$ и представлява стойността на градацията на яркост на всеки пиксел от изображението. Тази матрица се записва във файл и е достъпна за обработване от системата.

а) метод за подобряване на качеството на изображението;

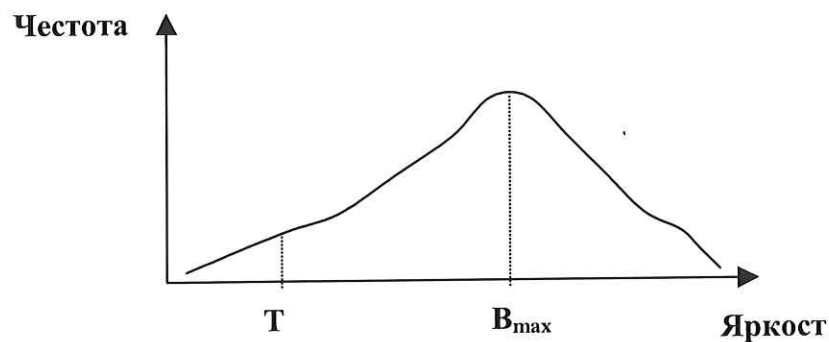
Изчистването на шумове в изображението се извършва по метода на медианната филтрация [2,17,23], като от пикселите на 3×3 околността на всеки пиксел от изображението се избира 5-тия (средния) по градация на яркост и тази стойност замества градацията на яркост на пиксела.

б) определяне на прагова стойност в градациите на яркост;

Праговата стойност в градациите на яркост се определя въз основа на хистограма в градациите на яркост (Фиг. 2.3) по следната формула:

$$T = 20\% \cdot B_{\max}$$

където V_{\max} е градацията на яркост с най-голяма честота на срещане в метафазното изображение [17, 78].

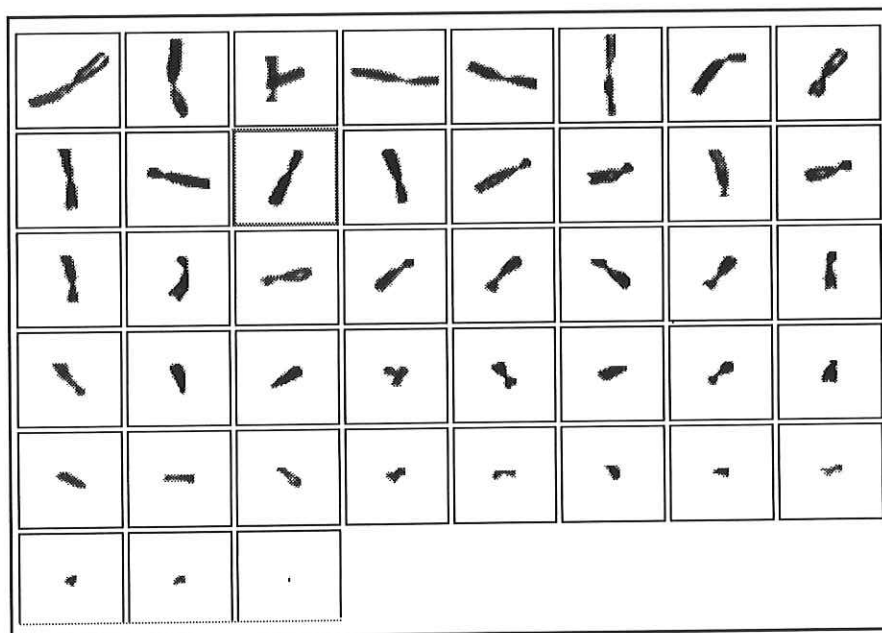


Фигура 2.3. Хистограма на градациите на яркост.

Така определената прагова стойност може да се доуточни в диалогов режим.

в) метод за прагова сегментация (изолиране на обектите) на метафазно изображение;

При изолирането на обектите от изображението се използва прагът, определен в т. б (Фиг. 2.4). За целта е разработена рекурсивна процедура, анализираща пикселите от 3×3 околността на всеки пиксел от изображението със стойности на градациите на яркост по-големи от прага [17,23].



Фигура 2.4. Изолирани хромозоми.

2.3. Методи за анализ на обектите в метафазното изображение.

Най-важните признаци, по които се класифицират хромозомите, са дължината и центромерният индекс на всяка хромозома. Ето защо основна задача на анализа на изображение на хромозоми е определянето на тези два признака.

а) метод за изолиране на контура на хромозома;

Контурът на всеки обект се определя с помощта на Лапласов филтър за извършване на 3×3 конволюция на околността на всяка точка от изображението с ядро [61]:

$$\begin{bmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{bmatrix}$$

б) метод за определяне позицията на центромера;

Позицията на центромера се определя като двойка най-близки противоположни контурни точки. Намирането на тези точки става по следния начин. Първоначално се определят двете най-отдалечени контурни точки. Те разделят контура на хромозомата на два полуконтура (фиг. 2.5, а). Тогава се определя минималното евклидово разстояние между точките от двата полуконтура. Средата на отсечката, която свързва двойката такива точки, представлява позицията на центромера (фиг. 2.5, б).

За да се избегне поставянето на центромера в някой от двата края на хромозомата, крайните точки от двата полуконтура се изключват от разглеждане. Обикновено това е 5% от дължината на полуконтура или поне 2 точки [17,23].

образец, заедно с хромозомата може да се визуализира и да се сравни с маркерните участъци за даден хромозомен клас (Фиг. 2.7).

ж) метод за съпоставяне на лентов образец с идиограма;

За съпоставяне на лентовия образец на хромозомите с предварително зададени идиограми на маркерните участъци е разработена специална функция [23]. Тя пресмята съвпаденията на всеки конкретен лентов образец с маркерните участъци от идиограмата за даден хромозомен клас. Резултатът се изразява в проценти на съвпадение между лентите от конкретния образец и маркерния участък (Фиг. 2.8). По този начин се дава възможност да се извършват експерименти при класификацията на лентово оцветени хромозоми. Изображенията с идиограмите на маркерните участъци са взети от "Idiogram Album: Human", 1994, David Adler.

Object No:	1
Class 1:	
Band 31, Arm p:	0.23
Band 21, Arm p:	0.62
Band 21, Arm q:	0.57
Band 31, Arm q:	0.08
Band 41, Arm q:	0.50
Class 2:	
Band 21, Arm p:	0.43
Band 21, Arm q:	0.00
Band 31, Arm q:	1.00
Class 3:	
Band 21, Arm p:	0.63
Band 21, Arm q:	0.22
Class 4:	
Band 21, Arm q:	0.44
Band 31, Arm q:	0.73
Class 5:	
Band 21, Arm q:	0.44
Band 31, Arm q:	0.83
Class 6:	
Band 21, Arm p:	0.55
Band 21, Arm q:	0.56

Фигура 2.8. Резултат от съпоставяне на лентов образец с идиограма.

з) метод за построяване на символно описание на хромозома;

Въз основа на лентовия образец за всяка хромозома се построява масив, който съдържа описание на всяка открита ивица в хромозомата. Това описание

съдържа:

- *Рамо, на което се намира ивицата –късо или дълго ;*
- *Цвят на ивицата –светла или тъмна;*
- *Средно значение на яркостта;*
- *Стандартно отклонение на яркостта;*
- *Начало на ивицата;*
- *Край на ивицата.*

Масивът съдържа толкова на брой такива описания, колкото са откритите в хромозомата ивици. За всяка отделна хромозома този брой е различен.

Тези данни, заедно с дължината, центромерния индекс и броя открити ивици, формират символно описание на хромозомите, което се използва от методите за класификация на хромозоми. По-долу е представен пример на такова символно описание на хромозома:

```

Chromosome No 46
origin: (210,573)
height: 30
width: 20
area: 410
length: 27.80
Cpos: (13,6)
A1: (15,0)
A2: (3,25)
CI: 22.75
Class: 24
Classified by: length and CI algorithm

Number of bands: 4
Band No: 1
  Arm: p
  Start: 0
  End: 12
  Colour: White
  Mean Density: 129.56
  Standard Deviation: 9.4473
Band No: 2
  Arm: p
  Start: 13
  End: 18
  Colour: Black
  Mean Density: 111.94
  Standard Deviation: 12.5488
Band No: 3
  Arm: p
  Start: 19
  End: 22
  Colour: White
  Mean Density: 123.02
  Standard Deviation: 9.7414
Band No: 4
  Arm: q
  Start: 23
  End: 31
  Colour: White
  Mean Density: 133.27
  Standard Deviation: 7.4204

```

Представените методи и процедури за предварителна обработка и анализ на хромозоми представляват съчетание на методите за обработка и анализ на изображения с тези на машинната графика [6]. Освен това поредицата от действия - изолиране на обектите, определяне позицията на центромера и определяне дължината на хромозомата като сума от дължините на двете рамена - е сходен с начина, по който се извършват тези дейности при ръчния анализ на хромозоми. Това опростява работата при извличането на признаците на хромозомите, тъй като те са независими от ориентацията на хромозомите в изображението и от това дали хромозомата е права или извита [3,8,9].

2.4. Методи за класификация на хромозоми.

2.4.1. Цитогенетични знания за класификация на хромозоми.

Всяка нормална човешка клетка съдържа 46 хромозоми, разпределени по две в 24 класа: 22 автосоми и 2 полови хромозоми – XX за жена и XY за мъж. Класификацията на хромозоми се извършва по определени от специалистите-цитогенетици евристични правила. Най-важните признаци, по които се класифицират хромозомите, са тяхната относителна дължина, позицията на центромера и типичния лентов образ, който е характерен за всеки хромозомен клас. Тези евристични правила, както и реалните данни, използвани при разработването на методите за автоматична класификация на хромозоми, са получени с активното съдействие и сътрудничество на доц. д-р Мария Цанчева от катедра “Медицинска генетика” на Университеска болница "Царица Йоанна".

а) класификация на хромозоми по дължина и центромерен индекс;

Въз основа на размера и центромерния индекс 46-те хромозоми могат да бъдат подредени в 7 групи, известни като Денвърска класификация [1,3,8,9]. В

Таблица 1 [3,8,9] е отразено съответствието между относителните дължини, центромерните индекси, Денвърските групи и класовете на човешките хромозоми.

Относителна дължина		Центромерен индекс(%)		Клас	Група на Денвър
Средно значение	Интервал	Средно значение	Интервал		
8.44	8.007-8.873	48.36	47.194-49.526	1	A
8.02	7.623-8.417	39.23	37.406-41.054	2	A
6.83	6.515-7.145	46.95	45.393-48.507	3	A
6.30	6.016-6.584	29.07	27.203-30.937	4,5	B
6.08	5.775-6.385	29.25	27.511-30.989	4,5	B
5.90	5.636-6.164	39.05	37.385-40.715	6	C
5.36	5.089-5.631	39.05	37.279-40.821	X	C
5.12	4.859-4.811	33.95	31.707-36.193	7	C
4.93	4.669-5.191	34.08	32.105-36.055	8	C
4.80	4.556-5.044	35.43	32.871-37.989	9	C
4.59	4.369-4.811	33.95	31.707-36.193	10	C
4.61	4.383-4.837	40.14	37.812-42.468	11	C
4.66	4.448-4.872	30.16	27.821-32.499	12	C
3.74	3.502-3.976	17.08	13.853-20.307	13	D
3.56	3.331-3.789	18.74	15.144-22.336	14	D
3.46	3.246-3.674	20.30	16.598-24.002	15	D
3.36	3.177-3.543	41.33	38.590-44.070	16	E
3.25	3.065-3.437	33.86	31.089-36.631	17	E
2.93	2.776-3.094	30.93	27.886-33.974	18	F
2.67	2.496-2.844	46.54	44.241-48.839	19	F
2.56	2.395-2.725	45.45	42.924-47.976	20	F
1.90	1.730-2.070	30.89	25.888-35.982	21	G
2.04	1.858-2.222	30.48	25.548-35.412	22	G
2.15	2.013-2.287	27.17	23.988-30.352	Y	G

Таблица 1. Денвърска класификация.

Най-напред хромозомите се подреждат в низходящ ред на техните дължини, след което се прави разпределение по групи и където е възможно по класове, в зависимост от позицията на центромера. Най-важното правило, което

се спазва при това разпределение, е, че във всеки хромозомен клас има по две хромозоми. Първи се отделят най-лесните за класифициране хромозоми – най-дългите, а след това в обратен ред от най-късите към по-дългите хромозоми. Последни се подреждат най-трудните за класифициране хромозоми – тези от Денвърска група С.

При подреждането се вземат предвид и следните евристични правила:

- дължината на хромозомите от класове 1 до 8 последователно намалява;
- хромозомите от клас 11 могат да са малко по-дълги от хромозомите от клас 8;
- хромозомите от класове 9, 10 и 12 могат да са по-дълги от хромозомите от класове 8 и 11;
- обикновено относителните дължини на хромозомите от клас 11 са в интервала, даден в Таблица 1;
- след хромозомите от клас 13 дължините постепенно спадат, като до клас 18 са почти еднакви;
- дължината на X-хромозомата е между дължините на хромозомите от класове 6 и 7.

След подреждането по дължина се отчитат центромерните индекси на хромозомите, показани в Таблица 1, като се използват и следните евристични правила:

- хромозомите от клас 11 са по-метацентрични, т.е. късото рамо е $1/3$ до $1/2$ от дължината на цялата хромозома;
- хромозомите от клас 12 имат центромерен индекс строго по-малък от $1/3$.

б) класификация въз основа на ивиците в лентово оцветени хромозоми;

Вътре в групите на Денвър хромозомите могат да се класифицират само въз основа на техните специфични лентови образи. По-долу следва описание на най-ярките характеристики на лентово оцветени хромозоми и на евристиките за тяхната класификация:

- от класифицираните в група на Денвър А хромозоми в клас 1 са тези две хромозоми, които имат широка бяла ивица в началото - първата $1/3$ - на късото рамо, широка бяла ивица над центромера и/или широка бяла ивица под центромера;
- за хромозомите от клас 2 лентовият образ не е от значение – в сила е класификацията по дължина и центромерен индекс;
- хромозомите от клас 3 имат по една широка светла ивица на двете рамена, симетрично разположени спрямо центромера и тъмна ивица над и под центромера; По-важно е, че тази хромозоми са метацентрични;
- от група на Денвър В в клас 4 са тези две хромозоми, които имат тъмна ивица веднага под центромера; в клас 5 този участък е светъл; има равномерни ивици по дългото рамо - редуват се светли и тъмни участъци;
- в клас 5 са тези две хромозоми, които имат светла ивица веднага под центромера и в клас 4 тази ивица е тъмна; 3 големи тъмни ивици на дългото рамо, често слети в един тъмен блок;
- в клас X са тези две хромозоми от група на Денвър С, които са по размер между клас 6 и клас 7, имат широка бяла ивица около центромера, която липсва в съседните класове, 2 широки тъмни ивици на късото и дългото рамо, разположени на равни разстояния от центромера и тъмната ивица на дългото рамо е разположена на $1/3$ от рамото;
- в клас 6 са тези две хромозоми, които имат широка бяла ивица на късото рамо, тъмна ивица около центромера и не са метацентрични;
- в клас 7 са тези две хромозоми, които имат широка тъмна ивица, която почти стъпва на края на късото рамо, 2 много-тъмни ленти на дългото рамо и широка бяла ивица на края на дългото рамо;
- в клас 8 са тези две хромозоми, които имат широка бяла ивица в средата на късото рамо и широка тъмна наситена ивица на края на дългото рамо;
- в клас 9 са тези две хромозоми, които имат широка черна ивица в средата на късото рамо, където в клас 8 тази ивица е бяла, 2 широки черни ивици на дългото рамо и над и под центромера е светло;
- в клас 10 са тези две хромозоми, които имат 3 тъмни ленти на дългото рамо, които постепенно намаляват по големина и интензивност;
- в клас 11 са тези две хромозоми, които имат ЦИ по-голям от ЦИ на клас 12, широка бяла ивица под центромера и широка тъмна ивица на дългото рамо, по-голяма от тази в клас 10;
- в клас 12 са тези две хромозоми, които имат тъмна лента точно под центромера, по интензивна от тази в клас 11, светла лента под горната, по-тъмна от тази в клас 11 и тъмна лента на дългото рамо;
- в клас 13 са тези две от класифицираните в група на Денвър D хромозоми, които имат тъмен участък на дългото рамо;
- в клас 14 са тези две хромозоми, които имат тъмен участък на дългото рамо, по-светъл от този в клас 13;

- в клас 15 са тези две хромозоми, които имат тъмен участък на дългото рамо, по-светъл от този в клас 14;

Или обобщено: хромозомите от група D се подреждат в низходящ ред на интензивността тъмните участъци на дългото рамо;

- в клас 16 са тези две от класифицираните в група на Денвър E хромозоми, които имат тъмна ивица непосредствено под или около центромера, по-голямата част на дългото рамо;
- в клас 17 са тези две хромозоми, които имат широка бяла ивица на късото рамо точно под центромера и широка тъмна ивица на дългото рамо;
- в клас 18 са тези две хромозоми, които имат 2 широки ленти, разположени в горния и долния край на дългото рамо;
- в клас 19 са тези две от класифицираните в група на Денвър F хромозоми, които имат бледи рамене и малко по-тъмна ивица около центромера;
- в клас 20 са тези две хромозоми, които имат късо рамо малко по-тъмно от дългото;
- в клас 21 са тези две от класифицираните в група на Денвър G хромозоми, които имат тъмна ивица на дългото рамо под центромера;
- в клас 22 са тези две хромозоми, които имат слабо интензивна тъмна ивица близо около центромера; тези хромозоми са по-бледи от тези в клас 21;
- Y-хромозомата няма тъмни ивици коло центромера, както в клас 21 и 22; тази хромозома има и по-тъмна ивица в края на дългото рамо – от по-широка и тъмна до по-тясна и бледа.

2.4.2. Методи за автоматична класификация на хромозоми.

а) метод за автоматична класификация на хромозоми в зависимост от тяхната дължина и центромерен индекс;

След експериментално подреждане по дължина на хромозомите от 15 реални предварително класифицирани метафази, бяха изведени следните евристични правила, които са онагледени и на фиг. 2.9:

Въз основа на описаните в точка 2.4.1-а евристични правила на специалистите-цитогенетици и на така определените експериментално евристики е построен описаният по-долу метод [21] за автоматична класификация на хромозоми в зависимост от техните дължини и центромерни индекси.

от група G. Те се подреждат по намаляване на стойностите на центромерните им индекси.

6. По-нататък, измежду 28-ма до 40-та по дължина хромозоми за група E се избират тези шест, които имат най-големи центромерни индекси и се подреждат по намаляване центромерните им индекси.
7. За група D се избират от 24-та и 40-та по дължина хромозоми тези шест, които имат най-малки центромерни индекси, и се подреждат по намаляване на дължините им.
8. Оставащите хромозоми (те могат да бъдат от 5-та до 27-ма в зависимост от дължината) са от група C.
 - От тях двете най-къси с центромерен индекс между 37.812% и 42.468% са от клас 11 (Таблица 1).
 - От останалите хромозоми тези шест, които имат най-големи стойности на центромерния индекс са: двете най-дълги - от клас 6, следващите две или само една - X-хромозоми, а най-късите две - от клас 7.
9. Останалите хромозоми се подреждат по намаляване на стойността на центромерния индекс и се разпределят в класовете 8, 9, 10 и 12.

б) метод за автоматична класификация на хромозоми въз основа на признаци на ивиците в лентово оцветени хромозоми;

След експериментална класификация по дължина и центромерен индекс на 12 реални метафазни изображения всички хромозоми бяха правилно разпределени в групи на Денвър. Въз основа на описаният в точка 2.4.1-б метод за ръчна класификация въз основа на ивиците на лентово оцветени хромозоми и на така получените експериментални резултати беше построен следния метод за автоматична класификация въз основа на ивиците в лентово оцветени хромозоми:

1. За класифицираните в група на Денвър A хромозоми е в сила класификацията по дължина и центромерен индекс.
2. От хромозомите от група на Денвър B в клас 4 са тези две от тях, при които участъкът непосредствено под центромера е най-светъл (подреждат се в низходящ ред на градациите на яркост).
3. От хромозомите в група на Денвър C за тези от класове 6, X, 11 и 12 е в сила класификацията по дължина и центромерен индекс.

4. От хромозомите класифицирани в класове 7 и 8 за клас 7 се избират тези две, които имат най-тъмно черни ивици на дългото рамо (ивици с най-малки градации на яркост).
5. От хромозомите класифицирани в класове 8, 9 и 10 за клас 9 се избират тези две от тях, които имат най-тъмно черна ивица на късото рамо (най-малка градация на яркост).
6. От оставащите хромозоми класифицирани в клас 8 и 10 тези от клас 8 имат черна ивица на края на дългото рамо, която е по-тъмна от черната ивица на края на дългото рамо на хромозомите от клас 10 (има по-малка градация на яркост).
7. Хромозомите класифицирани в група на Денвър D се подреждат във възходящ ред на градациите на яркост на тъмната част на дългото рамо – от по-тъмно към по-светло.
8. От хромозомите класифицирани в група на Денвър E в клас 17 се поставят тези две, които имат най-светло дълго рамо (най-голяма стойност на яркостта).
9. От останалите четири хромозоми в клас 16 са тези две от тях, които имат по-светло късо рамо (по-голяма стойност на яркостта).
10. Останалите две са от клас 18.
11. От хромозомите класифицирани в група на Денвър F в клас 19 са тези две от тях, които имат тъмен участък над и/или под центромера.
12. Късото рамо на хромозомите от клас 20 е по-тъмно от дългото (има по-малка яркост).
13. От хромозомите класифицирани в група на Денвър G тези от клас 22 имат тъмна ивица под центромера с по-голяма градация на яркост от тъмната ивица в клас 21.
14. За хромозомата класифицирана в клас Y е в сила класификацията по дължина и центромерен индекс.

Така описаните методи за класификация на хромозоми представляват поредица от строго определени евристични правила, които лесно могат да бъдат реализирани програмно във вид на процедури. Описаният по-горе начин за класификация на хромозоми е сходен с начина, по който се извършват тези дейности при ръчния анализ на хромозоми. Подреждането на хромозомите в зависимост от техните относителни дължини и центромерни индекс се извършва както за еднородно, така и за лентово оцветени хромозоми. В първия случай в диалогов режим могат да се доуточнят класовете на някои хромозоми.

Във втория случай допълнителното уточняване се извършва въз основа на характеристиките на ивиците чрез съответен метод за пренареждане на хромозомите. Използва се символно описание на ивиците, като за всеки хромозомен клас се използват различен брой ивици. Пренареждането се извършва само за тези хромозоми, които не могат да се класифицират правилно според относителните им дължини и центромерни индекси [21].

Глава 3. Използване на средствата на обектно-ориентираното програмиране при организиране на работата на системата CAIS.

В процеса на разработването на системата CAIS бяха направени следните изводи. Поради спецификата на работата, която тя трябва да извършва, нейната обща схема се основава на общата схема на съвременните системи за автоматичен анализ на хромозоми. Анализът и класификацията на хромозоми с помощта на такива системи се извършва на три етапа: предварителна обработка, анализ и класификация. Това означава, че процесът на решаване на задачата се състои от решаването на отделни подзадачи. Всяка подзадача се решава с използването на различни методи, които се комбинират по различен начин в зависимост от подзадачата. От друга страна, информацията с която работи системата, изисква точно определени методи за нейната обработка. Тези методи представляват знания от различни проблемни области - обработка и анализ на изображения, и класификация на хромозоми. Накрая, действията, които се извършват за получаване на задоволителна класификация, имат определена последователност. Тези изводи доведоха до идеята да се приложи обектно-ориентиран подход при организацията и управлението на системата CAIS, като данните и процедурите се организират във вид на класове от обекти [18,22].

3.1. Основни принципи на обектно-ориентираното програмиране.

Процедурно ориентираните езици за програмиране поддържат парадигмата "програми-данни". Това означава, че активни процедури работят с подадени им пасивни данни, като вниманието е съсредоточено върху програмите. Обектно-ориентираното програмиране е ориентирано към данните. Вместо да се предават данни, извършва се обръщение към обекти, които да

извършат определени действия. Обектите представляват потенциално активни абстрактни структури от данни, които представят различни типове информация, както и начините за нейната обработка [76]. Всеки обект се състои от две части: съвкупност от променливи и съвкупност от методи. Променливите са статичната част от данните. Те представят информацията, която трябва да се обработва, и са скрити за потребителя. Методите са динамичната част от данните. Всеки метод представлява съвкупност от процедури. Те работят с данните и осъществяват достъпа на потребителя до тях. Всеки обект се характеризира със своето състояние. Обектите се групират в класове еднотипни обекти. Обектите от един и същ клас имат едни и същи методи. Пресмятанията с помощта на обекти се осъществява посредством обмен на съобщения между обектите. Съобщенията активизират някои от методите на обектите, което предизвиква изпращане на съобщения до други обекти, докато се стигне до примитивен метод, който променя състоянието на един или повече обекта.

Обектно-ориентираният подход има следните основни характеристики [76,77]:

- **скриване на информацията** - това е възможността данните да са скрити за потребителя и достъпът до тях да става само посредством методите на обекта, активизирани от получени съобщения. Това дава възможност да се намалят вътрешните връзки между отделните части на програмната система, което от своя страна осигурява по-голяма гъвкавост и лесно модифициране на програмите;
- **абстрактност на данните** - отнася се до начина, по който се използва скриването на информацията. Дефинират се абстрактни типове данни, състоящи

се от вътрешното представяне на данните и множество методи, които работят с тези данни и единствени имат достъп до тях;

- **динамично свързване** - означава едно и също съобщение да предизвика различни действия в зависимост от получателя. Тази характеристика се нарича полиморфизъм и се основава на обмена на информация посредством съобщения;

- **наследяване** - възможност обектите да се групират в класове. Обектите от по-долните нива наследяват всички променливи и методи на обектите от по-горните нива. По този начин могат да се дефинират нови класове от обекти като подкласове на вече съществуващите, като се дефинират само разликите от променливите и методите на по-горния клас, което силно съкращава разширяването на програмната система.

Обектно-ориентираният подход е особено удобен при описанието на определена последователност от действия, на процес или на няколко взаимно свързани процеса. Затова през последните години той намира все по-широко приложение в областта на обработката на изображения.

3.2. Описание на класовете обекти, с които работи системата CAIS.

Работата на системата CAIS включва два типа дейности: обработка и анализ на изображения, и класификация на хромозоми. Извършва се обработка и анализ на конкретен тип изображения - двумерни растерни черно-бели изображения на биологични обекти, наблюдавани под микроскоп. Класификацията на хромозоми се извършва по определени от специалистите-цитогенетици евристични правила [3,8,9]. Тези дейности се извършват в определена последователност - най-напред се извършва предварителна

обработка на изображението, след това се определят характеристики за всеки обект от изображението, а накрая се извършва класификация на тези обекти в зависимост от техните характеристики. Всяка от тези дейности представлява отделна подзадача на главната задача, която системата трябва да реши - построяване на задоволителен кариотип на дадена метафаза. От друга страна, всяка от тези подзадачи се решава с помощта на специфични процедури, които използват определени типове данни. Данните са скрити за потребителя и се използват само чрез процедурите. Тези данни и процедури притежават някои общи свойства и в зависимост от подзадачата могат да бъдат групирани в потенциално активни абстрактни типове данни, каквито са класовете обекти. По този начин е възможно да се намалят връзките в системата и да се осигури нейната по-добра организация, както и нейното лесно модифициране и разширение. Това означава, че обектно-ориентираният подход може да се използва за представяне на знания от процедурен тип. В случая това са знанията от областта на обработката на изображения и от областта на класификацията на хромозоми.

Системата CAIS включва два типа класове:

- за обработка, анализ и класификация на изображения;
- за взаимодействие със системата.

3.2.1. Класове за обработка, анализ и класификация на изображения.

а) клас **Image** - двумерно растерно микроскопско изображение;

Предварителната обработка и анализа на изображения на метафази и хромозоми се основава на обработката на микроскопски изображения на биологични обекти. Характерното за този вид изображения е, че те представляват сравнително добре отделени обекти, разположени на почти

еднороден рязко отличаващ се от тях фон, т.е. светли обекти на тъмен фон или тъмни обекти на светъл фон.

Стандартните процедури за обработка на изображения, като медианна филтрация, получаване на негатив, сегментация, откриване на контур и др., описани в глава 2, дефинирани като методи, и съответните им данни, като матрицата с изображението, размерите, прагови стойности в градациите на яркост и др., са организирани като клас обекти, наречен **Image**.

Основните компоненти на класа: **Image** са:

Dib – указател към битова карта на изображение (bitmap);

PixelWidth – ширина на изображението;

PixelHeight – височина на изображението;

– конструктори:

Image – създава “празен” обект на класа Image;

Image – създава обект на класа Image от битова карта;

– деструктор:

~Image – унищожаване на обекти от клас Image;

– функции за зареждане на изображение от файл и за запис на изображение във файл:

readBMP - зареждане на във формат BMP;

write – запис на поредица от изображение във формат BMP;

readPIC - зареждане на изображение във формат PIC;

read - зареждане на поредица от изображения във вид на поток

writeBMP – запис на изображение изображения във вид на поток;

– методи за предварителна обработка на изображения:

MedFilter – извършване на медианна филтрация. В резултат от действието на функцията се получава ново изображение;

Neg – получаване на негатив. Резултатът се получава в същото изображение;

Threshold – определяне на прагова стойност в градациите на яркост. В резултат от действието на функцията се получава ново изображение;

Rotate - ротация на изображение на определен ъгъл. В резултат от действието на функцията се получава ново изображение;

Bands – откриване на ивици в изображение на лентово оцветена хромозома. В резултат от действието на функцията се получава ново изображение на хромозома, съдържащо само ивиците в нея;

Isolate – изолиране на обектите в изображението при зададен предварително праг в градациите на яркост. В резултат от действието на функцията се получава изображение от тип **Methaphase**, което се състои от поредица изображения на изолираните обекти. Тази функция използва защитената функция **MoveObject**.

MoveObject - прехвърляне на изолирания обект в ново изображение. Едновременно с изолирането на всеки обект се определят дължината и ширината на изображението, което го съдържа, както и неговата площ. Тези данни се съхраняват структура данни **ObjectInfo**

ObjectInfo – структура данни за съхраняване на информация за всеки изолиран обект от изображението. Тя съдържа:

iMin – начална стойност по Y-направлението на областта в оригиналното изображение, съдържаща обекта;

iMax – крайна стойност по Y-направлението на областта в оригиналното изображение, съдържаща обекта;

jMin - начална стойност по X-направлението на областта в оригиналното изображение, съдържаща обекта;

jMax – крайна стойност по X-направлението на областта в оригиналното изображение, съдържаща обекта;

area – площ на изолирания обект

б) подклас **Chromosome** – изображения на хромозоми.

Изображенията на хромозоми представляват черно-бели микроскопски

изображения и данните и процедурите от този клас могат да се използват за обработка и анализ на изображения на хромозоми. Необходими са специфични данни и процедури за представяне на позицията на хромозомата в метафазното изображение, площ на хромозомата, дължина и центромерен индекс, откриване на ивиците в лентово оцветени хромозоми, подреждане по площ. Тези данни и процедури са организирани като клас обекти **Chromosome**, който е подклас на класа **Image**.

Основните компоненти на класа **Chromosome** са:

xPos – начална позиция на хромозомата по X-направлението на изображението;

yPos – начална позиция на хромозомата по Y-направлението на изображението;

Area – площ на хромозомата;

Centromere - позиция на центромера; представя се като двойка координати във вид на обект;

A1 – крайна точка на късото рамо; представя се като двойка координати във вид на обект;

A2 - крайна точка на дългото рамо; представя се като двойка координати във вид на обект;

Length – дължина на хромозома;

CentIndex – центромерен индекс на хромозома;

ChromClass – хромозомен клас: **0** - класът е неопределен; **1 до 22** - клас 1 до 22 съответно; **23** – клас X; **24** - клас Y;

ClassifiedBy –променлива, отразяваща метода за класификация: **0** – класификация по дължина и центромерен индекс; **1** – класификация въз основа на ивиците; **2** – ръчна класификация;

BandsVector – вектор с ивиците;

BandsVectorLength – дължина на вектора с ивиците;

BandsVectorCentromere – позиция на центромера във вектора с ивиците;

NumBands – брой ивици в хромозомата;

DetBands – динамичен масив от обекти от клас **ChromosomeBand** с данни за откритите ивици;

– конструктори:

Chromosome - създаване на “празен” обект от клас **Chromosome**;

Chromosome – създаване на обект от клас **Chromosome** от битова карта;

– деструктор:

~Chromosome – унищожаване на обекти от клас **Chromosome**

– Оператори за сравняване на площите на хромозомите:

operator== - оператор за равенство;

operator< - оператор “по-малко”;

– методи за анализ на хромозоми:

CentromerePosition – определяне на позицията на центромера;

SetUpright – поставяне на хромозомите изправени;

BandsDetect – откриване на ивиците в лентово оцветени хромозоми;

в) клас **Methaphase** – изолирани хромозоми в метафаза;

Изолираните хромозоми също са черно-бели микроскопски изображения.

Затова данните и процедурите от класа **Image** могат да се използват за обработка и на такива изображения. Освен това са необходими и специфични данни и процедури за обработка на изображения на хромозоми, като брой изолирани хромозоми, визуализация на изолираните хромозоми, разделяне на допиращи се и припокриващи се хромозоми, анализ на ивиците, класификация на хромозоми по тяхната дължина и центромерен индекс, пренареждане на лентово оцветени хромозоми в зависимост от ивиците. Тези данни и процедури са организирани като клас обекти **Methaphase**.

Основните компоненти на класа **Methaphase** са:

Chroms – динамичен масив от обекти от клас **Chromosome**;

MaxHeight – максимална височина на изображение на хромозома;

MaxWidth – максимална шипина на изображение на хромозома;

Threshold – прагова стойност в градиентите на яркост;

CIFound – флаг за означаване дали е открит центромера;

IsClassified – флаг за означаване дали хромозомите от дадената метафаза са класифицирани;

– конструктор:

Methaphase – създава “празен” обект на клас **Methaphase** с 64 “празни” елемента в масива **Chroms**;

– деструктор:

~Methaphase – унищожава обекти на класа **Methaphase**;

– методи за класификация на хромозоми:

NumChroms – функция за определяне на броя на елементите в масива **Chroms**;

Add – добавяне на обект от клас **Chromosome** в масива **Chroms**;

SortByLength – сортиране на хромозомите в прозореца по дължина;

SortByClass – сортиране на хромозомите в прозореца в зависимост от класа;

BandsDetect – откриване на ивиците на всички хромозоми от дадената метафаза;

Classify – класификация на хромозомите по дължина и центромерен индекс;

ClassifyByBands – класификация въз основа на ивиците в лентово оцветени хромозоми;

ClearClassification – изтриване на класификацията;

SetUpright – подреждане на хромозомите в прозореца изправени;

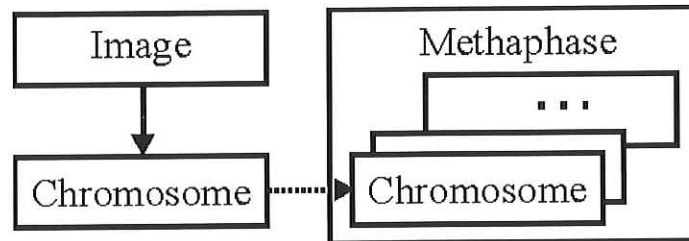
Karyotype – изобразяване на кариотип съгласно цитогенетичните стандарти;

Write – запис на протокол от класификацията в текстов файл;

write - запис на метафазно изображение във файл във вид на поток;

read - четене на метафазно изображение от файл във вид на поток;

Описаните дотук класове обекти се използват за обработка, анализ и класификация на изображения на хромозоми. Йерархията на тези класове е показана на фиг. 3.1:



Фигура 3.1. Йерархия на класовете за обработка, анализ и класификация на хромозоми

г) клас **ChromosomeBand** – описание на ивиците в лентово оцветени хромозоми;

Този клас съдържа само данни за ивиците на лентово оцветените хромозоми. Тези данни се използват при класификацията на лентово оцветени хромозоми. За всяка открита ивица в хромозомата се съхранява информация дали ивицата е на късото или на дългото рамо, какъв е цветът ѝ – светъл или тъмен, средно значение и стандартно отклонение в градациите на яркост, начало и край на ивицата:

Основните компоненти на класа **ChromosomeBand** са:

Arm –рамо: '*p*' - късо рамо, '*q*' – дълго рамо

Colour -цвят: *0* – черно (тъмно), *255* –бяло (светло)

Mean – средно значение на яркостта

StdDev – стандартно отклонение на яркостта

Start – начало на ивицата

End – край на ивицата

д) класове за съпоставяне на ивиците в лентово оцветени хромозоми с предварително зададени образци - идиограми на маркерните участъци;

За съпоставяне на ивиците с предварително зададени идиограми на

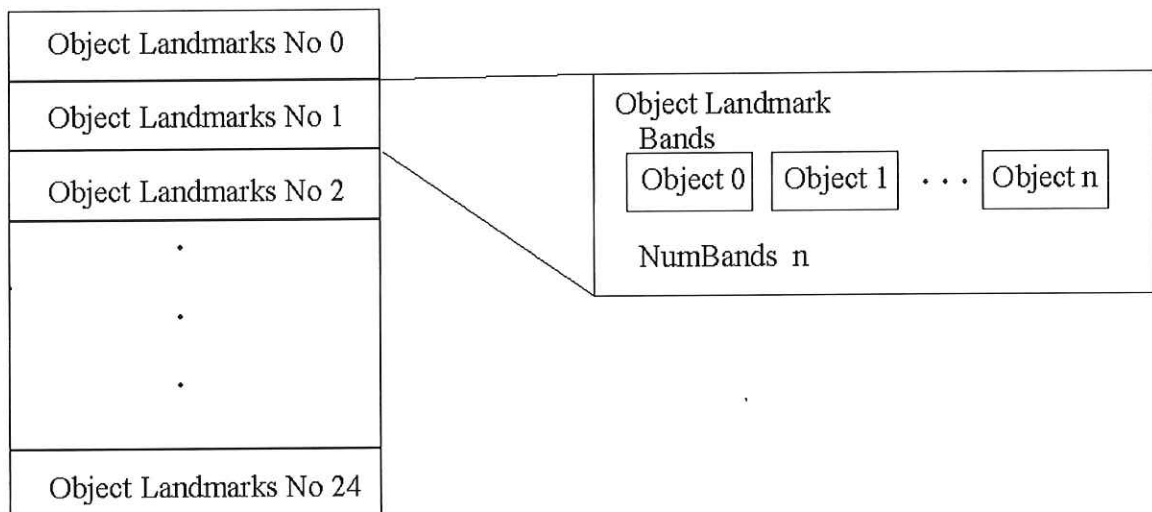
маркерните участъци е построен масив наречен **ClassLandmarks**. Той съдържа обекти, наречени **Landmarks**. Броят им е 24, колкото са хромозомните класове. Всеки такъв обект представлява динамичен масив от обекти от клас **Band** (Фиг.

3.2). Той съдържа:

- **Band pointers** – указател на ивицата;
- **Number of bands** – брой ивици.

Характеристиките на всеки отделен маркерен участък на хромозомата са:

- **Arm** – рамо на хромозомата;
- **Position** – позиция в хромозомата;
- **Color** – цвят;
- **Start** начало;
- **End** – край.



Фигура 3.2 Динамичен масив от обекти

Макетите на класовете за обработка и анализ на изображения могат да се видят в приложението.

3.2.2. Класове за управление и за взаимодействие със системата.

Тези класове съдържат данни и процедури, които активизират методите от класовете за обработка, анализ и класификация на хромозоми и осъществяват

диалог с потребителя. Взаимодействието между класовете се осъществява посредством средствата на Windows за управление, за изобразяване и за диалог с потребителя.

а) клас **ImageMDIClient**;

С помощта на методите от този клас се създава главния прозорец на системата, чрез който се извършват управлението и диалога с нея. Осъществява се връзка с класовете **ImageWindow**, **MethaphaseWindow**, **ChromosomeWindow** и **EditFrameWindow** във вариантите му съответно за редактиране на изображение на цяла метафаза и за редактиране на отделна хромозома.

б) клас **ImageWindow**;

Този клас е основен за работата със системата. Дава възможност да се извършва четене, запис и съхраняване на изображение, да се показва изображение с различен мащаб, да се извършва медианна филтрация, да се редактиран изображение, да се определи прагова стойност в градациите на яркост и да се изолират обектите в изображението.

в) клас **MethaphaseWindow**;

Този клас позволява изобразяване на изолираните обекти от метафазното изображение и работа както с отделен обект, така и с всички обекти от метафазата.

За всеки отделен обект от метафазното изображение може да се извърши изобразяване на информация за обекта, редактиране на обекта, изтриване, смяна на клас, откриване на ивици, съпоставяне на ивици с еталон, сравняване на отделни ивици.

За всички обекти от метафазното изображение се извършва определяне на позицията на центромера, изобразяване на обектите, сортирани по дължина, изобразяване на обектите, сортирани по клас, запис на данните за метафазата, класификация на обектите в метафазата, изтриване на класификацията, изобразяване на обектите изправени, определяне на признаци на ивиците, изобразяване на информация за метафазното изображение.

г) клас **ChromosomeWindow**;

Изобразява отделна хромозома и позволява нейното редактиране.

д) клас **EditFrameWindow**;

Създава се рамка за редактиране на изображение на метафаза и на отделен изолиран обект.

е) клас **EditImageWindow**;

Наследник на класа **EditFrameWindow**. Създава се в два варианта: за редактиране на изображение на цяла мегафаза и за редактиране на отделна хромозома.

ж) клас **InfoWindow**;

Служи за изобразяване на информация за изображение на метафаза и на хромозома, като брой изолирани обекти в метафазата, прагова стойност, дължина, центромерен индекс и клас на всяка отделна хромозома.

з) клас **CompareWindow**;

Позволява да се съпоставят визуално изолираните ивици в дадена хромозома със зададен образец. Показват се едни до други хромозомата, изолираните ивици и образца.

и) клас **KaryoWindow**;

Позволява да се показва кариотип – хромозомите по двойки с отбелязване на класа съгласно цитогенетичната номенклатура. Ако е извършена успешна класификация, хромозомите се показват по класове. Ако не е извършена класификация, хромозомите са подредени в низходящ ред на дължините им, като в горния край на хромозомата се поставя знак “*”. Ако са класифицирани само част от хромозомите, те се поставят на съответстващите на класовете им места, а останалите се подреждат на свободните места в нисходящ ред на дължините им и се отбелязват като хромозоми без клас, както по-горе. Ако в един клас са поставени повече от две хромозоми, допълнителните хромозоми се поставят, както хромозомите без клас, и се отбелязват в горния край със знак “*”, следван от номера на класа, към който са били класифицирани. Изображеният кариотип може да се запази във файл във формат BMP и да бъде използван за документиране на направената класификация.

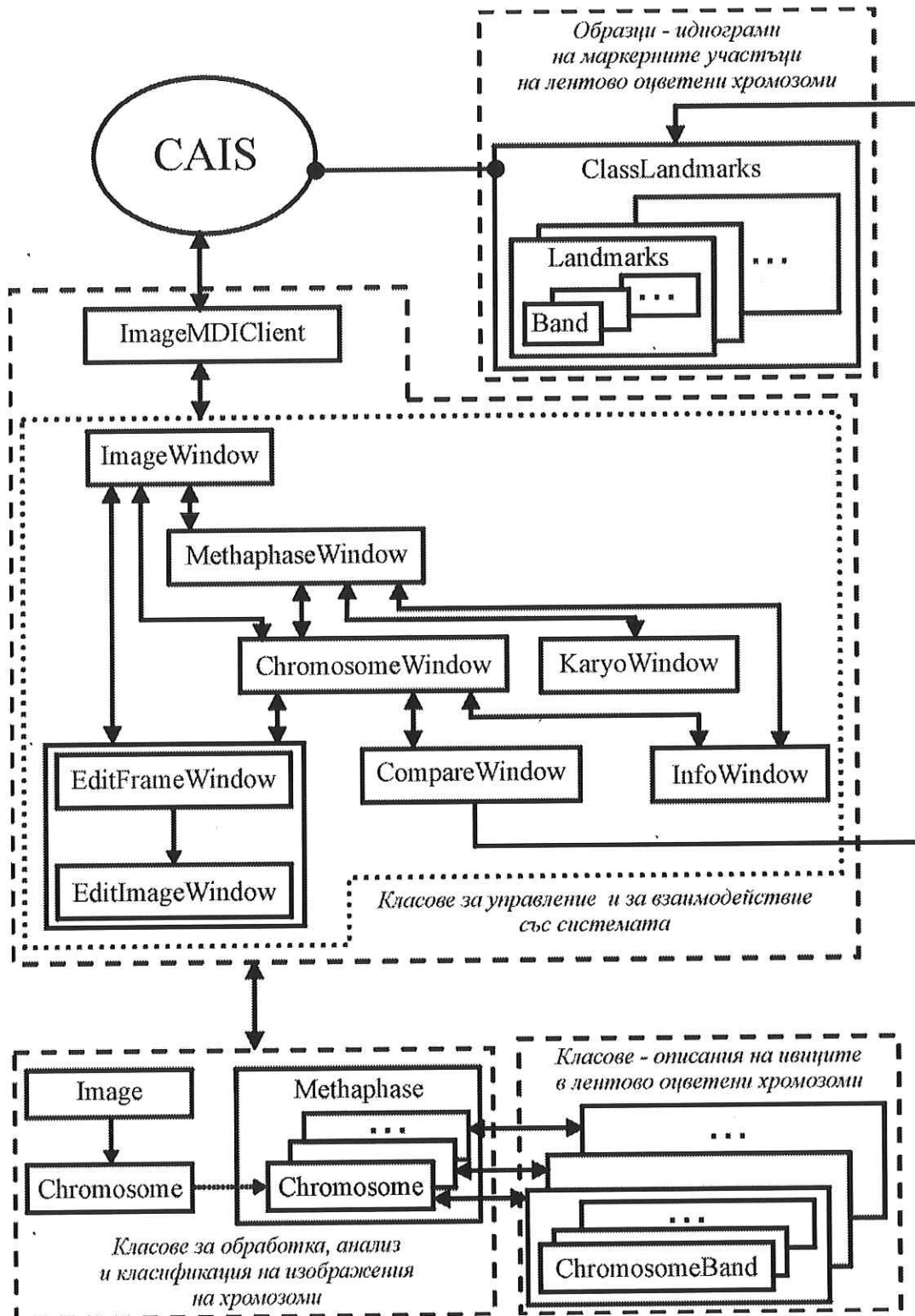
Макетите на класовете за управление и за взаимодействие със системата могат да се видят в приложението.

3.3. Взаимодействие между класовете в системата.

Обектите от отделните класове взаимодействат помежду си посредством съобщения. Системата CAIS работи под управлението на MS Windows и използва стандартните средства на MS Windows за обработка на съобщения. Взаимодействието между отделните части на системата е изобразено на фиг.

3.3.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100



Фигура 3.3. Взаимодействие между обектите в CAIS.

Глава 4. Реализация на експериментална система CAIS за анализ и класификация на хромозоми

Експерименталната система CAIS за анализ и класификация на хромозоми представлява конкретна реализация на описаните в глава 2 методи за анализ и класификация на хромозоми и се основава на принципите на обектно-ориентираното програмиране, описани в глава 3.

При разработването на системата CAIS е използван подход, който принципино се различава от подходите, използвани в съществуващите системи за автоматичен анализ на хромозоми:

- Както при анализа, така и при класификацията на хромозоми се използват формализирани по определен начин цитогенетични знания.
- Методът за определяне на позицията на центромера е сходен с метода при ръчната класификация на хромозоми и може успешно да се приложи както при прави, така и при извити хромозоми.
- Методът за класификация на хромозоми въз основа на техните дължини и центромерни индекси също е сходен с начина, по който се извършват тези дейности при ръчния анализ на хромозоми. При това подреждането се извършва по един и същи начин както за еднородно, така и за лентово оцветени хромозоми.
- При класификация на лентово оцветени хромозоми се извършва допълнително уточняване на хромозомните класове, като се използва символно описание на характеристиките на ивиците.
- Използването на евристични правила позволява дървовидна класификация - първо в денвърските групи, а след това по класове вътре в групите. Такова

разделяне на класификацията на етапи позволява да се съкрати работата по откриване и анализ на ивиците на лентово оцветените хромозоми.

- Методите за класификация на хромозоми представляват поредица от строго определени евристични правила, които лесно могат да бъдат реализирани програмно във вид на процедури, а процедурите да бъдат организирани в класове от обекти.
- Скриването на информацията и абстрактността на данните дават възможност да се намалят вътрешните връзки между отделните части на системата, което осигурява по-голяма гъвкавост и лесно модифициране и усъвършенстване на програмите.
- Наследяването и динамичното свързване осигуряват икономичност на системата, тъй като се дава възможност дадена процедура да бъде дефинирана само на едно място в системата.
- Възможността да се добавят нови класове обекти дава възможност системата лесно да бъде разширена или модифицирана за извършване на анализ и класификация на други типове изображения.
- При работата със системата са достъпни всички етапи от обработката, анализа и класификацията на хромозоми. Това дава възможност потребителят сам да контролира процеса на анализ и класификация на хромозоми.
- Както изображението на метафаза, така и изображението на отделна хромозома може да бъде редактирано ръчно.
- Изображението на отделна хромозома и изолираните ивици могат да се сравняват с образец от стандартната идиограма за определен клас, което

улеснява уточняването и коригирането на хромозомните класове в диалогов режим.

- Възможно е потребителят предварително да зададе някои класове, да повтори някои от обработките, след което да повтори класификацията.
- Във всеки момент от работата на системата потребителят може да получи информация за метафазата, за отделна хромозома, за резултата от съпоставяне на ивици с лентов образец и за начина на класификация, както и справка за процеса на класификация.

Експерименталната система CAIS е написана на езика за обектно-ориентирано програмиране Borland C++/5.0 за MS Windows.

Работата със системата се състои от няколко основни групи операции:

- зареждане на изображение от файл;
- предварителна обработка;
- изолиране на хромозомите в изображението;
- извличане на признаци на хромозомите
- класификация;
- запис на изображение във файл.

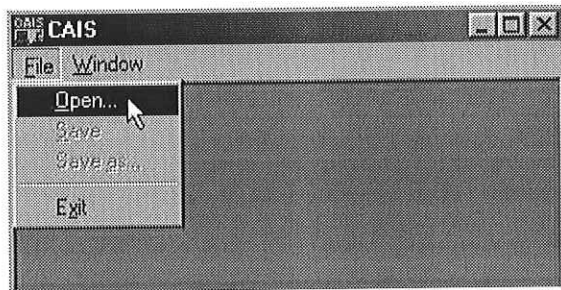
4.1 Зареждане на изображение от файл.

Файловете с изображенията се въвеждат с помощта на командата **Open** от менюто **File** (Фиг. 4.1). Системата работи с 8-битови изображения с 256 градации на сивото в следните графични формати: Windows Bitmaps (BMP), Tagged Image File Format (TIFF) и Raw Image Format (PIC), както и със създадени от системата файлове от тип Methaphase (MTH), съдържащи изолирани хромозоми.

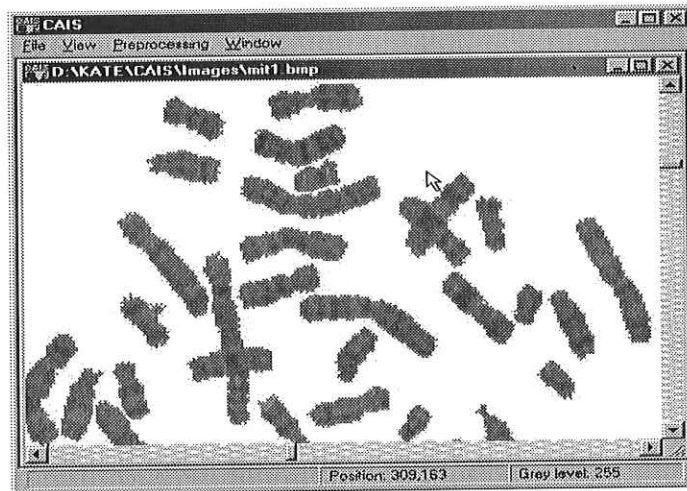
Фигура 4.2 показва изображението след зареждането му от файл. В долния

край на прозореца се показват текущата позиция на курсора и стойността на яркостта в тази позиция.

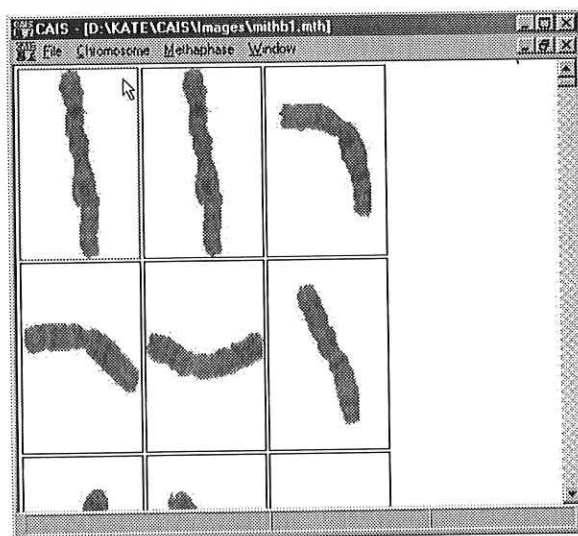
Фигура 4.3 показва зареден файл от тип Methaphase.



Фигура 4.1. Зареждане на изображение от файл.



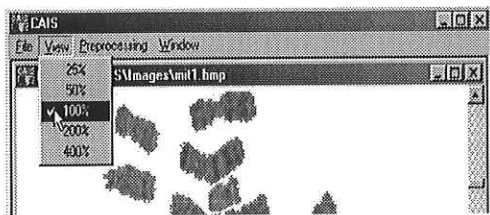
Фигура 4.2. Метафаза.



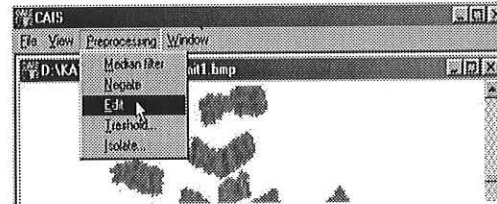
Фигура 4.3. Изолирани обекти.

След зареждането на изображението стават достъпни менютата **View**, за показване на изображението в различен мащаб (Фиг. 4.4-а) и **Preprocessing** за предварителна обработка (Фиг. 4.4-б).

При избиране съответния ред от менюто **View** изображенията могат да бъдат показвани в мащаб 25%, 50%, 100%, 200% или 400%.



а) меню за мащабиране;



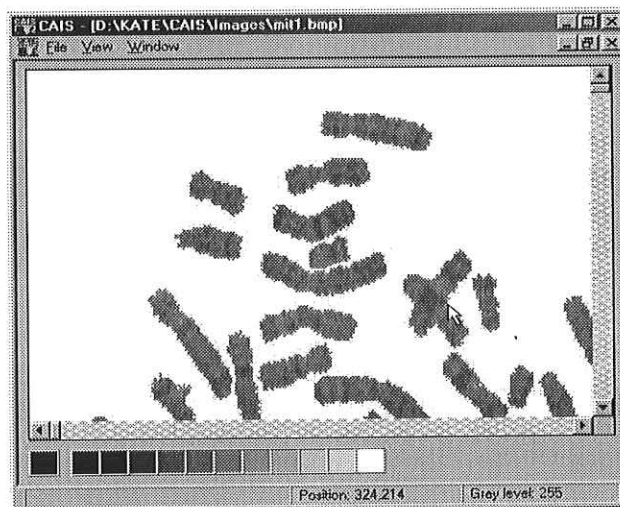
б) меню за предварителна обработка;

Фигура 4.4. Менюта за предварителна обработка на изображение.

4.2 Предварителна обработка.

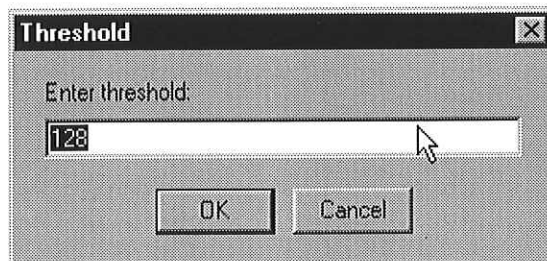
Процедурите за предварителна обработка **Median filter** за медианна филтрация и **Negate** за получаване на негатив могат да бъдат активирани от съответните редове на менюто **Preprocessing** (Фиг. 4.4-б).

От полето **Edit** на същото меню се активизира процедура за редактиране на изображение в специален предвиден за целта прозорец (Фиг. 4.5).



Фигура 4.5. Редактиране на изображение.

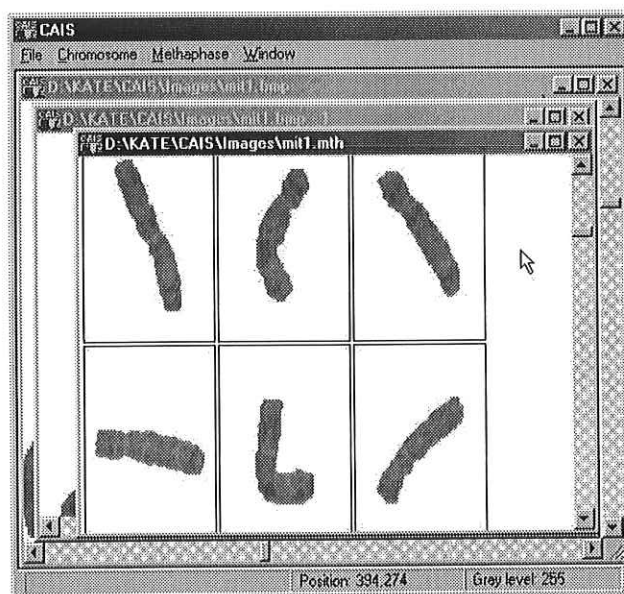
Чрез избиране на полето **Threshold** се дава възможност да се въведе прагова стойност в градациите на яркост. Новата стойност се въвежда чрез съответен диалогов прозорец (Фиг. 4.6).



Фигура 4.6. Въвеждане на прагова стойност в градациите на яркост.

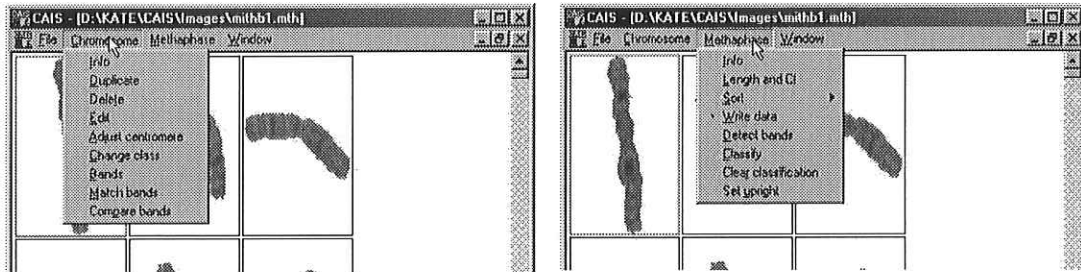
4.3 Изолиране на хромозомите в изображението.

Изолирането на отделните хромозоми може да бъде извършено, като се стартира процедурата **Isolate** от менюто **Preprocessing** и се въведе прагова стойност на яркостта в диалогов прозорец (Фиг. 4.6). Резултатът от изолирането се изобразява в нов прозорец (Фиг. 4.7). Всеки изолиран обект се показва в отделен правоъгълник. Обектите са подредени в низходящ ред на големината на тяхната площ.



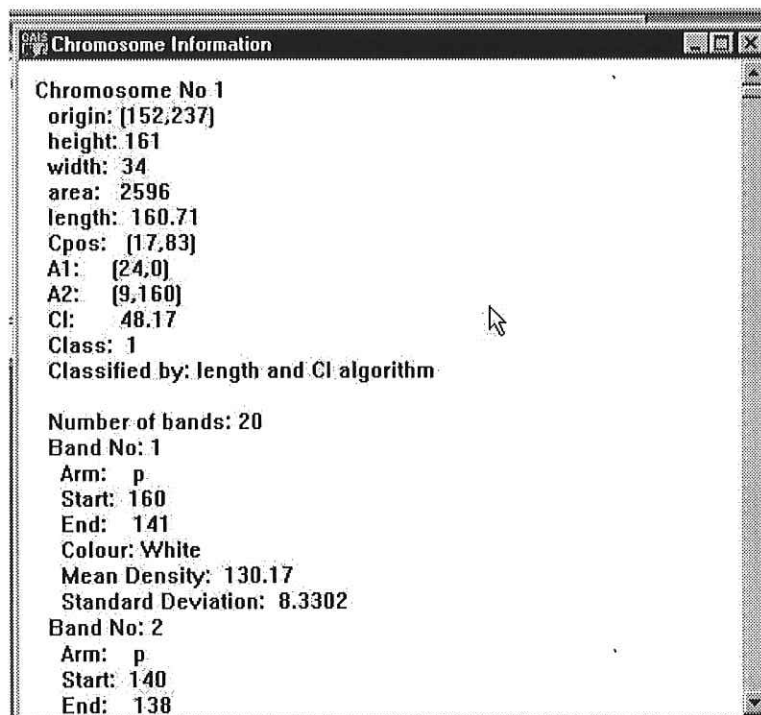
Фигура 4.7. Изобразяване на изолираните хромозоми.

От този прозорец са достъпни менютата **Chromosome** (Фиг. 4.8-а) за работа с изображение на отделна хромозома и **Methaphase** (Фиг. 4.8-б) за работа с всички хромозоми в митозното изображение.



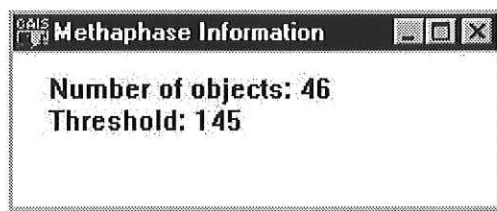
а) работа с отделна хромозома; б) работа с цяла митоза;
Фигура 4.8. Менюта за работа с изображения

Информация за някои характеристики на изображението на всяка изолирана хромозома може да се покаже, като се избере полето **Info** от менюто **Chromosome**. Тази информация се изобразява в отделен прозорец (Фиг. 4.9).



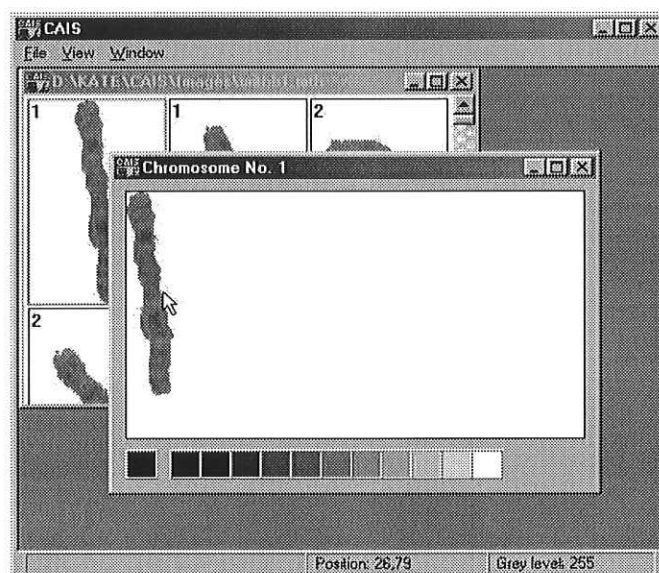
Фигура 4.9. Информация за отделна хромозома.

По същия начин се показва и информация за цялата митоза, като се избере **Info** от менюто **Methaphase** (Фиг.4.10).



Фигура 4.10. Информация за цялата митоза.

С помощта на процедурите **Duplicate** за дублиране, **Delete** за изтриване и **Edit** за редактиране на изображение на хромозома, избрани от менюто **Chromosome**, може да се извърши редактиране на изображението на отделна хромозома. (Фиг. 4.11).



Фигура 4.11. Редактиране на отделна хромозома.

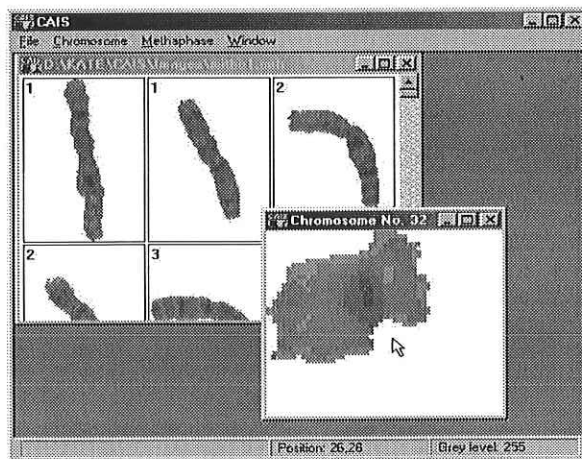
От полето **Adjust centromere** от меню **Chromosome** се стартира процедура за коригиране на погрешно поставени центромери. Хромозомата се изобразява в отделен прозорец и центромерът може да бъде преместен с помощта на курсора (Фиг.4.12), като при това автоматично се променя и центромерният индекс.

4.4 Извличане на признаци на хромозомите.

С помощта на полето **Length and CI** от менюто **Methaphase** се извършва обръщение към метод за определяне на дължините и центромерните индекси на

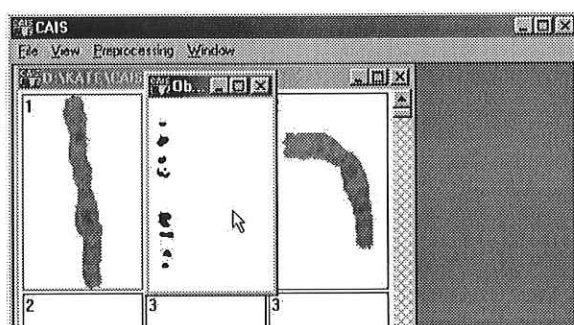
всички хромозоми от текущата митоза.

Позицията на центромера и двете крайни токи се изобразяват върху всяка хромозома от митозата в текущия прозорец.



Фигура 4.12. Коригиране на позицията на центромера.

Изборът на **Bands** от същото меню стартира метод за изолиране на ивиците в текущата хромозома. Изолираните ивици се показват в отделен прозорец и могат да бъдат съхранени като изображение в отделен файл (Фиг. 4.13)

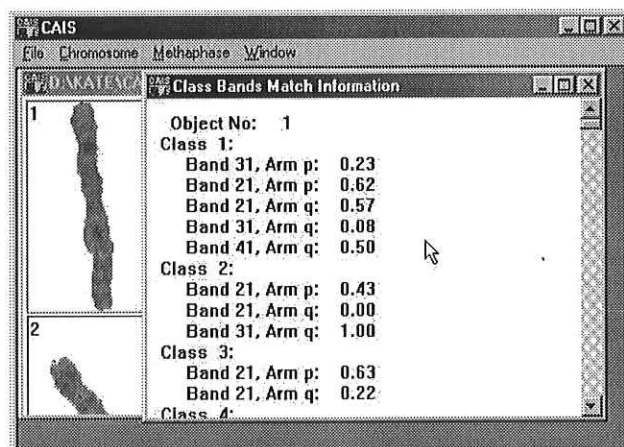


Фигура 4.13. Изолиране на ивици в лентово оцветени хромозоми.

От полето **Detect bands** от менюто **Methaphase** се извършва обръщение към процедура за откриване на ивиците на всички хромозоми от текущата митоза.

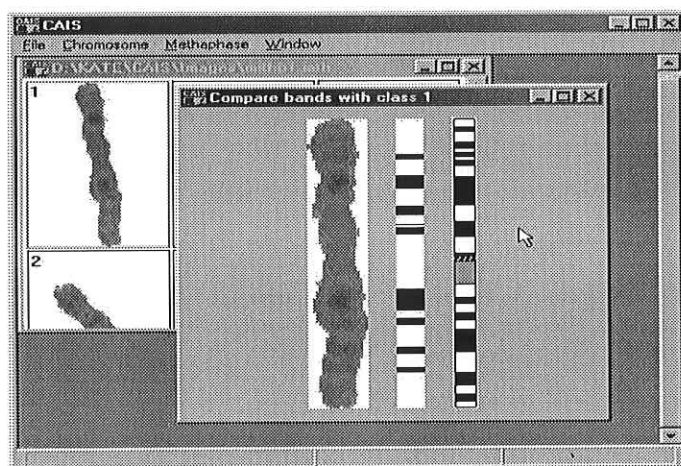
Match bands от меню **Chromosome** активизира метод за съпоставяне на ивиците в дадената хромозома с идиограма – таблица с предварително зададени

образци на маркерните участъци за всички хромозомни класове. Резултатът от това съпоставяне са стойности на съвпадение между ивиците и маркерните участъци за всеки хромозомен клас, изразени в проценти. Тези стойности се изписват в отделен прозорец. (Фиг. 4.14).



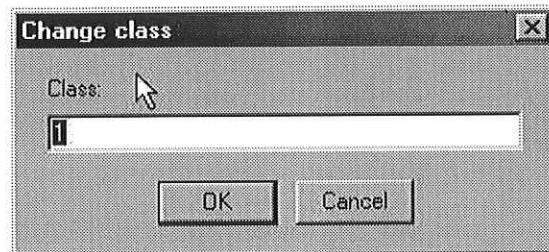
Фигура 4.14. Резултат от съпоставяне на откритите ивици с образец на маркерните участъци.

Избирането на полето **Compare bands** на същото меню дава възможност да се сравнят визуално изолираните в хромозомата ивици с маркерните участъци за даден клас (Фиг. 4.15.) В отделен прозорец се показват хромозомата, профилът на ивиците и образецът на ивиците за съответния хромозомен клас.



Фигура 4.15. Сравняване на профила на ивиците с образец на маркерните участъци на хромозома.

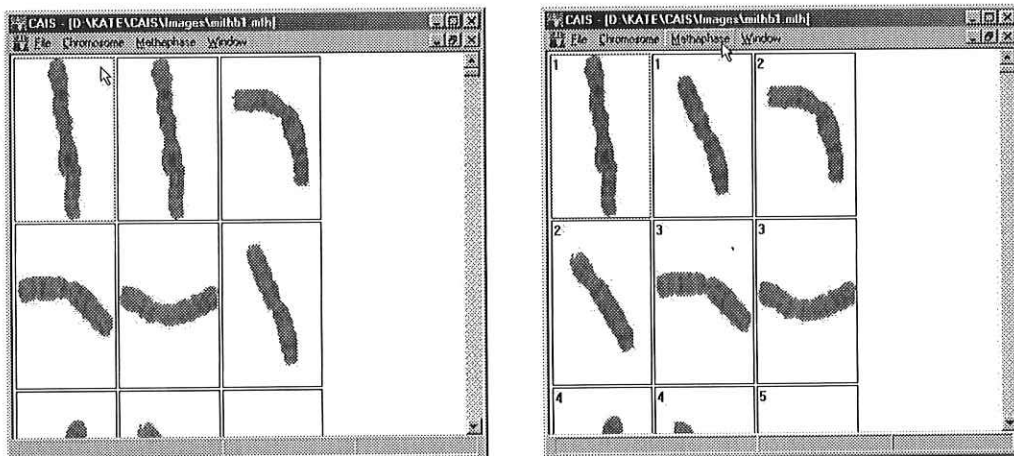
Полето **Change Class** на това меню позволява да бъде въведен или сменен ръчно класът на дадена хромозома. Новият клас се въвежда като число от диалогов прозорец (Фиг. 4.16).



Фигура 4.16. Смяна на класа на хромозома.

4.5 Класификация.

От подменюто **Sort** на меню **Methaphase** може да се извърши подреждане на хромозомите в прозореца. Ако се избере **by length**, хромозомите ще се изобразят в низходящ ред на техните дължини; ако се избере **by class**, ще се подредят във възходящ ред на техните класове. Второто действие е възможно, само ако вече е извършена класификация на хромозомите. Подредените хромозоми се показват в текущия прозорец (Фиг. 4.17).



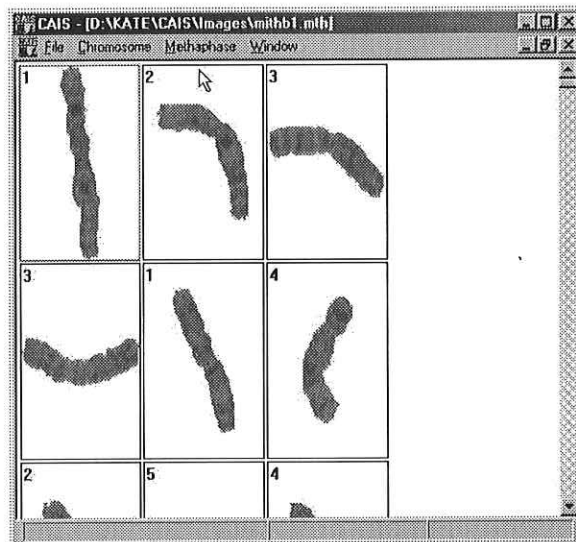
а) подреждане по дължина;

б) подреждане по класове;

Фигура 4.17. Подреждане на хромозомите в прозореца.

Процедурата **Classify** на същото меню извършва класификация на хромозомите от текущата митоза въз основа на техните дължини и центромерни

индекси или въз основа на признаци на ивиците при лентово оцветени хромозоми. Резултатът от класификацията се изобразява в нов прозорец. Класовете се изписват в полето на всяка отделна хромозома (Фиг. 4.18).



Фигура 4.18. Класификация на хромозоми.

При класификацията се създава текстов файл, който съдържа справка за действията в процеса на класификацията. В зависимост от метода за класификация се създава справка за класификацията по дължина и центромерен индекс и справка за класификацията въз основа на ивиците, както се вижда по-долу:

- класификация по дължина и центромерен индекс;

Number of chromosomes: 46

Arranging chromosomes in Denver group A

Class 1 - the longest two chromosomes with CI>43

Chromosome No 1 -> Class 1

Chromosome No 3 -> Class 1

Class 3 - the next two longest chromosomes with CI>43

Chromosome No 5 -> Class 3

Chromosome No 7 -> Class 3

Class 2 - the next longest two chromosomes

Chromosome No 2 -> Class 2

Chromosome No 4 -> Class 2

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - the next longest four chromosomes with CI<35

Chromosome No 6 -> Class 4

Chromosome No 8 -> Class 4

Chromosome No 10 -> Class 5

Chromosome No 11 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group G

Check if Y-chromosome exists - counting smallest chromosomes
with CI<33

Found number of chromosomes: 5

Class Y - the chromosome with the smallest CI
from the smallest 5 ones

Chromosome No 45 -> Class Y

Class 21 and 22 - the rest four smallest chromosomes
with CI<33

Chromosome No 46 -> Class 21

Chromosome No 44 -> Class 21

Chromosome No 43 -> Class 22

Chromosome No 41 -> Class 22

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 and 20 - the next four smallest chromosomes
with CI>40

Chromosome No 42 -> Class 19

Chromosome No 35 -> Class 19

Chromosome No 37 -> Class 20

Chromosome No 40 -> Class 20

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 16, 17 and 18 - the 6 chromosomes from the 28th
to 40th by size with largest CI

Chromosome No 30 -> Class 16

Chromosome No 38 -> Class 16

Chromosome No 33 -> Class 17

Chromosome No 36 -> Class 17

Chromosome No 39 -> Class 18

Chromosome No 28 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14 and 15 - the 6 chromosomes from the 24th
to 40th by size with smallest CI

Chromosome No 26 -> Class 13

Chromosome No 29 -> Class 13

Chromosome No 34 -> Class 14

Chromosome No 24 -> Class 14

Chromosome No 32 -> Class 15

Chromosome No 31 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group C

Class 11 - the smallest two chromosomes from 5th to 27th
by size with CI between 37 and 43

Chromosome No 23 -> Class 11

Chromosome No 21 -> Class 11

Class 6 - the largest two chromosomes from the rest
between 5th and 27th by size

Chromosome No 9 -> Class 6

Chromosome No 12 -> Class 6

Class X - the next one or two chromosomes with largest CI
from the rest between 5th and 27th by size

Chromosome No 28 -> Class X

Class 7, 8, 9, 10 and 12 - the rest chromosomes between 5th and
27th by size in decreasing order on CI

Chromosome No 27 -> Class 7

Chromosome No 20 -> Class 7

Chromosome No 18 -> Class 8

Chromosome No 13 -> Class 8

Chromosome No 19 -> Class 9

Chromosome No 25 -> Class 9

Chromosome No 22 -> Class 10

Chromosome No 14 -> Class 10

Chromosome No 17 -> Class 12

Chromosome No 16 -> Class 12

○ класификация въз основа на ивици;

Number of chromosomes: 46

Chromosome No 1 -> Class 1 by length&CI method

Chromosome No 5 -> Class 1 by length&CI method

Chromosome No 2 -> Class 2 by length&CI method

Chromosome No 7 -> Class 2 by length&CI method

Chromosome No 3 -> Class 3 by length&CI method

Chromosome No 4 -> Class 3 by length&CI method

Chromosome No 17 -> Class X by length&CI method
 Chromosome No 46 -> Class Y by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - arranged in decreasing order of gray levels
 of the black bands right under the centromere
 Chromosome No 6 -> Class 4
 Chromosome No 9 -> Class 4
 Chromosome No 8 -> Class 5
 Chromosome No 11 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group C

Chromosome No 12 -> Class 6 by length&CI method
 Chromosome No 15 -> Class 6 by length&CI method
 Class 7 - chromosomes with darkest black bands
 on the long arm from class 7 and class 8
 Chromosome No 23 -> Class 7
 Chromosome No 14 -> Class 7
 Class 9 - chromosomes with darkest black bands
 on the short arm from classes 8, 9 and 10
 Chromosome No 20 -> Class 9
 Chromosome No 19 -> Class 9
 Class 8 - chromosomes with black band on the long arm end
 darker then the same band in class 10
 Chromosome No 16 -> Class 8
 Chromosome No 28 -> Class 8
 Chromosome No 18 -> Class 10
 Chromosome No 13 -> Class 10
 Chromosome No 10 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 22 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 26 -> Class 12 by length&CI method
 Chromosome No 29 -> Class 12 by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14, 15 - chromosomes arranged in increasing order
 of the dark part of the long arm
 from dark to light.
 Chromosome No 35 -> Class 13
 Chromosome No 33 -> Class 13
 Chromosome No 27 -> Class 14
 Chromosome No 30 -> Class 14
 Chromosome No 37 -> Class 15
 Chromosome No 25 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 17 - chromosomes with lightest long arm
 Class 16 - chromosomes with lightest short arm from the rest 4 ones
 Class 18 = the rest 2 chromosomes
 Chromosome No 38 -> Class 17
 Chromosome No 24 -> Class 17
 Chromosome No 31 -> Class 16
 Chromosome No 21 -> Class 16
 Chromosome No 34 -> Class 18
 Chromosome No 41 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group F

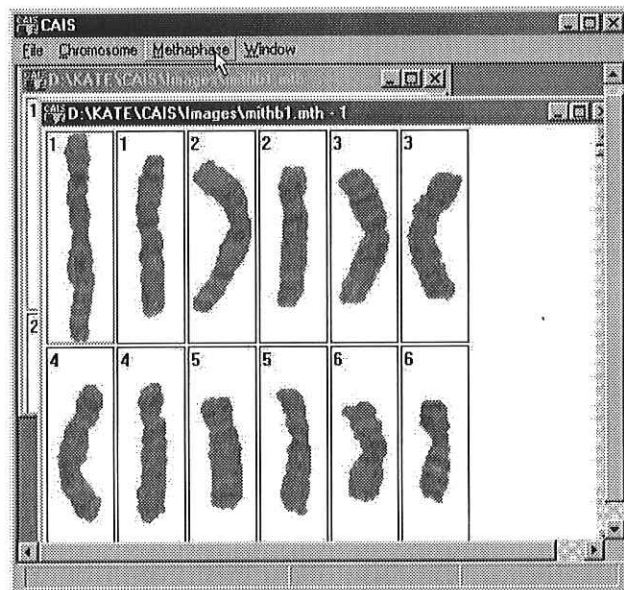
Class 19 - chromosomes with dark black band
 over and/or under the centromere
 Class 20 = the short arm is darker then the long one
 Chromosome No 39 -> Class 20
 Chromosome No 40 -> Class 20
 Chromosome No 32 -> Class 19
 Chromosome No 42 -> Class 19

Arranging chromosomes in Denver group G

Class 22 - chromosomes with black band
 under the centromere
 lighter then the same part in the 21st one
 Chromosome No 36 -> Class 22
 Chromosome No 45 -> Class 22
 Chromosome No 43 -> Class 21
 Chromosome No 44 -> Class 21

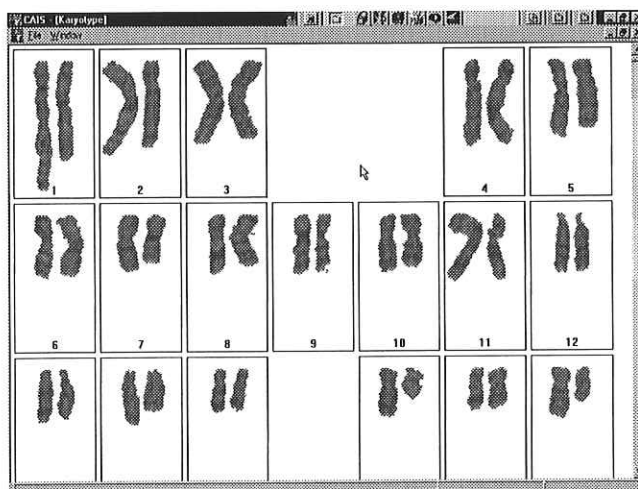
Операцията **Clear classification** от същото меню извършва изтриване на класовете на хромозомите. Това дава възможност да се извърши нова класификация на същата митоза.

Операцията **Set upright** на това меню показва хромозомите от митозата изправени, съгласно стандартите на цитогенетичната номенклатура (Фиг4.19).



Фигура 4.19. Подреждане на хромозомите изправени.

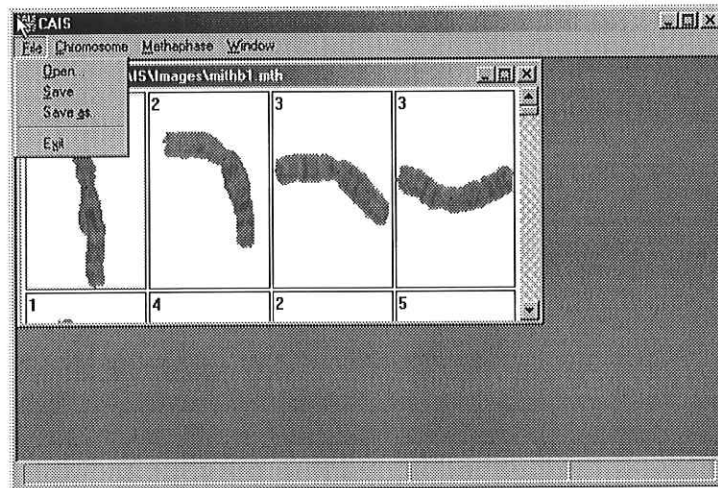
Операцията **Karyogram** показва хромозомите по двойки и по класове във вид на кариотип (Фиг. 4.20). Тя е достъпна, само ако са определени дължините и централните индекси на хромозомите.



Фигура 4.20. Изобразяване на кариотип.

4.6. Запис на изображение във файл.

По време на всяка стъпка от работата на системата изображението може да се запише във файл в някой от графичните формати, с които тя работи (т. 4.1). За целта се избира командата **Save** или командата **Save as...** от менюто **File** (Фиг. 4.21):



Фигура 4.21. Запазване на изображение във файл.

При работата със системата са достъпни всички етапи от обработката, анализа и класификацията на хромозоми. Ако при изолирането на хромозомите някои от тях бъдат разделени, може да се редактира оригиналното митозно изображение, след което изолирането да бъде повторено. Оригинално изображение на хромозомата и изолираните в нея ивици могат визуално да се сравняват с образеца на определен клас от стандартната идиограма. Възможно е да бъдат задавани предварително класовете на отделни хромозоми, след което да се класифицират само останалите от тях. Могат да бъдат променяни позиции на центромери, да се редактират отделни хромозоми и след това също да се повтори класификацията. Възможно е текущата класификация да бъде изтрита и работата да започне от началото. Това прави работата със системата сравнително удобна за използване.

Заклучение.

В дисертацията е представен подход за анализ и класификация на изображения на хромозоми, който принципно се различава от подходите, използвани в съществуващите системи за автоматичен анализ на хромозоми. Както при анализа, така и при класификацията на хромозоми се използват формализирани по определен начин цитогенетични знания. Методите за анализ на изображения на хромозоми са сходни с начина, по който се извършват тези дейности при ръчния анализ на хромозоми. Използването на евристични правила позволява дървовидна класификация - първо в денвърските групи, а след това по класове вътре в групите. Такова разделяне на класификацията на етапи позволява да се съкрати работата по откриване и анализ на ивиците на лентово оцветените хромозоми. Използването на обектно-ориентирания подход дава редица преимущества, както при представянето на знания за анализ и класификация на изображения на хромозоми, така и при проектирането, разработването и по-нататъшното разширяване възможностите на системата CAIS. Скриването на информацията и абстрактността на данните дават възможност да се намалят вътрешните връзки между отделните части на системата, което осигурява по-голяма гъвкавост и лесно модифициране и усъвършенстване на програмите. Наследяването и динамичното свързване осигуряват икономичност на системата, тъй като се дава възможност дадена процедура да бъде дефинирана само на едно място в системата. Възможността да се добавят нови класове обекти дава възможност системата лесно да бъде разширена или модифицирана за извършване на анализ и класификация на други типове изображения.

Научни и приложни приноси:

- проучени са методите и средствата за автоматичен анализ и класификация на хромозоми, използвани в съвременните системи, както и методите за анализ и класификация на хромозоми, използвани от експертите-цитогенетици;
- направен е детайлизиран проект на система за анализ и класификация на хромозоми, основана на знанията на експертите-цитогенетици;
- разработени са оригинални методи за обработка и анализ на изображения на цели метафази и на отделни хромозоми, като тези за изолиране на хромозоми, за определяне позицията на центромера, за пресмятане на дължина и центромерен индекс на хромозомите и за извличане признаци на ивиците в лентово оцветени хромозоми;
- разработени са оригинални методи за класификация на хромозоми в зависимост от дължина и центромерен индекс и за класификация въз основа на ивици в лентово оцветени хромозоми, които са основани на евристични знания за хромозомните класове;
- използван е обектно-ориентиран подход за представяне и организиране на знания от процедурен тип от областите на обработка на изображения и на класификацията на хромозоми, както и за управление и взаимодействие на компонентите на системата;
- реализирана е цялостна експериментална система за анализ и класификация на хромозоми (CAIS) и са направени редица експерименти.

Публикации по темата на дисертацията.

Основни резултати от работата по темата са отразени в следните публикации:

1. Decheva E., V. Valev. Knowledge based automated chromosome analysis system - a conception. *Proc. of the Third International Conference on Computer Analysis of Images and Patterns CAIP'89*, Aug. - Sep. 1989, Leipzig, pp. 99-101.
2. Decheva E. Image processing in CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification. in: *R. Klette (edt.) Computer Analysis of Images and Patterns - Proc. of the IVth International Conference CAIP'91*, Akademie Verlag, Berlin, 1991, pp. 260-264.
3. Decheva E. Object-oriented approach to the design of CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification. In: *Mathematics and Education in Mathematics - Proc. of 21 Spring Conference of UBM*, Sofia, April 3-6, 1992, pp.226-230.
4. Detcheva E. Heuristic knowledge based chromosome classification, *Proc. of First National Conference INFORMATICS'94*, Sofia, 1994, pp. 83-89.
5. Detcheva E. CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification. *Int. Workshop "Artificial Intelligence and the Humanities"*, Sozopol, September 1996, pp. 49-54.
6. Detcheva E. Processing and analysis of methaphase and chromosome images. *Mathematics and Education in Mathematics - Proc. of 27th Spring Conference of UBM*, Sofia, 1998, pp. 216-222.

Литература.

- [1] Дечева Е., В. Вълев. **Методи за автоматичен хромозомен анализ - проучване и възможни приложения.** *Втора национална конференция с международно участие по проблемите на персоналните компютри ПЕРСКОМП'87*, София, 1987.
- [2] Дуда Р., П. Харт. **Распознавание образов и анализ сцен.** "Мир", Москва, 1976 (20-54)).
- [3] Захаров А.Ф., В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, Л.И. Барановская. **Хромосомы человека (атлас).** "Медицина", Москва, 1982.
- [4] Кофман А. **Введение в теорию нечетких множеств.** "Радио и связь", Москва, 1982.
- [5] Нисанов В.Я., Д.В. Волков, Е.Г. Саралидзе, Н.С. Бадаев, В.Е. Барский, Л.Б. Каминир, А.В. Зеленин. **Система для автоматического измерения изображения хромосом на фотопленке.** *Цитология*, **23**, No 1, 1981 (109-112).
- [6] Роджерс Д., Дж. Адамс. **Математические основы машинной графики.** "Машиностроение", Москва, 1980.
- [7] Саралидзе Е.Г., Н.Б. Ульянов, В.М. Погорелов, Л.Б. Каминир. **Метод измерения метафазных хромосом с гетерохроматиновыми участками, выявленными с помощью С-дифференциальной окраской.** *Цитология*, **23**, No 5, 1981 (599-604).
- [8] Цонева М., В. Георгиева, М. Цанчева. **Хромозомна диагностика.** "Медицина и физкультура", София, 1978.
- [9] Цонева М., М. Абаджиев. **Основи на медицинската генетика.** "Медицина и физкультура", София, 1979.
- [10] G. Adam, I. Dinstein. **Geometric separation of partially overlapping nonrigid objects applied to automatic chromosome classification.** *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, **9**, No 11, 1987 (1212-1222).
- [11] Carter N.P., **Cytogenetic analysis by chromosome painting,** *Cytometry*, **18**, No 1, 1994 (2-10).
- [12] Casperson T., G. Lomakka, A. Moeller. **Computerized chromosome identification by aid of the quinacrine mustard fluorescence technique.** *Hereditas*, No 67, 1971 (103-110).
- [13] Castelman K.R., J. Melnyk. **An automated system for chromosome analysis, vol. 1: goals, system design and performance.** *Jet Propulsion Laboratory*, Pasadena, Ca., 1976.
- [14] Charters, G.C., J. Graham, **Trainable gray-level models for disentangling overlapping chromosomes,** *Pattern Recognition*, **32**, No 8, 1999 (1335-1349).
- [15] **Chromosome analysis package IBAS, Rel. 2.0.,** KONTORN, 1984.
- [16] Decheva E., V. Valev. **Knowledge based automated chromosome analysis system - a conception.** *Proc. of the Third International Conference on Computer Analysis of Images and Patterns CAIP'89*, Leipzig, 1989 (99-101).

- [17] Decheva E. **Image processing in CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification.** In: R. Klette (eds.) *Computer Analysis of Images and Patterns - Proc. of the IVth International Conference CAIP'91*, Akademie Verlag, Berlin, 1991 (260-264).
- [18] Decheva E. **Object-oriented approach to the design of CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification.** In: *Mathematics and Education in Mathematics - Proc. of 21 Spring Conference of UBM*, Sofia, 1992 (226-230).
- [19] De Kanter M.A, A.M. Vossepoel, **Segmentation of touching and overlapping chromosomes, especially in CGH**, *Abstracts of the 2nd Aalborg Symposium on Chromosome Analysis: "Segmentation and Classification, 94"* Aalborg, DK, 1994.
- [20] Denisov D.A, A.K. Dudkin, **Model-based chromosome recognition via hypotheses construction/ verification**, *Pattern Recognition Letters*, **15**, No 3, 1994 (299-307).
- [21] Detcheva E. **Heuristic knowledge based chromosome classification**, *Proc. of First National Conference INFORMATICS'94*, Sofia, 1994 (83-89).
- [22] Detcheva E. **CAIS - an intelligent system for chromosome analysis and classification.** *Int. Workshop "Artificial Intelligence and the Humanities"*, Sozopol, 1996 (49-54).
- [23] Detcheva E. **Processing and analysis of metaphase and chromosome images.** *Mathematics and Education in Mathematics - Proc. of 27th Spring Conference of UBM*, Sofia, 1998 (216-222).
- [24] Finon P., D.C. Lloyd, A.A. Edwards. **An assessment of the metaphase finding capability of the CYTOSCAN 110.** *Mutation Research*, No 164, 1986 (101-108).
- [25] Foster J. **Medical application of image analysis with the MAGISCAN II.** *Anal. and Quantitative Cytology and Histology*, **7**, No 3, 1985 (192-196).
- [26] Gallus G., P.W. Neurath. **Improved computer chromosome analysis incorporating pre-processing and boundary analysis.** *Phis. Med. Biol.*, No 15, 1970 (435-445).
- [27] Graham J., Taylor C.T. **Automated chromosome analysis using the MAGISCAN II image analyser.** *Anal. and Quantitative Cytology and Histology*, **2**, No 4, 1980 (237-242).
- [28] Graham J. **Resolution of composites in interactive karyotyping.** In: *Automation of Cytogenetics. C Lundsteen, J. Piper (eds.)*. Springer-Verlag, Berlin, 1989 (191-204).
- [29] Granlund G.H. **The use of distribution functions to describe integrated density profiles of human chromosomes.** *J. Theor. Biology*, No 40, 1973 (583-589).
- [30] Granlund G.H. **The structure of a system for multiplecell chromosome karyotyping.** *Proc. 4th Int. Joint Conf. on Pattern Recognition*, Kyoto, Japan, 1978 (837-841).

- [31] Granum E., C. Lunsteen. **Band pattern derivation from digitized chromosome images.** *Proc. 1978 European Workshop on Automated Human Cytogenetics.* Electronics Laboratory, Technical Univ. of Denmark, 1978 (s5-2 - s5-3).
- [32] Granum E., T. Gerdes, C. Lunsteen. **Simple Weightened Density Distributors, WDD's for discrimination between G-banded chromosomes.** *Proc. 4th European Chromosome Analysis Workshop,* Edinburgh, 1981.
- [33] Granum E., M.G. Thomason, **Automatically inferred Markov networks models for classification of chromosomal band pattern structures.** *Cytometry*, **11**, No 1, 1990 (26-39).
- [34] Gregor J, M.G. Thomason, **Hybrid pattern recognition using Markov networks,** *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, **15**, No 6, 1993 (651-656).
- [35] Groen F.C.A., P.W. Verbeek, G.A. Van Zee. **Some aspects concerning the computation of chromosome profiles.** *Proc. 3rd Joint Conf. on Pattern Recognition,* Coronado, 1976 (547-550).
- [36] Groen F.C.A. et al., **Human chromosomes classification based on local band descriptors.** *Patt. Recognition letters*, No 9, 1989 (211- 222).
- [37] Hildich C.J. **The principles of a software system for karyotype analysis.** *Human Population Cytogenetics.* Edinburgh University Press, Edinburgh, 1969 (297-325).
- [38] Hildich C.J. **Linear skeletons from square cupboards.** In: *Machine Intelligence, vol. 4. B. Meltzer, D. Michie (eds).* Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, 1969 (403-420).
- [39] Hildich C.J., D. Rutovitz. **Normalisation of chromosome measurments.** *Comp. Biol. Med.*, No 2, 1972 (167-179).
- [40] Houtepen J., A.M. Vossepel, **Influence of spatial resolution on classification of banded chromosomes by means of neural nets and k-nn methods,** *Abstracts of the 2nd Aalborg Symposium on Chromosome Analysis: "Segmentation and Classification, 94"*, Aalborg, DK, 1994.
- [41] Ing P.S., R.S. Ledley, H.A. Lubs. **Chromosome analysis at the National Biomedical Research Foundation.** In: *Automation of Cytogenetics Asilomar Workshop, M.L. Mendelsohn (ed.),* National Technical Information Service, Springfield, VA, 1976 (27-38).
- [42] Jennings M.J.. **MSc Thesis,** University of Michign, 1990.
- [43] Ji L. **Decomposition of overlapping chromosomes.** In: *Automation of Cytogenetics. C Lundsteen, J. Piper (eds).* Springer-Verlag, Berlin, 1989 (177-190).
- [44] Le Go R. **Automatic selection of 'good' metaphases by machine.** *MEDINFO'74,* North-Holland, Amsterdam, 1974 (460-465).
- [45] Lee H. C., K. S. Fu. **A stochastic syntax analysis procedure and its application to pattern classification.** *IEEE Trans. Computers*, No C-21, 1972 (660-666).
- [46] Ledley R. S., L. S. Rotolo, T. J. Golab, J. D. Jacobsen, M. D. Ginsburg, B J. Wilson. **FIDAC: film input to digital automatic computer and associated**

- syntax-directed pattern recognition programming system.** In: *Optical and Electrooptical Information Processing, Chapter 33* J. Tippet, D. Becowitz, L. Clapp, C.Koester, A. Vanderburg (eds.), MIT Press, Cambridge, Mass., 1965, (591-614).
- [47] Ledley R.S., H.A. Lubs, F.H. Ruddle. **Introduction to chromosome analysis.** *Comp. Biol. Med.*, No 2, 1972 (107-128).
- [48] Lerner B., H. Guterman, I. Dinstein, Y. Romem, **Feature selection and learning curves of a multilayer perceptron chromosome classifier,** *Proceedings 12th IAPR International Conference on Pattern Recognition, vol. 2,* IEEE, Piscataway, NJ, USA, 94CH3440-5, 1994 (497-499).
- [49] Lunsteen C., E. Granum. **Microphotometry of banded human chromosomes. III. Scanning on photographic negatives.** *Clinical Genetics*, No 10, 1976 (30-40).
- [50] Lunsteen C., E. Granum. **Description of chromosome banding patterns by band transition sequences. A new basis for automated chromosome analysis.** *Clinical Genetics*, No 15, 1979 (418-429).
- [51] Lunsteen C, B. Bjerregaard, E. Granum, J. Philip, K. Philip. **Automatic chromosome analysis. I. A simple method for classification of B- and D-group chromosomes represented by band transition sequences.** *Clinical Genetics*, No 17, 1980 (183-190).
- [52] Lunsteen C., T. Gerdes, E. Granum, J. Philip, K. Philip. **Automatic chromosome analysis. II. Karyotyping of banded human chromosomes using band transition sequences.** *Clinical Genetics*, No 19, 1981 (26-36).
- [53] Lunsteen C., T. Gerdes, J. Philip, J. Graham, D. Pycock. **An interactive system for chromosome analysis. Test of clinical performance.** *Proc. of the 3rd Scandinavian Conf. on Image Analysis*, 1983 (392-397).
- [54] Lunsteen C., J. Piper. **Automation of cytogenetics.** In: *Advances in Biomedical Engineering, J.E.w. Beneken and V.Thévenin (eds.)*, IOS Press, 1993, (174-187).
- [55] Moore II D.H. **Normalization of chromosome measurements: a new method.** *Comp. Biol. Med.*, No 5, 1975 (21-28).
- [56] Oosterlink A., R.F. Vlietnik. **Characteristic of an automated clinical cytogenetics system.** In: *Automation of Cytogenetics Asilomar Workshop, M.L. Mendelsohn (ed.)*, National Technical Information Service, Springfield, VA, 1976 (72-84).
- [57] Oosterlink A., F. Dom, J. Van Daele, H. Van den Berghe. **Computer-assisted karyotyping with human interaction.** *J. Histochem. Cytochem.*, 25, 1977 (754-762).
- [58] **Paris Conference (1971). Standardization in human Cytogenetics.** *Original Article Series*, 8, No 7, The National Foundation, New York, 1972.
- [59] Paton K. **Automatic chromosome identification by the maximum likelihood method.** *Ann. Hum. Genet.*, No 33, 1969 (177-184).
- [60] Philip J., C. Lunsteen. **Semi-automated chromosome analysis - a clinical test.** *Clinical Genetics*, No 27, 1985 (140-146).

- [61] **PIP EZ. MS DOS Software Library for the PIP-512/1024 Video Digitizer**, MATROX Electronic Limited, 1986.
- [62] Piper J., E. Granum, D. Rutovitz, H. Rutledge **Automation of chromosome analysis**. *Signal Processing*, No 2, 1980 (203-221).
- [63] Piper J. **Finding chromosome centromeres using boundary and density information**. *Digital Image Processing*, Reidel Publishing Company, 1981 (511-518).
- [64] Piper J. **Efficient implementation of skeletonisation using interval coding**. *Pattern Recognition Letters*, 6, No 3, 1985 (389-397).
- [65] Piper J., R. Balldok, S. Towers, D. Rutovitz. **Towards a knowledge-based chromosome analysis system**. In: *Automation of Cytogenetics. C Lundsteen, J. Piper (eds)*. Springer-Verlag, Berlin, 1989 (275-290).
- [66] Piper J. **Genetic algorithm for applying constraints in chromosome classification**, *Pattern Recognition Letters*, 16, No 8, 1995 (857-864).
- [67] G. Ritter, M.T. Gallegos, and K. Gaggermeier, **Automatic context sensitive karyotyping of human chromosomes based on elliptically symmetric statistical distributions**, *Pattern Recognition*, 28, No 6, 1995 (823-831).
- [68] Ritter, G., Gallegos, M.T., **Outliers in Statistical Pattern Recognition and an Application to Automatic Chromosome Classification**, *Pattern Recognition Letters*, 18, No 6, 1997 (525-539).
- [69] Ritter, G., Gaggermeier, K., **Automatic classification of chromosomes by means of quadratically asymmetric statistical distributions**, *Pattern Recognition*, 32, No 6, 1999 (997-1008).
- [70] Rutovitz D. **Chromosome classification and segmentation as exercises in knowing what to expect**. In: *Machine Intelligence, vol. 8, E.W. Elcock, D. Michie. Ellis Harwood (eds.)*, London, 1977 (455-472).
- [71] Rutovitz D., D.K. Green, A.S.J. Farrow, D.S. Mason. **Computer assisted measurement in the cytogenetics laboratory**. In: *Pattern Recognition, B.G. Bachelor (ed.)*, Plenum, London, 1978 (308-329).
- [72] Selles W.D., P.W. Newrath, K. Conklin, J.B. Horton **Progress and problems in the cytophotometric analysis of G-banded chromosomes**. In: *Automation of Cytogenetics Asilomar Workshop, Mendelsohn (ed.)*. National Technical Information Service, Springfield, VA, 1976 (3-16).
- [73] Slot R. E. **On the profit of taking into account the known number of objects per class in classification methods**. *IEEE Transaction on Information Theory*, IT-25, No 4, 1979 (484-488).
- [74] Stanley, R.J., Keller, J.M., Gader, P., Caldwell, C.W., **Homologue Matching Applications: Recognition of Overlapped Chromosomes**, *Pattern Analysis and Applications*, 1, No 4 1998 (206-217).
- [75] Stanley, R.J., Keller, J.M., Gader, P., Caldwell, C.W., **Data-Driven Homolog Matching for Chromosome Identification**, *IEEE Trans. Medical Imaging*, 17, No 3, 1998 (451-462).
- [76] Stefik M., D.G. Bobrow. **Object-oriented programming: themes and variations**. *The AI Magazine*, 6, No 4, 1986 (40-42).

- [77] Stroustrup B. **The C++ Programming Language**. Addison-Wesley Reading, Mass., 1986.
- [78] Ten Kate T.K. **Design and implementation of an interactive karyotyping program in C on a VICOM digital image processor**. *I2 Report. Systems and Signals Group, Section Pattern Recognition, Department of Applied Physics, Delft University of Technology*, 1985.
- [79] Tso M.K.S., J. Graham. **The transportation algorithm as an aid to chromosome classification**. *Pattern Recognition Letters*, **4**, No 1, 1983 (489-496).
- [80] M. Tso et al., **An efficient transportation algorithm for chromosome classification**. *Pattern Recognition Letters*, **12**, No 12, 1991 (117-126).
- [81] Van Daele J., F. Dom, L. De Buyscher, A. Oosterlink, H. Van Den Berghe. **Metaphase finding using microprocessors**. *Proc. IEEE Conf. on Pattern Recognition and Image Processing*, Chicago, Il., 1979 (460-465).
- [82] Vanderheydt L. A. Oosterlink, H. van den Berghe. **An application of fuzzy-subset theory to the classification of human chromosomes**. *Proc. IEEE Conf. on Pattern Recognition and image processing*, Chicago, Il., 1979 (466-472).
- [83] Vanderheydt L., A. Oosterlink, J. van Daele, H. van den Berghe. **Design of a graph-representation and a fuzzy-classifier for human chromosomes**. *Pattern Recognition*, No 12, 1980 (201-210).
- [84] Van Vilet L.J. et al. **The Athena semi-automated karyotyping system**, *Cytometry*, No 11, 1990 (51-58).
- [85] Van Vilet L.J., P.W.Verbeek. **Segmentation of overlapping objects**. *ASCI Imaging Workshop*, The Netherlands, 1995 (5-6).
- [86] Vossepoul A.M. **Separation of touching chromosomes**. In: *Automation of Cytogenetics. C Lundsteen, J. Piper (eds)*. Springer-Verlag, Berlin, 1989 (205-216).
- [87] Vrind A., **Analysis of bent chromosomes**, *Afstudeerverslag*, 1990.
- [88] Wu Q., J. Snellings, L. Amory, P. Snents, A. Oosterlink. **Model-based contour analysis of chromosome segmentation system**. In: *Automation of Cytogenetics. C Lundsteen, J. Piper (eds)*. Springer-Verlag, Berlin, 1989 (217-229).
- [89] Wu Q. et al. **On knowledge-based improvement of statistical pattern recognition: a case study**. *Proc. 5th IEEE Conf. On Artificial Intelligence Applications*, Miami, Florida, 1989 (239-244).
- [90] Wu Q. et al. **Biomedical pattern classification using heuristic and Bayesian approach**. *Proc. IJCAI'89 Workshop on Knowledge Discovery in DataBases*, Detroit, 1989 (358-3680).
- [91] Wu Q. et al. **Proc. IEEE EMBS 12th Int. Conf.**, Philadelphia, 1990.
- [92] Wu Q. et al. **Knowledge discovery in databases**, In: *G.P. Shapiro, B. Frawley (eds)* AAAI Press, 1991.
- [93] **VideoTesT 4.0**, <http://www.visusimaging.com>, IstaVideoTesT Ltd. ©1995-1998.

ПРИЛОЖЕНИЕ

І ЧАСТ:
МАКЕТИ
НА КЛАСОВЕТЕ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СИСТЕМА
САІS
ЗА АНАЛИЗ И КЛАСИФИКАЦІЯ НА
ХРОМОЗОМИ


```

//-----
//
// CAIS - File: image.h
//
// Класове за обработка на изображения
//
//-----
#if !defined(__IMAGE_H)
#define __IMAGE_H

#include <classlib\arrays.h>
#include <dir.h>

#define AREATRESHOLD 10

// Структура за съхранение на информация за изолиран обект
typedef struct
{
    int iMin, iMax, jMin, jMax;
    long area;
} ObjectInfo;

class Methaphase;

// Базов клас за всички видове изображения
class Image
{
public:
    TDib* Dib;
    TPalette* Palette;
    int PixelWidth;
    int PixelHeight;
    long BytesPerLine;
    bool GreyLevelImage;

// Constructors
Image()
{
    Dib = 0;
    Palette = 0;
    PixelWidth = 0;
    PixelHeight = 0;
    BytesPerLine = 0;
    GreyLevelImage = FALSE;
}
Image(TDib* dib);
~Image()
{
    delete Palette;
    delete Dib;
}

// Functions to load and save images
bool readBMP(const char* filename);
bool readPIC(const char* filename);
bool read(ifstream& ifs);
bool writeBMP(const char* filename)
        {return Dib->WriteFile(filename);}
bool write(ofstream& ofs);

// Image preprocessing functions
Image* MedFilter();
void Neg();

```

```

Image* Treshold(int Tresh);
Image* Rotate(double Angle);
Image* Bands(int Tresh);
Methaphase* Isolate(int Tresh);
long Index(int i, int j)
{
    return i*BytesPerLine+j;
}
long Index(long base, int i, int j)
{
    return i*base+j;
}

protected:
    ObjectInfo MoveObject(unsigned char huge* tmp1,
                          unsigned char huge* tmp2,
                          int Tresh, int i, int j);
};

// Клас за съхранение на информация за отделна ивица
class ChromosomeBand
{
public:
    char Arm; //'p' - short arm, 'q' - long arm
    int Colour; //0 - black (dark), 255 - white (light)
    double Mean; //Mean band density
    double StdDev; //Band density standard deviation
    int Start; //Band beginning
    int End; //Band ending
};

// Клас за обработка на изображение на хромозома
class Chromosome : public Image
{
public:
    int xPos;
    int yPos;
    long Area;
    Tpoint Centromere;
    TPoint A1;
    TPoint A2;
    double Length;
    double CentIndex;
    int ChromClass; //ChromClass = 0 - undefined
                    // 1-22 - class 1-22
                    // 23 - class X
                    // 24 - class Y
    int ClassifiedBy; //ClassifiedBy = 0 - by length and CI
                    // 1 - by bands
                    // 2 - by expert
    unsigned char* BandsVector;
    int BandsVectorLength;
    int BandsVectorCentromere;
    int NumBands;
    ChromosomeBand* DetBands;

// Constructors
Chromosome() : Image(), Centromere(0,0), A1(0,0), A2(0,0)
{
    xPos = 0;
    yPos = 0;
    Area = 0;
    Length = 0.0;
}

```

```

    CentIndex = 0.0;
    ChromClass = 0;
    ClassifiedBy = 0;
    BandsVector = 0;
    BandsVectorLength = 0;
    BandsVectorCentromere = 0;
    NumBands = 0;
    DetBands = 0;
}

Chromosome(TDib* dib, int xpos, int ypos, long area):
Image(dib), Centromere(0,0), A1(0,0), A2(0,0)
{
    xPos = xpos;
    yPos = ypos;
    Area = area;
    Length = 0.0;
    CentIndex = 0.0;
    ChromClass = 0;
    ClassifiedBy = 0;
    BandsVector = 0;
    BandsVectorLength = 0;
    BandsVectorCentromere = 0;
    NumBands = 0;
    DetBands = 0;
}

~Chromosome() {delete [] BandsVector;
               delete [] DetBands;}

operator==(const Chromosome& chr) const
{
    return (Area == chr.Area);
}

operator<(const Chromosome& chr) const
{
    return (Area > chr.Area);
}

bool CentromerePosition(int Tresh);
Chromosome* SetUpright();
Void BandsDetect(int Tresh);
};

// Клас за съхраняване на информация за отделен маркерен участък
// на хромозома от стандартна идиограма
class Band
{
public:
    char Arm;
    int Position;
    int Colour;
    double Start;
    double End;

// Constructors
Band(char a, int p, int c, double s, double e)
{
    Arm = a;
    Position = p;
    Colour = c;
    Start = s;

```

```

        End = e;
    }
};

// Динамичен масив от обекти за съпоставяне характеристиките на
// ивиците с предварително зададени маркерни участъци от
// стандартна идиограма
class LandMarks
{
public:
    Band** Bands;
    int numBands;

    double* MatchBands(unsigned char* Vector, int Length,
                        int Centromere);
};

// Клас за обработка на изображения на метафази
class Methaphase
{
public:
    TISArrayAsVector<Chromosome> Chroms;
    int MaxHeight;
    int MaxWidth;
    int Treshold;
    bool CIFound;
    bool IsClassified;

// Constructors
Methaphase()
    : Chroms(63,0,8), MaxHeight(0), MaxWidth(0),
      Treshold(0), CIFound(FALSE), IsClassified(FALSE) {}

Int NumChroms()
{
    return Chroms.GetItemsInContainer();
}

void Add(Chromosome* chrom)
{
    Chroms.Add(chrom);
    if (MaxHeight < chrom->PixelHeight)
        MaxHeight = chrom->PixelHeight;
    if (MaxWidth < chrom->PixelWidth)
        MaxWidth = chrom->PixelWidth;
}

void SortByLength();
void SortByClass();
void BandsDetect();
bool Classify(char* FileName);
void ClearClassification();
Methaphase* SetUpright();
void Write(char* FileName);
bool write(ofstream& ofs);
bool read(ifstream& ifs);
};
#endif

```

```

//-----
//
// CAIS - File: imagewin.h
//
// Класове за управление и за взаимодействие със
// системата
//
//-----
#if !defined(__IMAGEWIN_H)
#define __IMAGEWIN_H

#include <owl\editfile.rh>
#include <dir.h>

#include "cais.rh"
#include "image.h"

class MethaphaseWindow;
class ImageWindow;

// Клас за създаване на главния прозорец на системата
class ImageMDIClient : public TMDIClient {
public:
    ImageMDIClient() : TMDIClient() {}
    void NewImage(Image *img, const char far *fileName,
                  const char far *fileTitle,
                  const bool isDirty);
    void NewMetha(Methaphase *metha, const char far
                  *fileName, const char far *fileTitle,
                  const bool isDirty);
    void NewChromosome(Chromosome *chrom, const char far *Title,
                       bool ciFound,
                       MethaphaseWindow* caller);
    void NewImageEdit(const char far *fileName, Image *img,
                      ImageWindow *Caller);
    void NewImageEdit(const char far *fileName,
                      Chromosome *chrom,
                      MethaphaseWindow *Caller);

protected:
    void CeFileOpen(TCommandEnabler& ce);
    void CmFileOpen();
    void CeFileSave(TCommandEnabler& ce);
    void CeFileSaveAs(TCommandEnabler& ce);
    void EvMouseMove(UINT modKeys, TPoint& point);

    DECLARE_RESPONSE_TABLE(ImageMDIClient);
};

//Основен клас за показване и работа с изображения
class ImageWindow : public TMDIChild {
public:
    Image* Img;
    TBrush* BkgndBrush;
    HCURSOR HCurArrow;
    HCURSOR HCurCross;
    long Rop;
    int StretchedPixelWidth;
    int StretchedPixelHeight;
    int View;
    int Version;

```

```

    char FileName[80];
    char FileTitle[MAXPATH];
    bool IsDirty;
    bool IsCaller;
    bool NeedScrollBars;

// Constructors
ImageWindow(TMDIClient &parent, const char far *title);
~ImageWindow();
void Init(Image* image);

protected:
    void CmFileSave();
    void CmFileSaveAs();
    void CmView25();
    void CmView50();
    void CmView100();
    void CmView200();
    void CmView400();
    void CmViewProc(const int V);
    void CmMedFilter();
    void CmNeg();
    void CmImageEdit();
    void CmTreshold();
    void CmIsolate();
    void CeView25(TCommandEnabler& ce);
    void CeView50(TCommandEnabler& ce);
    void CeView100(TCommandEnabler& ce);
    void CeView200(TCommandEnabler& ce);
    void CeView400(TCommandEnabler& ce);
    void CeMedFilter(TCommandEnabler& ce);
    void CeNeg(TCommandEnabler& ce);
    void CeTreshold(TCommandEnabler& ce);
    void CeIsolate(TCommandEnabler& ce);
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvPaletteChanged(HWND hWndPalChg);
    bool EvQueryNewPalette();
    void EvSetFocus(HWND); // should use above when working
    bool UpdatePalette(bool alwaysRepaint);
    bool CanClose();
    void AdjustScroller();
    void EvMouseMove(UINT, TPoint&);

    DECLARE_RESPONSE_TABLE(ImageWindow);
};

// Клас за показване и за работа с изображения на метафази
class MethaphaseWindow : public TMDIChild {
public:
    Methaphase* Metha;
    TBrush* BkgndBrush;
    TPen* Pen;
    long Rop;
    int MethaWidth;
    int MethaHeight;
    int ObjHeight;
    int ObjWidth;
    int BorderWidth;
    int Rows;
    int Columns;
    int ActiveChrom;

```

```

    int Version;
    char FileName[80];
    char FileTitle[MAXPATH];
    bool IsDirty;
    bool Refresh;
    bool IsCaller;
    TMemoryDC* MemDC;
    TBitmap* MemBitmap;

// Constructors
MethaphaseWindow(TMDIClient &parent, const char far *title);
~MethaphaseWindow();
void Init(Methaphase* metha);

protected:
    void CmFileSave();
    void CmFileSaveAs();
    void CmObjInfo();
    void CmObjEdit();
    void CmObjAdjust();
    void CmObjDuplicate();
    void CmObjDelete();
    void CmObjChangeClass();
    void CmObjBands();
    void CmObjBandsMatch();
    void CmObjBandsCompare();
    void CeObjBandsCompare(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaCPosition();
    void CeMethaCPosition(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaSortByLength();
    void CeMethaSortByLength(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaSortByClass();
    void CeMethaSortByClass(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaWriteData();
    void CmMethaClassify();
    void CmMethaClearClassification();
    void CmSetUpright();
    void CeMethaClassify(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaBandsDetect();
    void CeMethaBandsDetect(TCommandEnabler& ce);
    void CmMethaInfo();
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void MemoryPaint();
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvSetFocus(HWND);
    bool CanClose();
    void AdjustScroller();
    void EvLButtonDown(UINT, TPoint&);
    void SetupWindow();

    DECLARE_RESPONSE_TABLE(MethaphaseWindow);
};

// Клас за показване и за работа с изображения на хромозоми
class ChromosomeWindow : public TMDIChild {
public:
    Chromosome* Chrom;
    TBrush* BkgndBrush;
    HCURSOR HCurArrow;
    HCURSOR HCurCross;
    HCURSOR HCurMyArrow;
    HCURSOR HCurPen;

```

```

    long Rop;
    int StretchedPixelWidth;
    int StretchedPixelHeight;
    int View;
    bool CIFound;
    bool Dragging;
    int ActPoint;
    MethaphaseWindow* Caller;

// Constructors
ChromosomeWindow(TMDIClient &parent, const char far *title);
~ChromosomeWindow();
void Init(Chromosome* chrom);

protected:
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvPaletteChanged(HWND hWndPalChg);
    bool EvQueryNewPalette();
    void EvSetFocus(HWND); // should use above when working
    bool UpdatePalette(bool alwaysRepaint);
    bool CanClose();
    void AdjustScroller();
    void EvMouseMove(UINT, TPoint&);
    void EvLButtonDown(UINT, TPoint& point);
    void EvLButtonUp(UINT, TPoint& point);

    DECLARE_RESPONSE_TABLE(ChromosomeWindow);
};

class EditFrameWindow;

// Клас за редактиране на изображение на метафаза или на
// хромозома
EditImageWindow : public TWindow {
public:
    Image* Img;
    TBrush* BkgndBrush;
    HCURSOR HCurArrow;
    HCURSOR HCurPen;
    long Rop;
    int StretchedPixelWidth;
    int StretchedPixelHeight;
    int View;
    bool IsButtonDown;
    bool IsDirty;

// Constructors
EditImageWindow(EditFrameWindow *parent);
~EditImageWindow();
void Init(Image* image);
void Init(Chromosome *chrom);
void AdjustScroller();

protected:
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvPaletteChanged(HWND hWndPalChg);
    bool EvQueryNewPalette();
    void EvSetFocus(HWND hWin);
    bool UpdatePalette(bool alwaysRepaint);
    void EvMouseMove(UINT modKeys, TPoint& point);
    void EvLButtonDown(UINT, TPoint& point);

```



```

        void EvLButtonUp(UINT, TPoint& point);
    DECLARE_RESPONSE_TABLE(EditImageWindow);
};

// Клас за създаване на рамка на прозорец за редактиране на
// изображение
class EditFrameWindow : public TMDIChild {
public:
    TDib* ColorsDib;
    TDib* SampleDib;
    int ColorsX;
    int ColorsY;
    int SampleX;
    int SampleY;
    int CurrColor;
    TBrush* BkgndBrush;
    TPen* Pen;
    EditImageWindow* EditWindow;
    ImageWindow *CallerWin;
    MethaphaseWindow *CallerMethaWin;
    int CallerType; // CallerType = 0 - ImageWindow;
                    // CallerType = 1 - MethaphaseWindow

// Constructors
    EditFrameWindow(TMDIClient &parent, const char far *title,
                   Image *img, ImageWindow *Caller);
    EditFrameWindow(TMDIClient &parent, const char far *title,
                   Chromosome *chrom, MethaphaseWindow *Caller);
    ~EditFrameWindow();

protected:
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvLButtonDown(UINT, TPoint& point);
    void EvMouseMove(UINT modKeys, TPoint& point);
    bool CanClose();
    void CmView100();
    void CmView200();
    void CmView400();
    void CmViewProc(const int V);
    void CeDisable(TCommandEnabler& ce);
    void CeView100(TCommandEnabler& ce);
    void CeView200(TCommandEnabler& ce);
    void CeView400(TCommandEnabler& ce);
    DECLARE_RESPONSE_TABLE(EditFrameWindow);
};

// Клас за изобразяване на информация за изображение
class InfoWindow : public TMDIChild {
public:
    char* InfoText;
    int TextHeight;
    int TextWidth;

// Constructors
    InfoWindow(TMDIClient &parent, const char far *title,
              char far *text);
    ~InfoWindow() { delete [] InfoText; }

    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);

```

```

    DECLARE_RESPONSE_TABLE(InfoWindow);
};

// Клас за показване на хромозома, съответен вектор ивици и
// лентов образец за даден клас от идиограма
class CompareWindow : public TMDIChild {
public:
    Chromosome* Chrom;
    TDib* PatternDib;
    TDib* BandsDib;
    int ChromX;
    int ChromY;
    int ChromHeight;
    int ChromWidth;
    int PatternX;
    int PatternY;
    int BandsX;
    int BandsY;
    int WinHeight;
    int WinWidth;
    TBrush* BkgndBrush;
    TPen* Pen;

// Constructors
    CompareWindow(TMDIClient &parent, const char far *title,
                 Chromosome* chrom, int classPattern);
    ~CompareWindow()
    {
        delete Chrom;
        delete PatternDib;
    }

    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    DECLARE_RESPONSE_TABLE(CompareWindow);
};

// Клас за изобразяване на кариотип
class KaryoWindow : public TMDIChild {
public:
    Methaphase* Metha;
    TBrush* BkgndBrush;
    TPen* Pen;
    long Rop;
    int MethaWidth;
    int MethaHeight;
    int ObjHeight;
    int ObjWidth;
    int ClassHeight;
    int ClassWidth;
    int TopMargin;
    int BottomMargin;
    int LeftMargin;
    int RightMargin;
    int TopPad;
    int BottomPad;
    int LeftPad;
    int RightPad;
    int MidPad;
    int ClassHSpace;
    int ClassVSpace;
    int BorderWidth;

```

```

    int Rows;
    int Columns;
    int Version;
    int LeftChrom[4][7];
    int RightChrom[4][7];
    char FileName[80];
    char FileTitle[MAXPATH];
    bool IsDirty;
    bool DelMetha;
    bool Refresh;
    int IsCaller;
    MethaphaseWindow* Caller;
    TMemoryDC* MemDC;
    TBitmap* MemBitmap;
    Chromosome **SortedChroms;

// Constructors
    KaryoWindow(TMDIClient &parent, const char far *title);
    ~KaryoWindow();

    void Init(Methaphase* metha);

protected:
    void CmFileSave();
    void CmFileSaveAs();
    void CeFileSave(TCommandEnabler& ce);
    void Paint(TDC&, bool erase, TRect&);
    void MemoryPaint();
    void EvSize(UINT sizeType, TSize&);
    void EvSetFocus(HWND);
    bool CanClose();
    void AdjustScroller();
    void EvLButtonDown(UINT, TPoint&);
    void SetupWindow();

DECLARE_RESPONSE_TABLE(KaryoWindow);
};
#endif

```

```

//-----
//
// CAIS - File: CAIS.cpp
// Клас за създаване на главния прозорец на системата
// и метод за създаване на образците на маркерните
// участъци от стандартна идиограма
//
//-----
#include <owl\owlpch.h>
#include <owl\applicat.h>
#include <owl\textgadg.h>
#include <owl\decframe.h>
#include <owl\statusba.h>
#include "imagewin.h"

#define MAXAPPNAME 20

TTextGadget* CoordGadget;
TTextGadget* GreyLevelGadget;

static const char AppName[] = "CAIS";
LandMarks ClassLandMarks[24];

void InitLandMarks()
{
    Band* pband;

    // Chromosome 1
    ClassLandMarks[0].numBands = 5;
    ClassLandMarks[0].Bands = new Band*[ClassLandMarks[0].numBands];
    pband = new Band('p', 31, 0, 45.75, 62.5);
    ClassLandMarks[0].Bands[0] = pband;
    pband = new Band('p', 21, 0, 75.0, 85.0);
    ClassLandMarks[0].Bands[1] = pband;
    pband = new Band('q', 21, 255, 15.63, 23.96);
    ClassLandMarks[0].Bands[2] = pband;
    pband = new Band('q', 31, 0, 43.75, 57.29);
    ClassLandMarks[0].Bands[3] = pband;
    pband = new Band('q', 41, 0, 68.75, 76.04);
    ClassLandMarks[0].Bands[4] = pband;

    // Chromosome 2
    ClassLandMarks[1].numBands = 3;
    ClassLandMarks[1].Bands = new Band*[ClassLandMarks[1].numBands];
    pband = new Band('p', 21, 255, 37.1, 46.77);
    ClassLandMarks[1].Bands[0] = pband;
    pband = new Band('q', 21, 255, 22.45, 29.59);
    ClassLandMarks[1].Bands[1] = pband;
    pband = new Band('q', 31, 255, 51.02, 58.16);
    ClassLandMarks[1].Bands[2] = pband;

    // Chromosome 3
    ClassLandMarks[2].numBands = 2;
    ClassLandMarks[2].Bands = new Band*[ClassLandMarks[2].numBands];
    pband = new Band('p', 21, 255, 32.26, 56.45);
    ClassLandMarks[2].Bands[0] = pband;
    pband = new Band('q', 21, 255, 26.87, 37.31);
    ClassLandMarks[2].Bands[1] = pband;
    ClassLandMarks[2].numBands = 2;

    // Chromosome 4
    ClassLandMarks[3].numBands = 2;
    ClassLandMarks[3].Bands = new Band*[ClassLandMarks[3].numBands];

```

```
pband = new Band('q', 21, 255, 15.9, 26.14);
ClassLandMarks[3].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 31, 255, 64.77, 78.41);
ClassLandMarks[3].Bands[1] = pband;
ClassLandMarks[3].numBands = 2;

// Chromosome 5
ClassLandMarks[4].numBands = 2;
ClassLandMarks[4].Bands = new Band*[ClassLandMarks[4].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 37.93, 48.28);
ClassLandMarks[4].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 31, 255, 63.22, 70.12);
ClassLandMarks[4].Bands[1] = pband;
ClassLandMarks[4].numBands = 2;

// Chromosome 6
ClassLandMarks[5].numBands = 2;
ClassLandMarks[5].Bands = new Band*[ClassLandMarks[5].numBands];
pband = new Band('p', 21, 255, 46.34, 82.93);
ClassLandMarks[5].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 21, 255, 36.62, 46.48);
ClassLandMarks[5].Bands[1] = pband;

// Chromosome 7
ClassLandMarks[6].numBands = 3;
ClassLandMarks[6].Bands = new Band*[ClassLandMarks[6].numBands];
pband = new Band('p', 21, 0, 13.51, 35.14);
ClassLandMarks[6].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 21, 0, 19.7, 37.88);
ClassLandMarks[6].Bands[1] = pband;
pband = new Band('q', 31, 0, 48.48, 68.18);
ClassLandMarks[6].Bands[2] = pband;

// Chromosome 8
ClassLandMarks[7].numBands = 2;
ClassLandMarks[7].Bands = new Band*[ClassLandMarks[7].numBands];
pband = new Band('p', 21, 255, 40.0, 56.57);
ClassLandMarks[7].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 21, 0, 25.0, 50.0);
ClassLandMarks[7].Bands[1] = pband;

// Chromosome 9
ClassLandMarks[8].numBands = 3;
ClassLandMarks[8].Bands = new Band*[ClassLandMarks[8].numBands];
pband = new Band('p', 21, 0, 37.93, 62.07);
ClassLandMarks[8].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 21, 0, 27.73, 42.37);
ClassLandMarks[8].Bands[1] = pband;
pband = new Band('q', 31, 0, 61.02, 67.08);
ClassLandMarks[8].Bands[2] = pband;

// Chromosome 10
ClassLandMarks[9].numBands = 1;
ClassLandMarks[9].Bands = new Band*[ClassLandMarks[9].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 11.67, 35.0);
ClassLandMarks[9].Bands[0] = pband;
ClassLandMarks[9].numBands = 1;

// Chromosome 11
ClassLandMarks[10].numBands = 1;
ClassLandMarks[10].Bands = new
Band*[ClassLandMarks[10].numBands];
pband = new Band('q', 21, 255, 47.17, 50.94);
ClassLandMarks[10].Bands[0] = pband;
```

```
ClassLandMarks[10].numBands = 1;
// Chromosome 12
ClassLandMarks[11].numBands = 1;
ClassLandMarks[11].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[11].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 41.93, 58.06);
ClassLandMarks[11].Bands[0] = pband;

// Chromosome 13
ClassLandMarks[12].numBands = 2;
ClassLandMarks[12].Bands = new
Band*[ClassLandMarks[12].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 35.48, 55.17);
ClassLandMarks[12].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 31, 0, 65.52, 77.59);
ClassLandMarks[12].Bands[1] = pband;
ClassLandMarks[12].numBands = 2;

// Chromosome 14
ClassLandMarks[13].numBands = 2;
ClassLandMarks[13].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[13].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 28.07, 42.1);
ClassLandMarks[13].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 31, 0, 75.44, 84.21);
ClassLandMarks[13].Bands[1] = pband;

// Chromosome 15
ClassLandMarks[14].numBands = 1;
ClassLandMarks[14].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[14].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 31.48, 48.15);
ClassLandMarks[14].Bands[0] = pband;
ClassLandMarks[14].numBands = 1;

// Chromosome 16
ClassLandMarks[15].numBands = 1;
ClassLandMarks[15].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[15].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 39.39, 54.54);
ClassLandMarks[15].Bands[0] = pband;
ClassLandMarks[15].numBands = 1;

// Chromosome 17
ClassLandMarks[16].numBands = 1;
ClassLandMarks[16].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[16].numBands];
pband = new Band('q', 21, 255, 21.05, 47.37);
ClassLandMarks[16].Bands[0] = pband;

// Chromosome 18
ClassLandMarks[17].numBands = 1;
ClassLandMarks[17].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[17].numBands];
pband = new Band('q', 21, 255, 40.54, 64.86);
ClassLandMarks[17].Bands[0] = pband;
ClassLandMarks[17].numBands = 1;

// Chromosome 19
ClassLandMarks[18].numBands = 0;

// Chromosome 20
ClassLandMarks[19].numBands = 0;
```

```

// Chromosome 21
ClassLandMarks[20].numBands = 1;
ClassLandMarks[20].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[20].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 16.67, 50.0);
ClassLandMarks[20].Bands[0] = pband;

// Chromosome 22
ClassLandMarks[21].numBands = 0;

// Chromosome X
ClassLandMarks[22].numBands = 2;
ClassLandMarks[22].Bands =
    new Band*[ClassLandMarks[22].numBands];
pband = new Band('q', 21, 0, 36.11, 58.33);
ClassLandMarks[22].Bands[0] = pband;
pband = new Band('q', 31, 0, 22.22, 46.3);
ClassLandMarks[22].Bands[1] = pband;

// Chromosome Y
ClassLandMarks[23].numBands = 0;
}

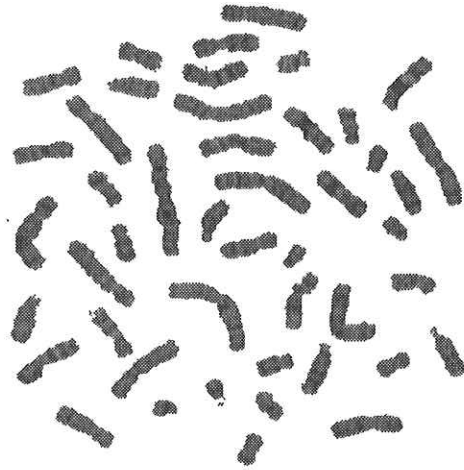
// Клас за създаване на главния прозорец на системата
class CAISApp : public TApplication {
public:
    CAISApp(const char far* name) : TApplication(name) {}
    void InitMainWindow()
    {
        TDecoratedMDIFrame* MainWindow =
            new TDecoratedMDIFrame(Name, 0,
                *new ImageMDIClient);
        SetMainWindow(MainWindow);
        TStatusBar* sb = new TStatusBar(MainWindow,
            TGadget::Recessed);
        CoordGadget = new TTextGadget(0,
            TGadget::Recessed,
            TTextGadget::Left, 11, 0);
        GreyLevelGadget = new TTextGadget(0,
            TGadget::Recessed,
            TTextGadget::Left, 10, 0);

        sb -> Insert(*CoordGadget);
        sb -> Insert(*GreyLevelGadget);
        MainWindow -> Insert(*sb, TDecoratedFrame::Bottom);
        MainWindow->Attr.X = 20;
        MainWindow->Attr.Y = 40;
        MainWindow->Attr.W = 600;
        MainWindow->Attr.H = 400;
        MainWindow->SetIcon(this, TResId("CAIS"));
        MainWindow->SetIconSm(this, TResId("CAIS"));
        MainWindow->SetMenuDescr
            (TMenuDescr("CAIS_MAIN_MENU", 1, 0, 0, 0, 1, 0));
    }
};
//-----
// Главна програма
int
OwlMain(int /*argc*/, char* /*argv*/ [])
{
    InitLandMarks();
    return CAISApp(AppName).Run();
}

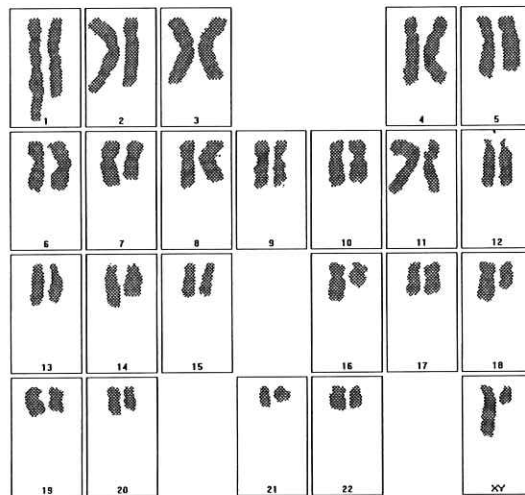
```

II ЧАСТ:
РЕЗУЛТАТИ
ОТ РАБОТА С РЕАЛНИ ДАННИ
НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СИСТЕМА
CAIS
ЗА АНАЛИЗ И КЛАСИФИКАЦИЯ НА
ХРОМОЗОМИ

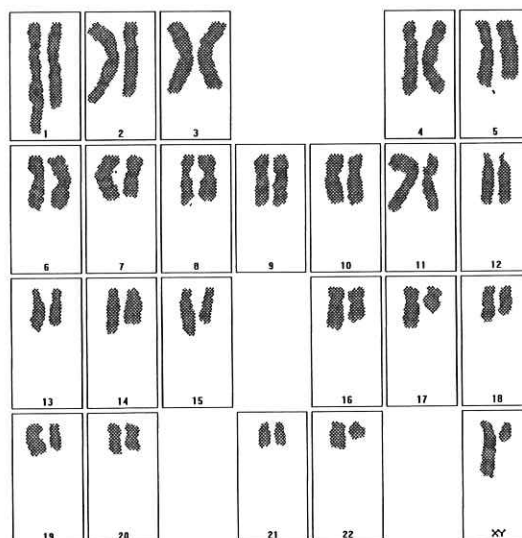
Резултати от анализ и класификация на хромозоми - пример 1



Метафаза – файл M1.BMP.



Кариотип по дължина и центромерен индекс - файл MKAR1.BMP



Кариотип въз основа на ивици - файл MB1.BMP

**Справка за етапите на класификация по дължина и центромерен индекс –
файл MB1-CLS.TXT**

Number of chromosomes: 46

Arranging chromosomes in Denver group A

Class 1 - the longest two chromosomes with CI>43

Chromosome No 1 -> Class 1

Chromosome No 3 -> Class 1

Class 3 - the next two longest chromosomes with CI>43

Chromosome No 5 -> Class 3

Chromosome No 7 -> Class 3

Class 2 - the next longest two chromosomes

Chromosome No 2 -> Class 2

Chromosome No 4 -> Class 2

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - the next longest four chromosomes
with CI<35

Chromosome No 6 -> Class 4

Chromosome No 8 -> Class 4

Chromosome No 10 -> Class 5

Chromosome No 11 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group G

Check if Y-chromosome exists - counting smallest chromosomes
with CI<32

Found number of chromosomes: 5

Class Y - the chromosome with the smallest CI
from the smallest 5 ones

Chromosome No 45 -> Class Y

Class 21 and 22 - the rest four smallest chromosomes
with CI<32

Chromosome No 46 -> Class 21

Chromosome No 44 -> Class 21

Chromosome No 43 -> Class 22

Chromosome No 41 -> Class 22

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 and 20 - the next four smallest chromosomes
with CI>40

Chromosome No 42 -> Class 19

Chromosome No 35 -> Class 19

Chromosome No 37 -> Class 20

Chromosome No 40 -> Class 20

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 16, 17 and 18 - the 6 chromosomes from the 28th
to 40th by size with largest CI

Chromosome No 30 -> Class 16

Chromosome No 38 -> Class 16

Chromosome No 33 -> Class 17

Chromosome No 36 -> Class 17

Chromosome No 39 -> Class 18

Chromosome No 28 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14 and 15 - the 6 chromosomes from the 24th
to 40th by size with smallest CI

Chromosome No 26 -> Class 13

Chromosome No 29 -> Class 13

Chromosome No 34 -> Class 14
Chromosome No 24 -> Class 14
Chromosome No 32 -> Class 15
Chromosome No 31 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group C

Class 11 - the smallest two chromosomes from 5th to 27th
by size with CI between 37 and 43

Chromosome No 9 -> Class 11
Chromosome No 12 -> Class 11

Class 6 - the largest two chromosomes from the rest
between 5th and 27th by size

Chromosome No 13 -> Class 6
Chromosome No 14 -> Class 6

Class X - the largest next one or two chromosomes
from the rest between 5th and 27th by size

Chromosome No 15 -> Class X

Class 7, 8, 9, 10 and 12 - the rest chromosomes between 5th and
27th by size in decreasing order on CI

Chromosome No 27 -> Class 7
Chromosome No 20 -> Class 7
Chromosome No 18 -> Class 8
Chromosome No 23 -> Class 8
Chromosome No 19 -> Class 9
Chromosome No 21 -> Class 9
Chromosome No 25 -> Class 10
Chromosome No 22 -> Class 10
Chromosome No 17 -> Class 12
Chromosome No 16 -> Class 12

**Справка за етапите на класификация въз основа на ивици –
файл MB1-BANDS.TXT**

Number of chromosomes: 46

·Chromosome No 1 -> Class 1 by length&CI method
 Chromosome No 5 -> Class 1 by length&CI method
 Chromosome No 2 -> Class 2 by length&CI method
 Chromosome No 7 -> Class 2 by length&CI method
 Chromosome No 3 -> Class 3 by length&CI method
 Chromosome No 4 -> Class 3 by length&CI method
 Chromosome No 17 -> Class X by length&CI method
 Chromosome No 46 -> Class Y by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - arranged in decreasing order of gray levels
 of the black bands right under the centromere
 Chromosome No 6 -> Class 4
 Chromosome No 9 -> Class 4
 Chromosome No 8 -> Class 5
 Chromosome No 11 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group C

Chromosome No 12 -> Class 6 by length&CI method
 ·Chromosome No 15 -> Class 6 by length&CI method
 Class 7 - chromosomes with darkest black bands
 on the long arm from class 7 and class 8
 Chromosome No 23 -> Class 7
 Chromosome No 14 -> Class 7
 Class 9 - chromosomes with darkest black bands
 on the short arm from classes 8, 9 and 10
 Chromosome No 20 -> Class 9
 Chromosome No 19 -> Class 9
 Class 8 - chromosomes with black band on the long arm end
 darker then the same band in class 10
 Chromosome No 16 -> Class 8
 Chromosome No 28 -> Class 8
 Chromosome No 18 -> Class 10
 Chromosome No 13 -> Class 10
 Chromosome No 10 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 22 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 26 -> Class 12 by length&CI method
 Chromosome No 29 -> Class 12 by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14, 15 - chromosomes arranged in increasing order
 of the dark part of the long arm
 from dark to light.
 Chromosome No 35 -> Class 13
 Chromosome No 33 -> Class 13
 Chromosome No 27 -> Class 14
 Chromosome No 30 -> Class 14
 Chromosome No 37 -> Class 15
 Chromosome No 25 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 17 - chromosomes with lightest long arm
 Class 16 - chromosomes with lightest short arm from the rest 4 ones
 Class 18 = the rest 2 chromosomes
 Chromosome No 38 -> Class 17
 Chromosome No 24 -> Class 17
 Chromosome No 31 -> Class 16

Chromosome No 21 -> Class 16
Chromosome No 34 -> Class 18
Chromosome No 41 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 - chromosomes with dark black band
over and/or under the centromere
Class 20 = the short arm is darker then the long one
Chromosome No 39 -> Class 20
Chromosome No 40 -> Class 20
Chromosome No 32 -> Class 19
Chromosome No 42 -> Class 19

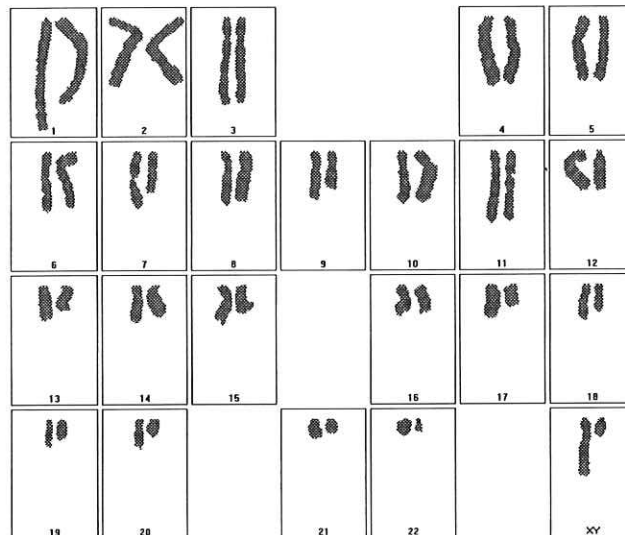
Arranging chromosomes in Denver group G

Class 22 - chromosomes with black band
under the centromere
lighter then the same part in the 21st one
Chromosome No 36 -> Class 22
Chromosome No 45 -> Class 22
Chromosome No 43 -> Class 21
Chromosome No 44 -> Class 21

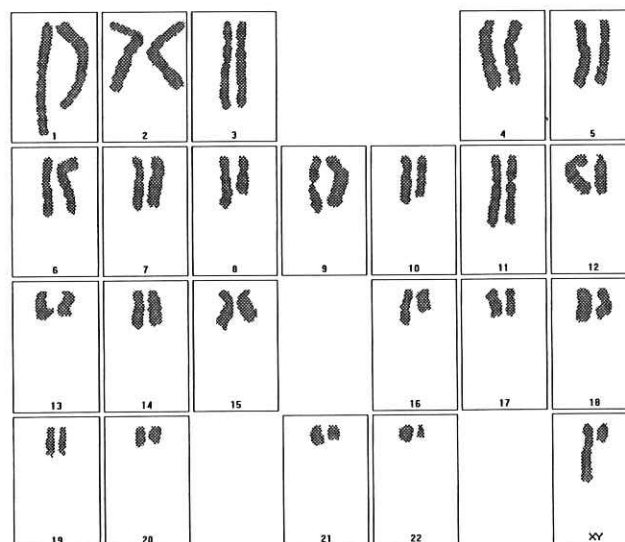
Резултати от анализ и класификация на хромозоми - пример 2



Метафаза – файл MW3.BMP



Кариотип по дължина и центромерен индекс – файл MKAR3.BMP



Кариотип в зависимост от ивици – файл MB3.BMP

**Справка за етапите на класификация по дължина и центромерен индекс –
файл MB3-CLS.TXT**

Number of chromosomes: 46

Arranging chromosomes in Denver group A

Class 1 - the longest two chromosomes with CI>43

Chromosome No 1 -> Class 1

Chromosome No 2 -> Class 1

Class 3 - the next two longest chromosomes with CI>43

Chromosome No 3 -> Class 3

Chromosome No 4 -> Class 3

Class 2 - the next longest two chromosomes

Chromosome No 5 -> Class 2

Chromosome No 6 -> Class 2

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - the next longest four chromosomes
with CI<35

Chromosome No 7 -> Class 4

Chromosome No 10 -> Class 4

Chromosome No 11 -> Class 5

Chromosome No 12 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group G

Check if Y-chromosome exists - counting smallest chromosomes
with CI<32

Found number of chromosomes: 5

Class Y - the chromosome with the smallest CI
from the smallest 5 ones

Chromosome No 41 -> Class Y

Class 21 and 22 - the rest four smallest chromosomes
with CI<32

Chromosome No 43 -> Class 21

Chromosome No 45 -> Class 21

Chromosome No 46 -> Class 22

Chromosome No 44 -> Class 22

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 and 20 - the next four smallest chromosomes
with CI>40

Chromosome No 37 -> Class 19

Chromosome No 40 -> Class 19

Chromosome No 35 -> Class 20

Chromosome No 42 -> Class 20

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 16, 17 and 18 - the 6 chromosomes from the 28th
to 40th by size with largest CI

Chromosome No 32 -> Class 16

Chromosome No 34 -> Class 16

Chromosome No 39 -> Class 17

Chromosome No 31 -> Class 17

Chromosome No 36 -> Class 18

Chromosome No 29 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14 and 15 - the 6 chromosomes from the 24th
to 40th by size with smallest CI

Chromosome No 38 -> Class 13

Chromosome No 28 -> Class 13

Chromosome No 27 -> Class 14
Chromosome No 30 -> Class 14
Chromosome No 33 -> Class 15
Chromosome No 25 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group C

Class 11 - the smallest two chromosomes from 5th to 27th
by size with CI between 37 and 43

Chromosome No 8 -> Class 11

Chromosome No 9 -> Class 11

Class 6 - the largest two chromosomes from the rest
between 5th and 27th by size

Chromosome No 13 -> Class 6

Chromosome No 14 -> Class 6

Class X - the largest next one or two chromosomes
from the rest between 5th and 27th by size

Chromosome No 15 -> Class X

Class 7, 8, 9, 10 and 12 - the rest chromosomes between 5th and
27th by size in decreasing order on CI

Chromosome No 16 -> Class 7

Chromosome No 24 -> Class 7

Chromosome No 17 -> Class 8

Chromosome No 20 -> Class 8

Chromosome No 26 -> Class 9

Chromosome No 21 -> Class 9

Chromosome No 18 -> Class 10

Chromosome No 19 -> Class 10

Chromosome No 22 -> Class 12

Chromosome No 23 -> Class 12

**Справка за етапите на класификация въз основа на ивици –
файл MB3-BANDS.TXT**

Number of chromosomes: 46

Chromosome No 1 -> Class 1 by length&CI method
 Chromosome No 2 -> Class 1 by length&CI method
 Chromosome No 3 -> Class 2 by length&CI method
 Chromosome No 4 -> Class 2 by length&CI method
 Chromosome No 6 -> Class 3 by length&CI method
 Chromosome No 7 -> Class 3 by length&CI method
 Chromosome No 17 -> Class X by length&CI method
 Chromosome No 44 -> Class Y by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - arranged in decreasing order of gray levels
 of the black bands right under the centromere
 Chromosome No 10 -> Class 4
 Chromosome No 5 -> Class 4
 Chromosome No 14 -> Class 5
 Chromosome No 8 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group C

Chromosome No 13 -> Class 6 by length&CI method
 Chromosome No 18 -> Class 6 by length&CI method
 Class 7 - chromosomes with darkest black bands
 on the long arm from class 7 and class 8
 Chromosome No 21 -> Class 7
 Chromosome No 12 -> Class 7
 Class 9 - chromosomes with darkest black bands
 on the short arm from classes 8, 9 and 10
 Chromosome No 9 -> Class 9
 Chromosome No 20 -> Class 9
 Class 8 - chromosomes with black band on the long arm end
 darker than the same band in class 10
 Chromosome No 29 -> Class 8
 Chromosome No 19 -> Class 8
 Chromosome No 30 -> Class 10
 Chromosome No 22 -> Class 10
 Chromosome No 11 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 16 -> Class 11 by length&CI method
 Chromosome No 15 -> Class 12 by length&CI method
 Chromosome No 25 -> Class 12 by length&CI method

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14, 15 - chromosomes arranged in increasing order
 of the dark part of the long arm
 from dark to light.
 Chromosome No 35 -> Class 13
 Chromosome No 31 -> Class 13
 Chromosome No 28 -> Class 14
 Chromosome No 26 -> Class 14
 Chromosome No 27 -> Class 15
 Chromosome No 24 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 17 - chromosomes with lightest long arm
 Class 16 - chromosomes with lightest short arm from the rest 4 ones
 Class 18 = the rest 2 chromosomes
 Chromosome No 33 -> Class 17
 Chromosome No 37 -> Class 17
 Chromosome No 36 -> Class 16

Chromosome No 34 -> Class 16
Chromosome No 23 -> Class 18
Chromosome No 32 -> Class 18

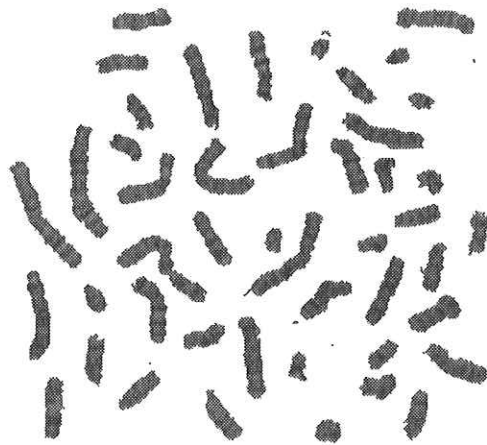
Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 - chromosomes with dark black band
over and/or under the centromere
Class 20 = the short arm is darker then the long one
Chromosome No 42 -> Class 20
Chromosome No 41 -> Class 20
Chromosome No 38 -> Class 19
Chromosome No 43 -> Class 19

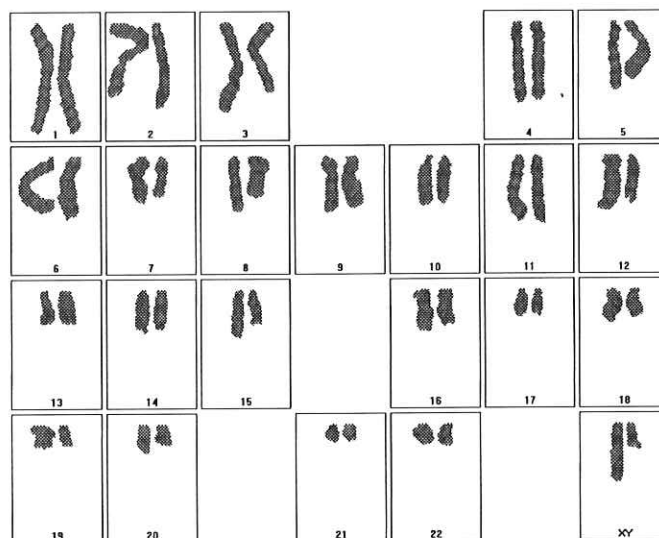
Arranging chromosomes in Denver group G

Class 22 - chromosomes with black band
under the centromere
lighter then the same part in the 21st one
Chromosome No 46 -> Class 22
Chromosome No 40 -> Class 22
Chromosome No 39 -> Class 21
Chromosome No 45 -> Class 21

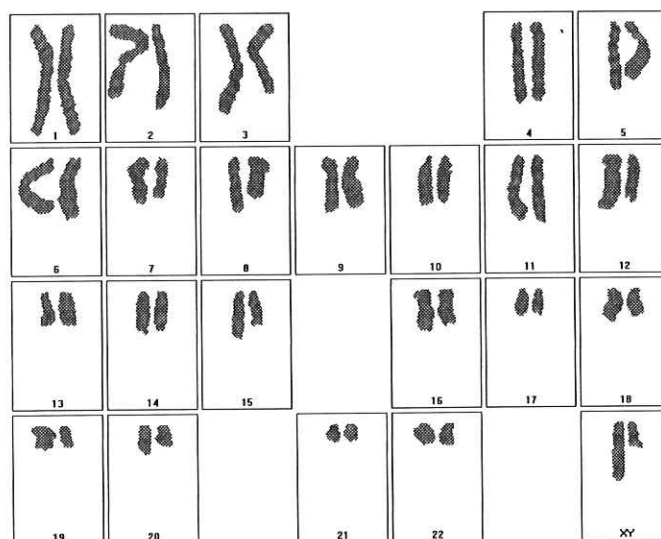
Резултати от анализ и класификация на хромозоми - пример 3



Метафаза – файл MW4.BMP



Кариотип по дължина и центромерен индекс – файл MKAR4.BMP



Кариотип в зависимост от ивици – файл MB4.BMP

**Справка за етапите на класификация по дължина и центромерен индекс –
файл MB4-CLS.TXT**

Number of chromosomes: 46

Arranging chromosomes in Denver group A

Class 1 - the longest two chromosomes with CI>43

Chromosome No 1 -> Class 1

Chromosome No 2 -> Class 1

Class 3 - the next two longest chromosomes with CI>43

Chromosome No 3 -> Class 3

Chromosome No 8 -> Class 3

Class 2 - the next longest two chromosomes

Chromosome No 4 -> Class 2

Chromosome No 5 -> Class 2

Arranging chromosomes in Denver group B

Class 4 and 5 - the next longest four chromosomes
with CI<35

Chromosome No 6 -> Class 4

Chromosome No 7 -> Class 4

Chromosome No 10 -> Class 5

Chromosome No 13 -> Class 5

Arranging chromosomes in Denver group G

Check if Y-chromosome exists - counting smallest chromosomes
with CI<32

Found number of chromosomes: 5

Class Y - the chromosome with the smallest CI
from the smallest 5 ones

Chromosome No 40 -> Class Y

Class 21 and 22 - the rest four smallest chromosomes
with CI<32

Chromosome No 46 -> Class 21

Chromosome No 45 -> Class 21

Chromosome No 43 -> Class 22

Chromosome No 41 -> Class 22

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 and 20 - the next four smallest chromosomes
with CI>40

Chromosome No 42 -> Class 19

Chromosome No 39 -> Class 19

Chromosome No 36 -> Class 20

Chromosome No 44 -> Class 20

Arranging chromosomes in Denver group E

Class 16, 17 and 18 - the 6 chromosomes from the 28th
to 40th by size with largest CI

Chromosome No 30 -> Class 16

Chromosome No 28 -> Class 16

Chromosome No 38 -> Class 17

Chromosome No 37 -> Class 17

Chromosome No 35 -> Class 18

Chromosome No 32 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group D

Class 13, 14 and 15 - the 6 chromosomes from the 24th
to 40th by size with smallest CI

Chromosome No 33 -> Class 13

Chromosome No 34 -> Class 13

Chromosome No 29 -> Class 14
Chromosome No 26 -> Class 14
Chromosome No 31 -> Class 15
Chromosome No 24 -> Class 15

Arranging chromosomes in Denver group C

Class 11 - the smallest two chromosomes from 5th to 27th
by size with CI between 37 and 43

Chromosome No 11 -> Class 11

Chromosome No 12 -> Class 11

Class 6 - the largest two chromosomes from the rest
between 5th and 27th by size

Chromosome No 9 -> Class 6

Chromosome No 14 -> Class 6

Class X - the largest next one or two chromosomes
from the rest between 5th and 27th by size

Chromosome No 15 -> Class X

Class 7, 8, 9, 10 and 12 - the rest chromosomes between 5th and
27th by size in decreasing order on CI

Chromosome No 27 -> Class 7

Chromosome No 21 -> Class 7

Chromosome No 25 -> Class 8

Chromosome No 18 -> Class 8

Chromosome No 19 -> Class 9

Chromosome No 16 -> Class 9

Chromosome No 23 -> Class 10

Chromosome No 20 -> Class 10

Chromosome No 17 -> Class 12

Chromosome No 22 -> Class 12

Chromosome No 21 -> Class 16
Chromosome No 26 -> Class 18
Chromosome No 31 -> Class 18

Arranging chromosomes in Denver group F

Class 19 - chromosomes with dark black band
over and/or under the centromere
Class 20 = the short arm is darker then the long one
Chromosome No 44 -> Class 20
Chromosome No 32 -> Class 20
Chromosome No 37 -> Class 19
Chromosome No 40 -> Class 19

Arranging chromosomes in Denver group G

Class 22 - chromosomes with black band
under the centromere
lighter then the same part in the 21st one
Chromosome No 46 -> Class 22
Chromosome No 41 -> Class 22
Chromosome No 38 -> Class 21
Chromosome No 45 -> Class 21