

การพัฒนาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์อัตโนมัติ
สำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา
Development of portable automated Papanicolaou (PAP) smear slide
analyzer for cervical cancer screening

รุจิรดา ทองชุม
Rujirada Thongchoom
ชญาณิศา สุขเกษม
Chayanisa Sukkasem

ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560

การพัฒนาาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์อัตโนมัติ
สำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา

Development of portable automated Papanicolaou (PAP) smear slide
analyzer for cervical cancer screening

รุจิรดา ทองชุม

Rujirada Thongchoom

ชญาณิศา สุขเกษม

Chayanisa Sukkasem

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

การพัฒนาาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสไลด์ PAP smear อัตโนมัติ
สำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา

Development of portable automated Papanicolaou (PAP) smear slide
analyzer for cervical cancer screening

นางสาว รุจิรดา	ทองชุม	รหัสประจำตัว	57011072
นางสาว ชญาณิศา	สุขเกษม	รหัสประจำตัว	57011306

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.เมทินี จรรยาสุภาพ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชาโครงการวิศวกรรมชีวการแพทย์ 1-2

สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

ปริญญานิพนธ์ สาขาวิศวกรรมชีวการแพทย์ ปีการศึกษา 2560

สาขาวิชา วิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะ วิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง การพัฒนาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสไลด์ PAP smear อัตโนมัติสำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา

Development of portable automated Papanicolaou (PAP) smear slide analyzer for cervical cancer screening

ผู้จัดทำ นางสาว รุจิรดา ทองชุม รหัสประจำตัว 57011072

นางสาว ชญาณิศา สุขเกษม รหัสประจำตัว 57011306

หัวข้อโครงการ	การพัฒนาระบบเซนเซอร์วิเคราะห์เชิงแสงเพื่อวิเคราะห์ภาพสไลด์แปป- สเมียร์อัตโนมัติสำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา	
นักศึกษา	นางสาว รุจิรดา	ทองชุม รหัสประจำตัว 57011072
	นางสาว ชญาณิศา	สุขเกษม รหัสประจำตัว 57011306
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	วิศวกรรมชีวการแพทย์	
ปีการศึกษา	2560	
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท	ดร.เมทินี จรรยาสุภาพ	

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งปากมดลูกเป็นโรคมะเร็งที่เป็นสาเหตุของการเสียชีวิตของผู้หญิงไทยเป็นอันดับที่ 1 และมีอัตราการพบผู้ป่วยรายใหม่จากโรคนี้อันเพิ่มขึ้นจำนวนมากในแต่ละปี อุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปากมดลูกสามารถลดลงได้ด้วยการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือวิธีการตรวจแปปสเมียร์ เป็นวิธีการตรวจคัดกรองโดยการวินิจฉัยจากลักษณะของเซลล์บริเวณปากมดลูก โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสงเพื่อการบันทึกภาพเซลล์จากสไลด์แปปสเมียร์ และกระบวนการการประมวลผลภาพเซลล์จากสไลด์แปปสเมียร์ เพื่อลดภาระของนักเซลล์วิทยา และเพิ่มโอกาสในการได้รับการตรวจคัดกรองของผู้หญิงไทย อุปกรณ์ถ่ายภาพพัฒนาและออกแบบจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงส่องผ่าน รวมทั้งการออกแบบแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติจากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ใช้หลักการทางคณิตศาสตร์มาประยุกต์สร้างกระบวนการการประมวลผลภาพเซลล์จากสไลด์แปปสเมียร์ การประเมินสมรรถนะของอุปกรณ์พบว่าระบบถ่ายภาพสามารถบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์ได้ด้วยแสงที่สม่ำเสมอและ แท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติสามารถเคลื่อนที่เสถียรภาพได้ในแนวแกนตั้งและแนวแกนลึกลับ และกระบวนการประมวลผลภาพสามารถวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์ได้มากกว่า 60%

Project Title	Development of portable automated Papanicolaou (PAP) smear slide analyzer for cervical cancer screening		
Student	Miss. Rujirada	Thongchoom	ID 57011072
	Miss. Chayanisa	sukkasem	ID 57011306
Degree	Bachelor of Engineering		
Major	Electronics Engineering		
Program	Biomedical Engineering		
Year	2017		
Thesis Advisor	Dr. Metini Chanyasuparb		

ABSTRACT

Presently, Cervical cancer is the first most common type cancer of all female cancer death in Thailand. The number of cervical cancer is increase in every year, but cervical cancer is preventable by Cervical cancer screening. The most popular method for Cervical cancer screening calls Pap smear test. This method, Cytologist examines by morphology change in cervix cells. The aim of this research is the first, design and construct the instrument, which can record cells images from pap smear slide, the second, develop and implement the Develop and implement the image processing algorithm for analyzing cervical cancer cells images. The instrument can reduce work load of Cytologist and help women to get cervical cancer screening easily. Our instrument use bright-field microscope for design. Use mechanical and electrical device for construct slide holder or stage, that can move on X, Y and Z axes automatically. The algorithm, we use mathematics for calculate and implement in image processing. By evaluating our instrument, the instrument can record cells images by good light and stable stage moving on Y and Z axes and the instrument can identify abnormal cells in images correctly more than 60%

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์การพัฒนาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์อัตโนมัติสำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยารวมถึงรายงานฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้เลย หากขาดความกรุณาจากคณะอาจารย์ที่ปรึกษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.เมทินี จรรรยา-สุภาพ ที่เป็นผู้มอบโอกาสการวิจัย ให้ความรู้และคำแนะนำมาโดยตลอดทั้งทางวิชาการและช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการดำเนินงาน อีกทั้ง ดร.สื่อนิจิตต์ เพ็ชรประสาน และ ดร.พิชญ์-สินี สุวรรณแพทย์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำทางการวิจัย ติดตามความคืบหน้าของงานและให้คำปรึกษาในการแก้ปัญหาทางงานวิจัย รวมถึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านและเพื่อนๆ ทุกคนที่ช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

รุจิรดา ทองชุม

ชญาณิศา สุขเกษม

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vii
สารบัญรูป	x
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์	3
1.3 สมมติฐาน	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	4
1.5 ขั้นตอนการศึกษา	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.7 โครงสร้างวิทยานิพนธ์	5
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 มะเร็งปากมดลูก	6
2.1.1 โครงสร้างของปากมดลูก	6
2.1.2 การเกิดมะเร็งปากมดลูก	11
2.1.3 การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก	15
2.2 กล้องจุลทรรศน์	29
2.2.1 การมองเห็นของมนุษย์	29
2.2.2 องค์ประกอบของกล้องจุลทรรศน์	31
2.3 เซนเซอร์รับภาพ	37
2.3.1 เซนเซอร์รับภาพประเภท CCD	39

เรื่อง	หน้า
2.3.2 เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS	40
2.4 ข้อมูลพื้นฐานของภาพ	41
2.4.1. ลักษณะพื้นฐานของภาพ	41
2.4.1.1 ข้อมูลภาพนิ่ง	42
2.4.1.2 ระบบสี	44
2.5 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพดิจิทัล	49
2.5.1 ภาพดิจิทัล	49
2.5.2 การประมวลผลภาพดิจิทัล	51
2.5.2.1 การแปลงข้อมูลรูปภาพในสองมิติ (Image Transformation)	51
2.5.2.2 การกรองภาพ (Image Filters)	55
2.5.2.3 การบีบอัดข้อมูลภาพ (Image Compression)	61
2.5.2.4 การปรับปรุงภาพ (Image enhancement)	61
2.6 การประมวลผลภาพทางการแพทย์	65
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	67
บทที่ 3 ระเบียบวิจัย	68
3.1 การออกแบบอุปกรณ์เซ็นเซอร์เชิงแสง	69
3.1.1. การออกแบบตัวอุปกรณ์บันทึกภาพและแทนยัดเคลื่อนที่อัตโนมัติ	69
3.1.2. ออกแบบและพัฒนาส่วนการควบคุมอุปกรณ์	87
3.1.3. การตั้งค่าเครื่อง	92
3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์บันทึกภาพและแทนยัดเคลื่อนที่อัตโนมัติ	95
3.2.1. ความสม่ำเสมอของแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีผลต่อ ความคมชัดของภาพที่ได้ของ	95
3.2.2. ความเสถียรภาพของแทนยัดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับแต่ละแกน	95
3.3. การออกแบบอัลกอริทึมและโปรแกรมประมวลผลภาพ	96
3.3.1. การประมวลผลภาพ	97
3.3.1.1. การเลือกภาพจากสไลด์	98
3.3.1.2. การปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ	109

เรื่อง	หน้า
3.3.1.3. ระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส	112
3.3.1.3. ระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไฮโดพลาซิม	116
3.4. การทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมประมวลผลภาพ	124
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 ภาพรวมของอุปกรณ์	126
4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์บันทึกภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ	128
4.2.1 ความสม่ำเสมอของแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีผลต่อ ความคมชัดของภาพที่ได้ ของอุปกรณ์	128
4.2.2 ความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับแต่ละแกน	129
4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมวิเคราะห์และประมวลผล	140
4.3.1 การตัดขอบภาพ	140
4.3.2 การหาพื้นที่นิวเคลียสของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์	143
4.3.3 การหาพื้นที่ไฮโดพลาซิมของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์	144
4.3.4 ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์	145
บทที่ 5 บทสรุป	148
ข้อเสนอแนะ	149

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงโอกาสในการก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูกของเชื้อไวรัส HPV สายพันธุ์ต่าง ๆ	11
ตารางที่ 2.2 ลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งที่พบบนสไลด์แปปสเมียร์หลังการย้อมสี	19
ตารางที่ 2.3 ลักษณะที่บ่งบอกความผิดปกติของเซลล์จากเชื้อ HPV และมะเร็งปากมดลูก	26
ตารางที่ 2.4 การเปรียบเทียบการรายงานผลแปปสเมียร์	27
ตารางที่ 2.5 แสดงความหมายของแถบสีบนเลนส์ไกล้องค์	34
ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร	71
ตารางที่ 3.2 แสดงความเข้มแสงตามแนวแกนต่าง ๆ ของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร โดยใช้กระแส 20 มิลลิแอมแปร์	71
ตารางที่ 3.3 แสดงคุณสมบัติของเซนเซอร์รับภาพ	77
ตารางที่ 3.4 แสดงผลการหาระยะที่ทำให้เกิดภาพบนระยะโฟกัสของเลนส์ไกล้องค์	93
ตารางที่ 3.5 ผลการบันทึกภาพและฟูเรียร์ของภาพที่ชัดที่สุดในการขยับในระยะต่าง ๆ ต่อครั้ง	94
ตารางที่ 3.6 แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ	101
ตารางที่ 3.6(ต่อ) แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ	102
ตารางที่ 3.6(ต่อ) แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ	103
ตารางที่ 3.7 แสดงค่าปริมาณพิกเซลที่มีอยู่ของระดับสีเทาของภาพเซลล์ต่าง ๆ	108
ตารางที่ 3.8 แสดงผลการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean ในจำนวนครั้งต่าง ๆ เพื่อหาจำนวนครั้งที่ เหมาะสมในการใช้ k-mean	115
ตารางที่ 3.8(ต่อ) แสดงผลการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean ในจำนวนครั้งต่าง ๆ เพื่อหาจำนวนครั้งที่ เหมาะสมในการใช้ k-mean	116
ตารางที่ 4.1 บันทึกผลการทดสอบความสม่ำเสมอของแหล่งกำเนิดแสง	128

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 4.6(ต่อ) แสดงค่าความคลาดเคลื่อนของตำแหน่งตัดภาพจากขอบจริง	142
ตารางที่ 4.7 ผลการหาพื้นที่นิวเคลียสจากการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean	143
ตารางที่ 4.8 ผลการหาพื้นที่ไฮโดพลาซึมของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์	144
ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์เซลล์ปกติของโปรแกรม	145
ตารางที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์ภาพเซลล์ที่มีความผิดปกติของโปรแกรม	146
ตารางที่ 4.11 ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์โปรแกรมประมวลผลภาพ	147

สารบัญรูปภาพ

รูป		หน้า
รูปที่ 2.1	แสดงส่วนประกอบบริเวณปากมดลูก	6
รูปที่ 2.2	ลักษณะและส่วนประกอบของปากมดลูก	7
รูปที่ 2.3	แสดงเซลล์เยื่อเมือกบริเวณปากมดลูก	7
รูปที่ 2.4	แสดงชั้นเซลล์ของ Squamous epithelium	8
รูปที่ 2.5	แสดงลักษณะเซลล์ของ Columnar epithelium	10
รูปที่ 2.6	แสดงระยะในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ก่อนการเกิดมะเร็ง	14
รูปที่ 2.7	อุบัติการณ์โรคมะเร็งปากมดลูกก่อนและหลังเริ่มดำเนินการโครงการ ตรวจคัดกรองมะเร็ง ปากมดลูกของในประเทศอังกฤษ	16
รูปที่ 2.8	ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณปากมดลูก	17
รูปที่ 2.9	อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณปากมดลูก	17
รูปที่ 2.10	สีที่เปลี่ยนของเซลล์จากการย้อมสีย้อมสีชนิดต่าง ๆ	18
รูปที่ 2.11	ลักษณะเซลล์หลังจากการย้อมสี	19
รูปที่ 2.12	ลักษณะ Superficial squamous cells และ Intermediate cells	21
รูปที่ 2.13	ลักษณะ Superficial squamous cells Parabasal cells และ Navicular cells	22
รูปที่ 2.14	ลักษณะ Endocervical cells	22
รูปที่ 2.15	ลักษณะของ Candida albicans	23
รูปที่ 2.16	ลักษณะของ Trichomonal Vaginitis	24
รูปที่ 2.17	ลักษณะของ Dust bunny จากแบคทีเรีย Actinomyces	25
รูปที่ 2.18	ลักษณะเซลล์จากการติดเชื้อไวรัส Herpes	25
รูปที่ 2.19	แสดงช่วงความยาวคลื่นที่ตาสามารถมองเห็น	29
รูปที่ 2.20	แสดงส่วนประกอบในการมองเห็นของตา	30
รูปที่ 2.21	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างกล้องจุลทรรศน์แบบง่ายและกล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน	31
รูปที่ 2.22	แสดงการเปรียบเทียบภายในระหว่างเลนส์ใกล้วัตถุทั้ง 3 ชนิด	32
รูปที่ 2.23	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างเลนส์ใกล้วัตถุแบบ Achromat และ Plan Achromat	33
รูปที่ 2.24	แสดงลักษณะและคุณลักษณะที่ถูกระบุลงบนเลนส์ใกล้วัตถุ	33
รูปที่ 2.25	แสดงความแตกต่างระหว่างเลนส์ประเภท Ramsden และ Huygenian	34

รูป	หน้า
รูปที่ 2.26 แสดงความแตกต่างระหว่างคอนเดนเซอร์ประเภทAbbeและAplanatic-achromatic	35
รูปที่ 2.27 แสดง Conjugate Plane ของกล้องจุลทรรศน์	36
รูปที่ 2.28 แสดงเซนเซอร์รับภาพแบบ CCD และ CMOS	38
รูปที่ 2.29 แสดงความแตกต่างระหว่างฟิลเตอร์เบเยอร์และฟิลเตอร์แบบ CMYG	38
รูปที่ 2.30 แสดงลักษณะและการทำงานของเซนเซอร์ประเภท CCD	39
รูปที่ 2.31 แสดงส่วนประกอบของเซนเซอร์รับภาพประเภท CCD	40
รูปที่ 2.32 แสดงลักษณะและการทำงานของเซนเซอร์ประเภท CMOS	40
รูปที่ 2.33 แสดงส่วนประกอบของเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS	41
รูปที่ 2.34 ภาพแสดงความสัมพันธ์ภาพนิ่งกับภาพเคลื่อนไหว	41
รูปที่ 2.35 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ RGB และภาพแสดงสีระบบ RGB	45
รูปที่ 2.36 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ CMYK	45
รูปที่ 2.37 ภาพแสดงการเปรียบเทียบระบบสี RGB กับ CMYK	46
รูปที่ 2.38 ภาพแสดงสีของระบบ HSB	47
รูปที่ 2.39 ภาพแสดงผลเปรียบเทียบระบบสี HSV กับ RGB	47
รูปที่ 2.40 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ Lab และภาพแสดงสีระบบ Lab	48
รูปที่ 2.41 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ Lab และภาพแสดงสีระบบ Lab	48
รูปที่ 2.42 ภาพแสดงผลระบบสี Binary	48
รูปที่ 2.43 ภาพระบบสีแบบ Index	49
รูปที่ 2.44 แสดงสัญญาณความถี่	52
รูปที่ 2.45 แสดงการเลื่อนตำแหน่งของวัตถุในภาพ	51
รูปที่ 2.46 แสดงเวกเตอร์การหมุนภาพ	52
รูปที่ 2.47 ภาพแสดงการหมุนภาพในองศาต่าง ๆ	53
รูปที่ 2.48 ภาพแสดงการหมุนภาพที่ไม่ใช่ตำแหน่งจุดเริ่มต้น	53
รูปที่ 2.49 แสดงการบิดภาพ	54
รูปที่ 2.50 แสดงผลการทำ morphology method	55
รูปที่ 2.51 ภาพแสดงผลการกรองข้อมูลโดยใช้ค่าเฉลี่ย	56
รูปที่ 2.52 แสดงผลการกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่ามัธยฐานในขนาดต่าง ๆ	57

รูป	หน้า
รูปที่ 2.53 ภาพแสดงผลการกรองความถี่ต่ำผ่าน	58
รูปที่ 2.54 แสดงผลการกรองความถี่สูงผ่าน	59
รูปที่ 2.55 กราฟแสดงการขยายความเข้มของโทนสี	62
รูปที่ 2.56 แสดงความถี่เชิงพื้นที่ในระดับต่าง ๆ	63
รูปที่ 2.57 แสดงหน้าต่างเคลื่อนที่ของวิธี Sobel	65
รูปที่ 2.58 ภาพแสดงผลการจับขอบด้วยวิธี Sobel	64
รูปที่ 2.59 แสดงกราฟอนุพันธ์ลำดับที่ 1 และ 2	64
รูปที่ 2.60 แสดงผลการจับขอบแบบ Laplacian	64
รูปที่ 2.61 ภาพถ่ายภาพถ่ายเอกซเรย์	65
รูปที่ 2.62 ภาพถ่าย CT scan	66
รูปที่ 2.63 ภาพถ่าย MRI	66
รูปที่ 2.64 ภาพถ่าย Ultrasound	66
รูปที่ 3.1 แผนดำเนินการวิจัย	68
รูปที่ 3.2 ภาพรวมในการทำงานของอุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสง	69
รูปที่ 3.3 ภาพรวมในการการออกตัวอุปกรณ์บันทึกภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ	69
รูปที่ 3.4 แผนภาพทางเดินแสงผ่านทัศนูปกรณ์	70
รูปที่ 3.5 แสดงวงจรไฟฟ้าของแหล่งกำเนิดแสง	72
รูปที่ 3.6 แสดงแผนภาพทางเดินแสงในส่วนคอนเดนเซอร์	72
รูปที่ 3.7 แสดงแผนภาพทางเดินแสงที่ผ่านเลนส์นูนแกมระนาบ	73
รูปที่ 3.8 แสดงรางที่ออกแบบสำหรับเรียงทัศนูปกรณ์	73
รูปที่ 3.9 แสดงอุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 1 และ 2 สำหรับเรียงทัศนูปกรณ์	74
รูปที่ 3.10 แสดงอุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 3 สำหรับเรียงทัศนูปกรณ์	74
รูปที่ 3.11 แสดงรางสำหรับเรียงทัศนูปกรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์	74
รูปที่ 3.12 แสดงอุปกรณ์สำหรับประกบข้างบนและด้านข้างของรางเรียงทัศนูปกรณ์	75
รูปที่ 3.13 แสดงรางเรียงทัศนูปกรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์พร้อมส่วนประกบด้านบนและด้านข้าง	75
รูปที่ 3.14 เครื่องพิมพ์ 3 มิติ (Flash forge Dreamer)	75
รูปที่ 3.15 เลนส์ใกล้วัตถุที่ใช้ในตัวอุปกรณ์	76

รูป	หน้า
รูปที่ 3.16 ออกแบบตัวยึดเลนส์ใกล้วัตถุที่ใช้ในตัวอุปกรณ์	77
รูปที่ 3.17 กล้อง DHLR ที่ใช้เป็นส่วนบันทึกภาพ ของอุปกรณ์	78
รูปที่ 3.18 แสดงภาพของบอลกรู	78
รูปที่ 3.19 แสดงภาพไมโครมิเตอร์	79
รูปที่ 3.20 แสดงภาพสเต็ปเปอร์มอเตอร์	79
รูปที่ 3.21 แสดงแบบจำลองบอลกรูสำหรับ ออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work	79
รูปที่ 3.22 แสดงแบบจำลองสเต็ปเปอร์สำหรับ ออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work	80
รูปที่ 3.23 แสดงส่วนของแกนขยับในแนวนอน	80
รูปที่ 3.24 แสดงส่วนของแกนขยับในแนวตั้ง	80
รูปที่ 3.25 แสดงแบบจำลองไมโครมิเตอร์สำหรับ ออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work	81
รูปที่ 3.26 แสดงส่วนเชื่อมระหว่างสเต็ปเปอร์ มอเตอร์และไมโครมิเตอร์	81
รูปที่ 3.27 ส่วนเชื่อมระหว่างไมโครมิเตอร์และ ส่วนที่ใช้สำหรับติดตั้ง สำหรับการขยับตามแนวความลึก	81
รูปที่ 3.28 ส่วนที่ใช้สำหรับติดตั้งสำหรับการ ขยับตามแนวความลึก	82
รูปที่ 3.29 ลูกปืนสไลด์และแท่งเหล็ก	82
รูปที่ 3.30 ออกแบบส่วนสำหรับใส่แท่งเหล็กและ ที่ยึดลูกปืน	82
รูปที่ 3.31 ออกแบบส่วนสำหรับขยับตามแนว ความลึก	83
รูปที่ 3.32 ออกแบบส่วนสำหรับขยับตาม แนวนอน แนวตั้งและตามความลึก	83
รูปที่ 3.33 แสดงภาพแท่นวางสไลด์ตัวอย่าง	84
รูปที่ 3.34 แสดงที่ใส่สไลด์ตัวอย่าง	84
รูปที่ 3.35 แสดงภาพประกอบที่ใส่สไลด์และแท่นวางสไลด์ตัวอย่าง	84
รูปที่ 3.36 แสดงภาพประกอบส่วนสำหรับขยับตามแนวนอน แนวตั้งและตามความลึก และแท่นวางสไลด์	85
รูปที่ 3.37 แสดงส่วนที่วางของรางสำหรับเรียงทัศนูปกรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์	85
รูปที่ 3.38 แสดงส่วนที่วางของที่ยึดเลนส์ใกล้วัตถุ	86
รูปที่ 3.39 แสดงส่วนทางเดินแสง และแท่นวางสไลด์เคลื่อนที่อัตโนมัติประกอบกัน	86
รูปที่ 3.40 แสดงที่วางกล้อง	86

รูป	หน้า
รูปที่ 3.41 แสดงแผนผังการสั่งงานของกล้อง	87
รูปที่ 3.42 แผนผังการควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ที่ควบคุมแต่ละแกนเคลื่อนที่	87
รูปที่ 3.43 แสดงวงจรควบคุมสเต็ปเปอร์มอเตอร์ ที่ควบคุมการเคลื่อนที่ในแกนนอนและแนวตั้ง	88
รูปที่ 3.44 แสดงวงจรควบคุมการจ่ายไฟให้กับอาร์ดูโนตัวที่ 2 จากอาร์ดูโนตัวที่ 1 และรีเลย์	89
รูปที่ 3.45 แสดงหน้าจอการทำงานของโปรแกรมอาร์ดูโน	89
รูปที่ 3.46 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ ในแกนตั้งผ่าน คอมพิวเตอร์	90
รูปที่ 3.47 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ ในแกนตั้งผ่านรีเลย์และอาร์ดูโนตัวที่ 1	90
รูปที่ 3.48 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ ในแกนตั้ง แกนนอนและ แกนความลึกอาร์ดูโนตัวที่ 1 และอาร์ดูโนตัวที่ 2	91
รูปที่ 3.49 แผนผังการสั่งงานของอุปกรณ์	92
รูปที่ 3.50 แผนภาพแสดงกระบวนการประมวลผลภาพ	98
รูปที่ 3.51 แผนภาพขั้นตอนการเลือกภาพคมชัดในแต่ละตำแหน่งบนสไลด์แปปสเมียร์	99
รูปที่ 3.52 แสดงกราฟฮิสโตแกรมจากการทำฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ	100
รูปที่ 3.53 ภาพเปรียบเทียบค่าความคมชัดของภาพตัวอย่าง	100
รูปที่ 3.54 แผนภาพขั้นตอนการตัดขอบภาพที่มีผลต่อการประมวลผลภาพ	104
รูปที่ 3.55 แสดงแนวเส้นทแยงมุมเพื่อทำการระบุขอบภาพ	104
รูปที่ 3.56 กราฟระดับสีเทาตลอดเส้นทแยงมุม	105
รูปที่ 3.57 แผนภาพขั้นตอนการแยกภาพเซลล์จากภาพสไลด์เปล่า	106
รูปที่ 3.58 ภาพเปรียบเทียบจำนวนพิกเซลของพื้นหลัง	107
รูปที่ 3.59 แผนภาพขั้นตอนการปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ	109
รูปที่ 3.59(ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ	110
รูปที่ 3.60 ภาพอ้างอิงและฮิสโตแกรมของภาพ	110
รูปที่ 3.61 แสดงการปรับฮิสโตแกรมของภาพ	111
รูปที่ 3.62 แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส	112
รูปที่ 3.62(ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส	113

รูป	หน้า
รูปที่ 3.63 ภาพหลังการปรับสีภาพ imageHistogram จากฟังก์ชันหลัก	114
รูปที่ 3.64 ภาพการแยกสีโดยวิธี k-mean clustering จำนวน 1 ครั้งและ 2 ครั้ง	114
รูปที่ 3.65 ภาพการแยกสีโดยวิธี k-mean clustering จำนวน 1 ครั้งและ 2 ครั้ง	115
รูปที่ 3.66 แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม	117
รูปที่ 3.66(ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม	118
รูปที่ 3.66(ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม	119
รูปที่ 3.66(ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม	120
รูปที่ 3.67 ภาพแสดงระดับสีเทาตามแนวแกน y ที่ตำแหน่งจุดศูนย์กลางนิวเคลียส	121
รูปที่ 3.68 ภาพกราฟแสดงความชันของกราฟระดับสีเทาตามแนวแกน y ที่ตำแหน่งจุดศูนย์กลาง นิวเคลียสทุก 10 จุด	121
รูปที่ 3.69 แสดงการแบ่งกลมที่ใช้ในการหมุนภาพ	122
รูปที่ 3.70 ภาพแสดงการระบุตำแหน่งของขอบไซโตพลาซึมในแต่ละองศา	122
รูปที่ 3.71 แผนภาพขั้นตอนการคำนวณอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม	123
รูปที่ 3.72 ภาพแสดงการระบุเซลล์ผิดปกติ	124
รูปที่ 3.73 แสดงการประเมินความไวและความจำเพาะของการทดสอบ	125
รูปที่ 4.1 อุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสงสำหรับวิเคราะห์ภาพสไลด์ Pap smear	126
รูปที่ 4.2 ภาพเซลล์บนสไลด์แปปสมียร์ที่ผ่านการประมวลผลโดยโปรแกรม	127
รูปที่ 4.3 ภาพแสดงจุดเปรียบเทียบเพื่อเลือกตัดภาพ	140
รูปที่ 4.4 ภาพแสดงนิวเคลียสที่กระจายอยู่บนสไลด์แปปสมียร์	143
รูปที่ 4.5 แสดงพื้นที่ไซโตพลาซึม	145

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก พบว่าในปี 2015 มีประชากรโลกเสียชีวิตจากโรคมะเร็ง 8.8 ล้านคนหรือคิดเป็นจำนวน 1 ใน 6 ของประชากรโลกที่เสียชีวิตลง ในประเทศไทย จากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุข ในปี 2016 พบว่ามะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 1 ของคนไทย มีอัตราการเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งประมาณ 60,000 คนต่อปี มะเร็งเป็นโรคที่พบมากในผู้สูงอายุและในปัจจุบันแนวโน้มในการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ เริ่มพบมากขึ้นในคนที่มีอายุน้อยลง เป็นโรคที่ทำให้เกิดการทุกข์ทรมาน โดยเฉพาะอวัยวะหรือในบริเวณที่มีการรุกรานของเซลล์มะเร็งและเป็นโรคที่ใช้จ่ายค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง

โรคมะเร็งเกิดจากการที่เซลล์ปกติมีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็งโดยเกิดจากการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ มีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลา รวมถึงมีความสามารถในการรุกรานเซลล์ใกล้เคียง และมีการกระจายไปยังอวัยวะที่ไกลออกไป จากผลการศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดการผิดปกติของเซลล์ มีดังนี้ อาหารก่อมะเร็ง สารเคมีที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม การติดเชื้อไวรัส และการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ซึ่งการหลีกเลี่ยงปัจจัยดังกล่าว การเลือกทานอาหาร ตรวจร่างกายเป็นประจำ การฉีดวัคซีน และการตรวจหามะเร็งในระยะเริ่มแรก ทำให้สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงได้ เช่น มะเร็งเต้านมและมะเร็งปากมดลูกโดยชนิดของโรคมะเร็งจะถูกเรียกตามบริเวณหรืออวัยวะที่เกิดการผิดปกติของเซลล์ เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง เป็นต้น

จากข้อมูลของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ รายงานว่าในปี พ.ศ. 2554 มะเร็งที่เป็นปัญหาสำคัญ 5 อันดับแรกของประเทศ คือ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ซึ่งคิดเป็น 56.38% ของมะเร็งทั้งหมดที่ทำให้คนไทยเสียชีวิต โดยมะเร็งปากมดลูก เป็นโรคมะเร็งที่พบมากอันดับสองของผู้หญิงไทย แต่มีสถิติการเสียชีวิตเป็นอันดับ 1 สถิติโรคมะเร็งปากมดลูก จากกรมอนามัยของประเทศไทยพบว่าผู้หญิงไทยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งปากมดลูก 4,500 คนต่อปี และพบผู้ป่วยรายใหม่ 8,000 คนต่อปี โดยสาเหตุของการเกิดมะเร็งปากมดลูกส่วนใหญ่เกิดจากการที่ผู้ป่วยไม่ได้รับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก

จากข้อมูลอนามัยโลกรายงานว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกรายใหม่พบในประเทศที่กำลังพัฒนา โดยอุบัติการณ์การเกิดโรคและอัตราการเสียชีวิตขึ้นอยู่กับระบบการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกและการได้รับวัคซีน ป้องกันเชื้อ Human Papillomavirus หรือเรียกสั้นๆ ว่า HPV

ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสที่ติดต่อทางเพศสัมพันธ์เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณอวัยวะเพศ เชื้อ HPV มีมากกว่า 1,000 สายพันธุ์ แต่มี 14 สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการผิดปกติของเซลล์บริเวณปากมดลูกและอาจกลายเป็นเซลล์มะเร็งได้ในอนาคต โดยเฉพาะสายพันธุ์ 16 และ 18 ที่ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปากมดลูกมากถึงร้อยละ 80 และมากกว่าผู้หญิงทั่วไปถึง 35 เท่า โดยระยะเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ตั้งแต่ได้รับเชื้อ จนเกิดมะเร็งปากมดลูก ใช้เวลานานเฉลี่ยมากกว่า 10 ปี หลังจากได้รับเชื้อ HPV วิธีการตรวจคัดกรอง ถือว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุด เพราะการตรวจพบในระยะแรก จะสามารถรักษาได้ทันทีและมีความคุ้มค่า เนื่องจากวัคซีนป้องกันเชื้อ HPV มีราคาแพงการฉีดวัคซีนจะได้ผลและเกิดประโยชน์มากที่สุดควรฉีดก่อนมีเพศสัมพันธ์ครั้งแรก นอกจากนี้ผู้หญิงที่ได้รับวัคซีนยังควรต้องเข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกเพราะวัคซีนไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อ HPV ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ในปัจจุบันมีวิธีการที่ใช้ในตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกหลากหลายวิธี ยกตัวอย่าง เช่น conventional Papanicolaou (Pap) smear และ Liquid Based Cytology ในประเทศไทย วิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือแปปสเมียร์เพราะมีความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ที่ค่อนข้างสูง ค่าใช้จ่ายไม่สูง มีความปลอดภัย ไม่ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อน และผลการตรวจเป็นที่ยอมรับวิธีการตรวจแปปสเมียร์เป็นวิธีทางเซลล์วิทยาโดยการเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณปากมดลูก โดยใช้ Spatula หรือแปรง หลังจากนั้นป้ายตัวอย่างลงบนสไลด์ ทำการตรึงเซลล์แล้วนำไปผ่านการย้อมสีเซลล์ ที่เรียกว่า Papanicolaou stain เพื่อให้เห็นลักษณะของเซลล์และนิวเคลียสที่ชัดเจน ผู้วินิจฉัยคือ นักเซลล์วิทยาและพยาธิแพทย์โดยวินิจฉัยจากลักษณะของเซลล์โดยวิเคราะห์จาก

1. รูปร่างหรือขนาดนิวเคลียสที่ใหญ่ขึ้นโดยดูจากอัตราส่วนระหว่างขนาดของนิวเคลียสและขนาดของไซโตพลาซึม

2. ผนังนิวเคลียสที่ผิดปกติ

3. ลักษณะผิวของเซลล์

4. สีที่ติดจากการย้อม

การตรวจแปปสเมียร์ในประชาชนเพศหญิง ทุก ๆ 5 ปี และมีความครอบคลุม ร้อยละ 50 จะสามารถช่วยลดอัตราการเกิดของมะเร็งปากมดลูกของประชาชนเพศหญิงได้ถึงร้อยละ 44

ในการตรวจแปปสเมียร์ต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญและประสบการณ์ ในการวินิจฉัยลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติ ซึ่งในปัจจุบันพนักงานเซลล์วิทยา และพยาธิแพทย์มีจำกัด ส่งผลให้เกิดการขาดแคลนผู้ที่เชี่ยวชาญ ภาระที่ผู้เชี่ยวชาญได้รับต่อวันมีจำนวนมาก อาจส่งผลให้เกิดความเหนื่อยล้า เพราะการตรวจแปปสเมียร์ต้องใช้สมาธิในการจัดจ่อ ในการวิเคราะห์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ การเหนื่อยล้าส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติได้และจากข้อมูลการสำรวจพบว่าจากกลุ่มตัวอย่าง มีผู้หญิงที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงมากถึงร้อยละ 68 และผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง

ปากมดลูกร้อยละ 50 ที่ไม่เคยได้รับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ส่งผลให้ในปัจจุบัน รัฐบาลได้มีการสนับสนุนการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกเพื่อมุ่งลดอัตราการเพิ่มขึ้นและเสียชีวิตของผู้ป่วยโดยมีการณรงค์ให้ผู้หญิงไทยได้รับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกมากยิ่งขึ้น

จากข้อมูลเบื้องต้น งานวิทยานิพนธ์นี้ มีแนวคิดที่ในการออกแบบอุปกรณ์ที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก โดยพัฒนาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพเพื่อวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์เพื่อช่วยในการลดภาระและความผิดพลาดในการวินิจฉัยของพนักงานเซลล์วิทยาและพยาธิแพทย์ อีกทั้งยังสามารถนำมาแก้ปัญหาการขาดแคลนบุคลากร สำหรับโรงพยาบาลท้องถิ่น รวมถึงนำมาใช้ในหน่วยแพทย์อาสาเคลื่อนที่เพื่อเพิ่มอัตราการได้รับการตรวจคัดกรองของผู้หญิงเพื่อป้องกันและลดอัตราการเกิดความผิดปกติของเซลล์และมะเร็งปากมดลูกในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างอุปกรณ์ถ่ายภาพสไลด์แปปสเมียร์ด้วยระบบอัตโนมัติที่อาศัยสเต็ปเปอร์มอเตอร์ในการเคลื่อนที่แทนวงสไลด์ในแนวนอน แนวตั้งและแนวความลึก เพื่อให้ได้ภาพก่อนเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์โรคมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา
2. เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการประมวลผลภาพเซลล์จากสไลด์แปปสเมียร์
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพระบบของอุปกรณ์ถ่ายภาพและโปรแกรมประมวลผลภาพเซลล์จากสไลด์แปปสเมียร์

1.3 สมมติฐาน

1. อุปกรณ์ถ่ายภาพสำหรับวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์สามารถบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์ โดยการควบคุมกล้องดิจิทัลผ่านโปรแกรม MATLAB
2. อุปกรณ์ถ่ายภาพสำหรับสามารถขยับเลื่อนแทนวงสไลด์ในแนวนอน แนวตั้งและแนวความลึก เพื่อให้ได้ภาพจากบริเวณต่าง ๆ ของสไลด์ได้และขยับเพื่อปรับความชัด โดยการควบคุมผ่านสเต็ปเปอร์มอเตอร์
3. ระบบประมวลผลวิเคราะห์ภาพทางเซลล์วิทยา สามารถวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์และระบุเซลล์ที่มีความผิดปกติหรือมะเร็งปากมดลูกได้

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1. การออกแบบอุปกรณ์ถ่ายภาพเซลล์สไลด์แปปสเมียร์ สร้างขึ้นโดยใช้ระบบแสงและทัศนศาสตร์ ประกอบด้วยระบบแสงโคเลอริในการรวมแสงเข้าสู่สไลด์แปปสเมียร์ เลนส์ใกล้วัตถุและเซนเซอร์รับภาพความละเอียดสูง
2. ควบคุมระบบการทำงานด้วยระบบไมโครคอนโทรลเลอร์ผ่านโปรแกรม MATLAB
3. การควบคุมการเคลื่อนที่ของสไลด์แปปสเมียร์อาศัยสเต็ปเปอร์มอเตอร์ บอลกรูและไมโครมิเตอร์ ในระบบ 3 แกนคือ แกนแนวนอน แกนแกนตั้งและความลึก
4. การวิเคราะห์ภาพเซลล์ใช้การคำนวณอัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสและไซโตพลาซึมในการวิเคราะห์และแยกประเภทเซลล์

1.5 ขั้นตอนการศึกษา

- 1.5.1. ศึกษาหลักการและทฤษฎีทางด้านแสงทัศนูปกรณ์และกลไกการทำงานของอุปกรณ์ทางด้านเครื่องกล
- 1.5.2. ศึกษากระบวนการวิเคราะห์และประมวลผลภาพ รวมถึงฟังก์ชันและเทคนิคการวิเคราะห์ภาพ โดยโปรแกรม MATLAB
- 1.5.3. ออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพสำหรับภาพสไลด์แปปสเมียร์
- 1.5.4. ทดสอบการทำงานของอุปกรณ์และประสิทธิภาพการวิเคราะห์และประมวลผลภาพ
- 1.5.5. แก้ไขและปรับปรุงอุปกรณ์และทดลองซ้ำ
- 1.5.6. เก็บข้อมูลผลการทดลอง
- 1.5.7. สรุปผลการศึกษาคำวิจัย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการสร้างองค์ความรู้ทางวิชาการด้านวิศวกรรมเพื่อนำมาพัฒนาการแพทย์ โดยมีการผสมผสานทฤษฎีทางแสงและทัศนูปกรณ์ ระบบอิเล็กทรอนิกส์ และการสร้างโปรแกรมระบบประมวลผลภาพทางการแพทย์มาประยุกต์ใช้ในการออกแบบสร้างและพัฒนาระบบถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพแบบอัตโนมัติสำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา

2. เป็นอุปกรณ์ที่จะมีประโยชน์ช่วยในการวินิจฉัยคัดกรองมะเร็งปากมดลูก และสามารถร่นระยะเวลา ลดความผิดพลาดในการคัดกรองของบุคลากรทางการแพทย์ อีกทั้งทำให้เกิดการเข้าถึงการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในผู้หญิงเพิ่มมากขึ้น การเข้ารับการตรวจอย่างสม่ำเสมอ มีโอกาสในการตรวจพบความผิดปกติได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ซึ่งจะสามารถรักษาให้หายเป็นปกติได้ทันเวลาที่
3. เป็นอุปกรณ์ที่สามารถผลิตขึ้นได้เองภายในประเทศจึงมีต้นทุนต่ำ ช่วยลดการนำเข้าอุปกรณ์เครื่องมือแพทย์ ส่งเสริมการสร้างนวัตกรรมใหม่ ๆ รวมถึงการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกเป็นการป้องกันการเกิดมะเร็งปากมดลูก ซึ่งสามารถช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกของประชาชนและรัฐบาล

1.7 โครงสร้างวิทยานิพนธ์

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้แบ่งเนื้อหาออกเป็น 5 บท ในแต่ละบทมีเนื้อหาดังต่อไปนี้

บทที่ 1 กล่าวถึง ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา วัตถุประสงค์ สมมุติฐาน ขอบเขตของโครงการงาน ขั้นตอนการศึกษา แผนการดำเนินงานโครงการ และประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

บทที่ 3 การออกแบบพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพและวิธีการวิเคราะห์ประมวลผลภาพ

บทที่ 4 การทดลองและผลการทดลอง

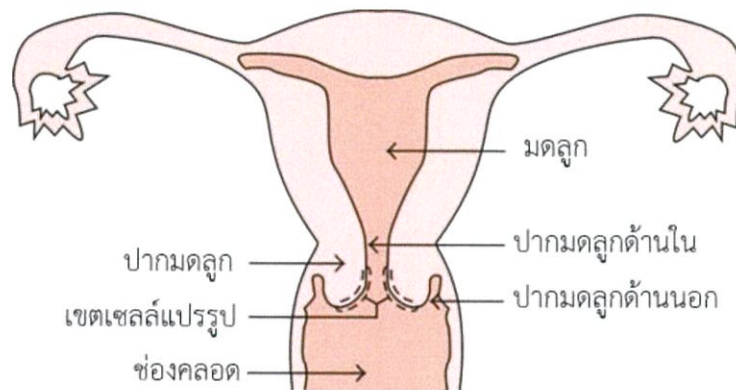
บทที่ 5 การสรุปผลและข้อเสนอแนะแนวทางในพัฒนาอุปกรณ์ต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1. มะเร็งปากมดลูก

2.1.1. โครงสร้างของปากมดลูก ปากมดลูกเป็นส่วนที่คอดแคบลงของมดลูกเข้าสู่บริเวณช่องคลอด อยู่ระหว่างมดลูกและช่องคลอด ประกอบด้วย ช่องปากมดลูก ปากมดลูกด้านนอก ช่องคอมดลูก ปากมดลูกด้านใน และ เซตเซลล์แปรรูป



รูปที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบบริเวณปากมดลูก

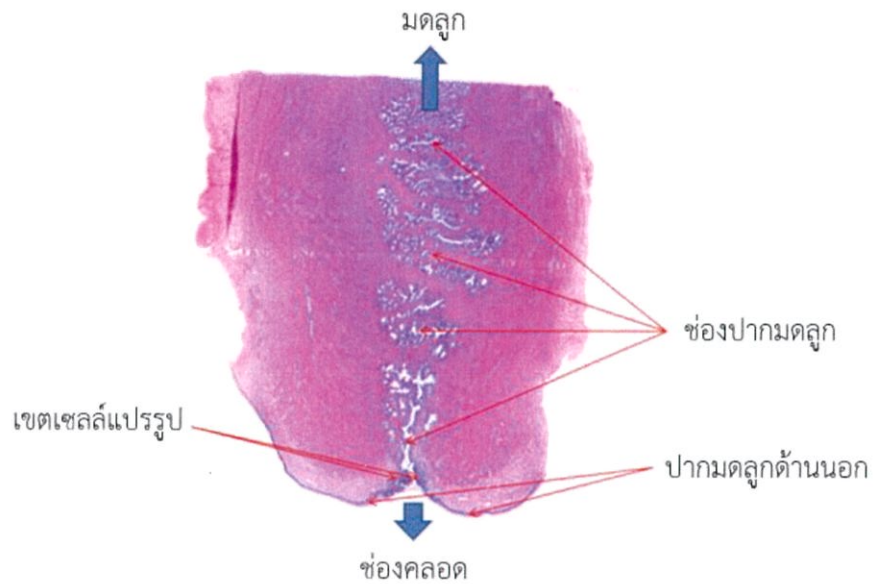
ปากมดลูกด้านนอก คือ ส่วนภายนอกของปากมดลูกที่ยื่นเข้าไปในบริเวณช่องคลอด มีขนาดเท่าเมล็ดวอลนัท ลักษณะกลมมน ถูกปกคลุมด้วยเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวลักษณะแบนเป็นแผ่น (squamous epithelium) เรียงตัวกันหลายชั้น

ช่องปากมดลูก มีลักษณะเป็นท่อ เชื่อมระหว่างช่องคลอดและมดลูก ด้านที่อยู่ในบริเวณช่องคลอด เรียกว่า external OS และด้านที่เปิดเข้าสู่มดลูก เรียกว่า internal OS

ปากมดลูกด้านใน คือ บริเวณเนื้อเยื่อโดยรอบของช่องปากมดลูก บริเวณนี้มีเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงกระบอก (columnar epithelium) เรียงตัวอยู่และปกคลุมด้วยเซลล์ต่อมเรียงตัวกันชั้นเดียว เซลล์ต่อมผลิตกรดและเมือก ประกอบด้วย อีเล็กโทรไลต์ และน้ำตาลเชิงเดี่ยว

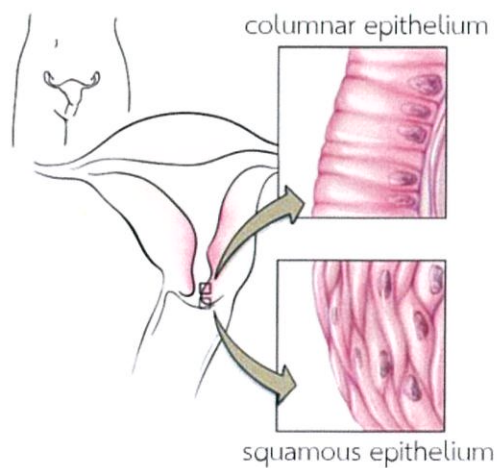
ช่องคอมดลูก คือบริเวณระหว่าง ปากมดลูกด้านในและปากมดลูกด้านนอก เป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างเนื้อเยื่อบุผิวจาก squamous epithelium เข้าสู่ columnar epithelium

เขตเซลล์แปรรูป คือบริเวณที่เนื้อเยื่อผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก squamous epithelium เข้าสู่ columnar epithelium เป็นบริเวณที่พบการผิดปกติมากที่สุด อยู่ระหว่างช่องคอมดลูกและปากมดลูกด้านนอก



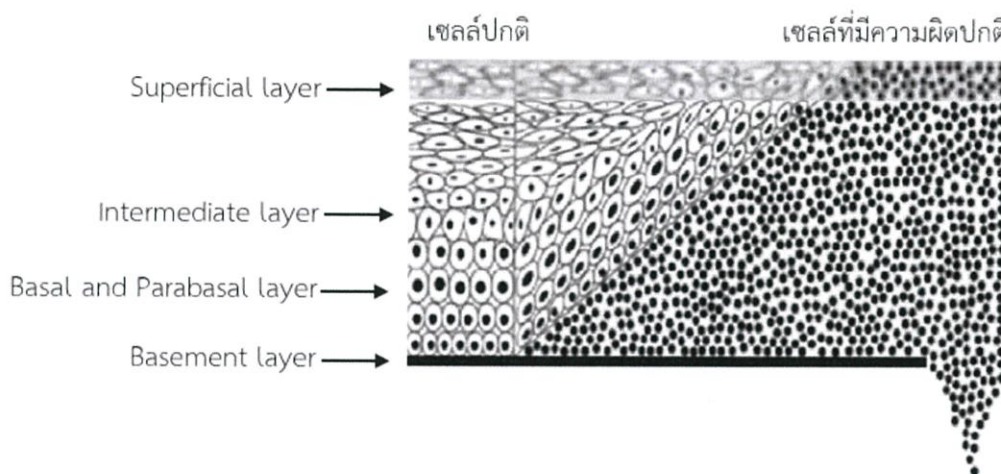
รูปที่ 2.2 ลักษณะและส่วนประกอบของปากมดลูก

บริเวณปากมดลูกถูกประกอบไปด้วยเซลล์เยื่อผิวหนัง 2 ประเภทได้แก่ Squamous epithelial cells และ Columnar epithelial cells



รูปที่ 2.3 แสดงเซลล์เยื่อผิวหนังบริเวณปากมดลูก

ในส่วนของ Squamous epithelium ปกคลุมบริเวณปากช่องคลอดและในบริเวณมดลูก ด้านนอก บางส่วนในผู้หญิงที่โตเต็มวัย Squamous epithelium ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ เรียงตัวกัน 4 ชั้น ประกอบด้วยเซลล์ชั้นบนสุด (Superficial layer) หรือชั้นเซลล์ผิว (Surface layer) เป็นชั้นที่ตื้นที่สุด เซลล์ชั้นกลาง (Intermediate layer) ชั้นพาราเบซัลเซลล์ (Parabasal cell layer) และชั้นเบซัลเซลล์ (Basal cell layer) แต่ละชั้นจะมีเซลล์ที่มีลักษณะแตกต่างกันออกไป Squamous epithelium มีความหนาประมาณ 0.2 มิลลิเมตร



รูปที่ 2.4 แสดงชั้นเซลล์ของ Squamous epithelium

เซลล์ชั้นบนสุด (Superficial layer) หรือชั้นเซลล์ผิว (Surface layer) ในชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะแบน รูปร่างหลายเหลี่ยมและมีขนาดใหญ่เรียงตัวกันหลายชั้น เซลล์ในชั้นนี้มีไซโทพลาซึมโปร่งแสงที่ติดสีอ่อนและนิวเคลียสติดสีทึบ

เซลล์ชั้นกลาง (Intermediate layer) ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงตัวกันหลายชั้น เซลล์ในชั้นนี้มีลักษณะแบน ไซโทพลาซึมมีไกลโคเจนจำนวนมาก มีนิวเคลียสโปร่งแสง ขนาดเล็กอยู่กลางเซลล์

ชั้นพาราเบซัลเซลล์ (Parabasal cell layer) เนื้อเยื่อส่วนนี้ประกอบไปด้วยเซลล์ที่มีลักษณะเป็นทรงกลมและเซลล์ที่มีลักษณะหลายด้าน มีนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาซึมหนาขอบเซลล์มีลักษณะคล้ายหนามที่ยื่นไปยึดกับเซลล์ข้างเคียง

ชั้นเบซัลเซลล์ (Basal cell layer) เป็นชั้นที่อยู่ใตสุดของ Squamous epithelium เนื้อเยื่อในชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างทรงกระบอกเรียงตัวกันเป็นชั้นเดียวบนเยื่อรองรับฐาน ซึ่งประกอบด้วย เส้นใยคอลลาเจนบาง ๆ เล็ก ๆ โกลโคโปรตีน และพอลิแซ็กคาไรด์กลุ่มไกลโคซามิโนไกลแคน มีกระบวนการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะกลมหรือเป็นรูปไข่ มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่ตรงกลาง กินเนื้อที่เกือบทั้งหมดของเนื้อที่ภายในเซลล์ ภายในชั้นนี้เซลล์ที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ที่จะเคลื่อนย้ายไปยังชั้นบนสุดหรือชั้นเซลล์ผิว เกิดกระบวนการบวสร้างเซลล์ภายในชั้นนี้ขึ้นตลอดเวลา

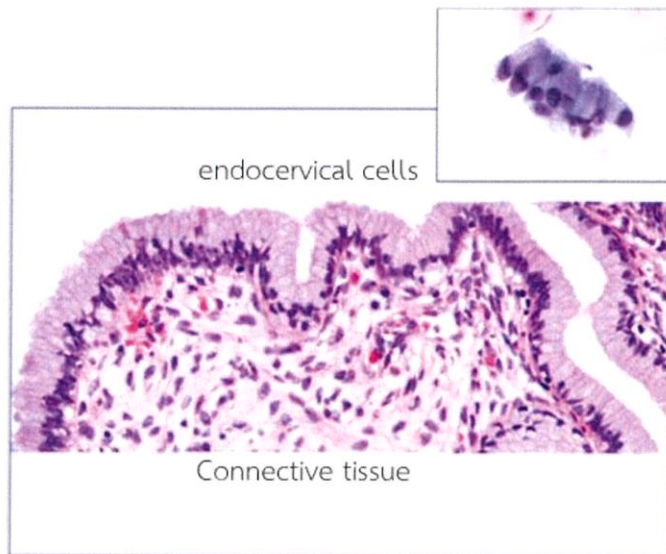
เซลล์ในเนื้อเยื่อ Squamous epithelium สามารถผลัดเซลล์ให้หลุดออกไปได้ โดยขึ้นอยู่กับระดับการเจริญเติบโตของเซลล์ เซลล์จะหลุดออกจากชั้นบนสุด ยกเว้นการนำตัวอย่างเซลล์ออกไปโดยการขีดหรือปาดตัวอย่างเซลล์ออกมา เช่นการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกจะสามารถพบเซลล์ทั้ง 4 ชนิดได้จากการเก็บตัวอย่าง

สำหรับ Columnar epithelium จะเริ่มปกคลุมตั้งแต่ในบริเวณเขตเซลล์แปรรูป บริเวณปากมดลูกด้านใน และ แอ่งว้าบริเวณปากมดลูกด้านใน ประกอบไปด้วย

เซลล์ของเยื่อบุผิวปากมดลูกด้านใน (Endocervical Cells) มีลักษณะเป็นทรงกระบอกสูง มีหน้าที่ในการผลิตสารเมือกเพื่อป้องกันแบคทีเรียและเชื้อรา เซลล์ของเยื่อบุผิวปากมดลูกด้านในมีเรียงตัวกันมีลักษณะคล้ายรั้ว นิวเคลียสของเซลล์จะอยู่ติดกับเยื่อรองรับฐาน แต่เมื่อเซลล์เกิดกระบวนการผลิตสารเมือก นิวเคลียสสามารถเปลี่ยนตำแหน่งไปยังกลางเซลล์ได้ ในสภาวะที่เกิดการติดเชื้อของปากมดลูก อาจทำให้ปากมดลูกอยู่ในสภาวะขาด หรือพร่องสารเมือก เซลล์ของเยื่อบุผิวปากมดลูกด้านในมีการหดตัวสั้นลงและเกิดการแบ่งตัวแบบไมโทซิส อาจพบได้บางครั้งในช่วงสภาวะปกติ หรือระยะก่อนเกิดมะเร็ง

เซลล์ซีเลีย (ciliated cells) จำนวนมากที่บริเวณปากมดลูกด้านใน ทำหน้าที่ในการช่วยขนส่งสารเมือกไปยังบริเวณต่าง ๆ มีลักษณะเป็นท่อ สามารถพบได้หลังจากการผ่าตัดโดยการตัดเฉพาะปากมดลูกเป็นรูปกรวย

เซลล์สำรอง (reserve cell) มีรูปร่างคล้ายลูกบาศก์ ขนาดเล็กเรียงตัวลึกลงไปจาก Endocervical Cells เกิดขึ้นเมื่อเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เซลล์สำรองพบมากบริเวณเขตเซลล์แปรรูป สามารถบ่งชี้ได้โดยการย้อมสีพิเศษทางอิมมูโนพยาธิวิทยา



รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะเซลล์ของ Columnar epithelium

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Metaplasia) ปากมดลูกและพื้นฐานทางสรีรวิทยา

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Metaplasia) คือ กระบวนการแปรรูปของเซลล์หรือเนื้อเยื่อชนิดหนึ่ง ไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เจริญเต็มที่อีกชนิดหนึ่งโดยผ่านการกระตุ้น เช่นการระคายเคืองหรือการตอบสนองต่อฮอร์โมน เช่น การเจริญเติบโตและการสุกของไข่

ขั้นตอนทางจุลกายวิภาคมี 3 ขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่ 1 การแบ่งเซลล์ของ Reserve cell ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์

ขั้นที่ 2 Reserve cell แบ่งตัวมากขึ้นเพื่อสร้าง parabasal cells บนผิวสามารถเห็น columnar cell ที่ทำหน้าที่ในการสร้างเมือกได้

ขั้นที่ 3 parabasal cells เจริญเติบโตเต็มที่ ใกล้กับ squamous epithelium ซอกของปากมดลูกด้านในสามารถเห็นได้ลึกเข้าไป

2.1.2. การเกิดมะเร็งปากมดลูก

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก ได้แก่ Human papillomavirus (HPV) เชื้อไวรัสชนิดหนึ่ง ถูกตรวจพบในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกร้อยละ 99.7 มีหลากหลายสายพันธุ์มากกว่า 100 สายพันธุ์ สามารถติดต่อได้จากการมีเพศสัมพันธ์ จากการศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของเนื้องอก พบว่ามะเร็งปากมดลูกส่วนใหญ่มีการรวม DNA ของไวรัสไว้ในจีโนมของมนุษย์ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเกิดมะเร็ง เชื้อไวรัส HPV เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งปากมดลูก หูดที่อวัยวะเพศ มะเร็งปากช่องคลอด มะเร็งทวารหนัก และมะเร็งองคชาติ (อวัยวะเพศชาย) เชื้อ HPV ก่อให้เกิดโรคมะเร็งโดยการผลิตโปรตีนมะเร็ง โดยสายพันธุ์ที่พบบ่อยมากในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 16 และ 18 ทั้งสองสายพันธุ์นี้ถูกพบถึงร้อยละ 70 ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก เชื้อไวรัส HPV ถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ประเภทความเสี่ยงต่ำและความเสี่ยงสูง

ตารางที่ 2.1 แสดงโอกาสในการก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูกของเชื้อไวรัส HPV สายพันธุ์ต่าง ๆ

	ประเภท	สายพันธุ์
กลุ่ม 1	ก่อให้เกิดมะเร็งในคน	HPV 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59
กลุ่ม 2A	มีโอกาสนในการก่อมะเร็งในคนสูง	HPV 68
กลุ่ม 2B	มีโอกาสนในการก่อมะเร็งในคนต่ำ	HPV 26,53,64,65,66,67,69,70,73,82
กลุ่ม 3	ไม่ก่อให้เกิดมะเร็งในคน	HPV 6,11

HPV ประเภทความเสี่ยงต่ำ จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดหูดที่อวัยวะเพศ และภาวะการติดเชื้อชั่วคราว ส่วนมากระบบภูมิคุ้มกันสามารถกำจัดสิ่งเหล่านี้ออกไปได้ โดยการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อและรักษาเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายโดยการสร้างเซลล์ขึ้นมาใหม่

HPV ประเภทความเสี่ยงสูงเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดมะเร็งปากมดลูก มีลักษณะคล้ายการติดเชื้อชั่วคราว แต่ การติดเชื้อมีแนวโน้มคงอยู่ได้นานมากขึ้น เชื้อ HPV ประเภทความเสี่ยงสูงจะสามารถรวมตัวกับ DNA ภายในมนุษย์ได้ และก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูก เมื่อเวลาผ่านไป

ปัจจัยอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูก ส่วนมากเกี่ยวข้องกับการเกิดการติดเชื้อ HPV หรือลดผลการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อและการเจริญเติบโตของมะเร็ง ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่

1. การสูบบุหรี่ สารเคมีในบุหรี่เมื่อทำปฏิกิริยากับเซลล์บริเวณปากมดลูก ทำให้เกิดระยะก่อนเป็นมะเร็งและลุกลามกลายเป็นมะเร็งในที่สุด

2. สภาวะภูมิต้านทานต่ำ หรือมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง จากการศึกษาพบว่า การติดเชื้อ HPV ในผู้ป่วยโรคเอดส์และความรุนแรงของการกดภูมิคุ้มกัน ดูจากจำนวน CD4+ และ T-cell ซึ่งจะมีผลโดยตรงกับความชุกของเชื้อ HPV โดยความเสี่ยงเพิ่มขึ้น 5 เท่า
3. โรคหนองในเทียม หรือมีประวัติการเป็นโรคทางเพศสัมพันธ์ การติดเชื้อคลาไมเดีย ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคหนองในเทียม หรือเป็นเริ่มที่อวัยวะเพศ เป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการพัฒนาของมะเร็งปากมดลูก หรือการป่วยเป็นเนื้องอกหรือมะเร็งบริเวณช่องคลอดและปากช่องคลอดเพราะโรคดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ HPV ผู้หญิงที่ป่วยด้วยโรคดังกล่าว จะมีความเสี่ยงในเกิดมะเร็งปากมดลูกมากขึ้นด้วย
4. การทานอาหารที่ไม่ถูกหลักโภชนาการ
5. โรคอ้วน
6. มีคู่นอนหลายคน ผู้หญิงที่มีเพศสัมพันธ์หรือคู่นอนหลายคน จะมีความเสี่ยงในการพัฒนาของมะเร็งปากมดลูกเพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่าเมื่อมีคู่นอนมากกว่า 6 คน และ ความเสี่ยงเพิ่มเป็น 2 เท่าเมื่อมีคู่นอน 2 คน เทียบกับผู้หญิงที่มีคู่นอนเพียงคนเดียว
7. มีเพศสัมพันธ์ก่อนวัยอันควร ผู้หญิงที่มีเพศสัมพันธ์ขณะมีอายุน้อยกว่า 18 ปีและระหว่าง 18-20 ปี จะมีความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปากมดลูกเพิ่มขึ้น 2 เท่าเมื่อเทียบกับผู้หญิงที่มีเพศสัมพันธ์ครั้งแรกในอายุมากกว่า 21 ปี
8. ใช้น้ำคุมกำเนิดในระยะที่นาน ความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งปากมดลูกจะแปรผันกับระยะเวลา (5 ปี หรือมากกว่า) ในการใช้น้ำคุมกำเนิด ความเสี่ยงจะลดลงหลังจากหยุดใช้น้ำ หรือการใช้น้ำไม่ต่อเนื่อง
9. ใช้น้ำคุมกำเนิดในระยะที่นาน
10. มีบุตรหลายคนและมีบุตรตั้งแต่อายุน้อยกว่า 17 ปี ผู้หญิงที่มีอายุน้อยขณะให้กำเนิดบุตรคนแรกหรือมีบุตรมากกว่า 3 คน จะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งปากมดลูก โดยการติดเชื้อ HPV ผ่านการมีเพศสัมพันธ์
11. ภาวะยากจน ในประเทศอเมริกา ผู้หญิงที่อาศัยอยู่ในสังคมที่มีความยากจนมาก ๆ เสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งปากมดลูกมากกว่า ผู้ที่ไม่มีปัญหาความยากจนถึงร้อยละ 71
12. พันธุกรรม ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น 2 เท่าในรุ่นแม่กับลูก

ซึ่งปัจจัยข้างต้นถือเป็นแรงจูงใจที่ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก ไม่ใช่สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคและการพัฒนาไปสู่โรดังกล่าว

พยาธิวิทยา

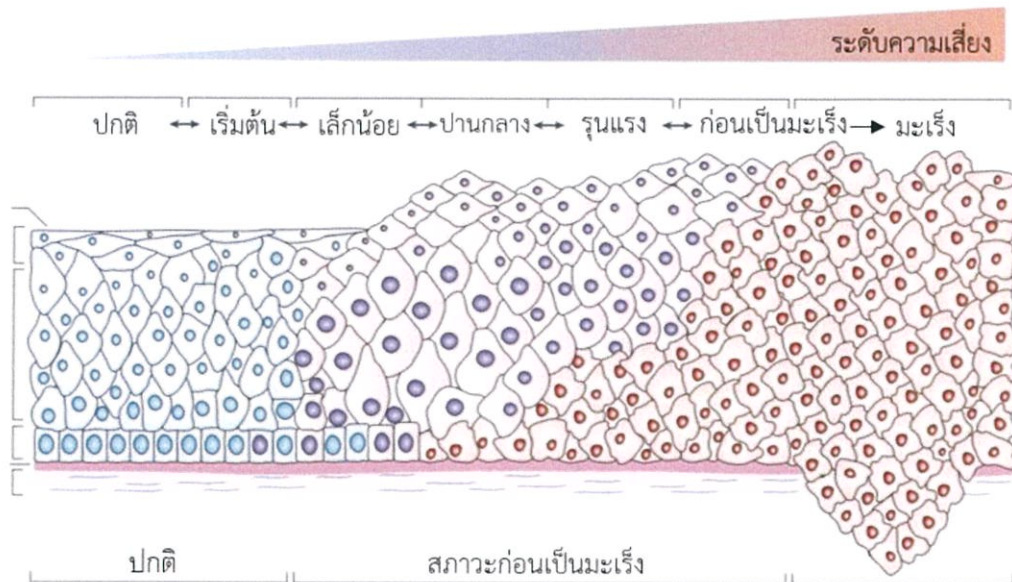
โดยเฉลี่ยแล้วมะเร็งปากมดลูก เริ่มต้นจากการติดเชื้อ HPV เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ จนเกิดลักษณะที่เรียกว่า ระยะก่อนเกิดมะเร็ง และพัฒนาไปเป็นมะเร็งในระยะเวลาประมาณ 15 ปี ปกติการติดเชื้อ HPV ที่อวัยวะเพศสามารถพบได้ทั่วไป ส่วนใหญ่จะเป็นการติดเชื้อแบบชั่วคราว การทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูกในผู้หญิงพบเป็นส่วนน้อยผ่านการติดเชื้อแบบทนทาน

ขั้นตอนในการพัฒนาทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก

1. การติดเชื้อของเซลล์เยื่อบุบริเวณเขตเซลล์แปรรูปจาก HPV สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก
2. การติดเชื้อ HPV แบบทนทาน
3. เกิดการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อบุผิว ก่อนเป็นระยะก่อนเกิดมะเร็ง
4. การเจริญเติบโตและการลุกลามของเซลล์ในระยะก่อนเกิดมะเร็งจนก่อเกิดเป็นมะเร็ง กลไกการเกิดมะเร็งปากมดลูก

มะเร็งปากมดลูก (squamous cell cervical carcinoma) พัฒนาจากสภาวะก่อนการเกิดมะเร็งปากมดลูก คือ เซลล์ที่เกิดการผิดปกติอยู่บริเวณเนื้อเยื่อบุผิว เป็นเซลล์ที่ไม่รุกรานไปยังเซลล์อื่น เรียกว่า cervical intraepithelial neoplasia (CIN) โดยเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ HPV

การพัฒนาของ cervical intraepithelial neoplasia (CIN) เริ่มจาก ระยะที่ 1 เรียกว่า CIN 1 การเปลี่ยนแปลงเริ่มจากเยื่อบุผิวที่อยู่ลึกสุดและขยายไปทั่ว กลายเป็นระยะที่ 3 เข้าสู่การเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งปากมดลูก เกิดจากการถูกรุกรานของเซลล์บริเวณปากมดลูก โดยเซลล์ที่ผิดปกติจะอาศัยอยู่ที่เนื้อเยื่อบุผิว squamous epithelium



รูปที่ 2.6 แสดงระยะในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ก่อนการเกิดมะเร็ง

การลุกลามของมะเร็งปากมดลูก

การลุกลามของมะเร็งปากมดลูก มี 3 ทางสำคัญ ได้แก่

1. การลุกลามโดยตรงไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง

เซลล์มะเร็งที่มีความอันตรายจะกระจายตัวโดยการลุกลามไปยังบริเวณรอบ ๆ การกระจายตัวของมะเร็งอาจจะลามไปยังมดลูก ช่องคลอด เนื้อเยื่อบริเวณช่องคลอดและมดลูก บริเวณช่องท้อง กระเพาะปัสสาวะ และลำไส้ตรง การแพร่กระจายหลัก ๆ คือการกระจายไปยังบริเวณที่กระจายไปได้ง่ายที่สุด การกระจายอีกรูปแบบคือการกระจายไปยังบริเวณที่ไกล ๆ ได้แก่ บริเวณร่องที่ล้อมรอบส่วนนอกของปากและคอมดลูก ลุกลามไปยังด้านหลังโดยเนื้องอกขนาดใหญ่ช่วงกลางและปลายของช่องคลอด

2. การลุกลามผ่านทางต่อมน้ำเหลือง

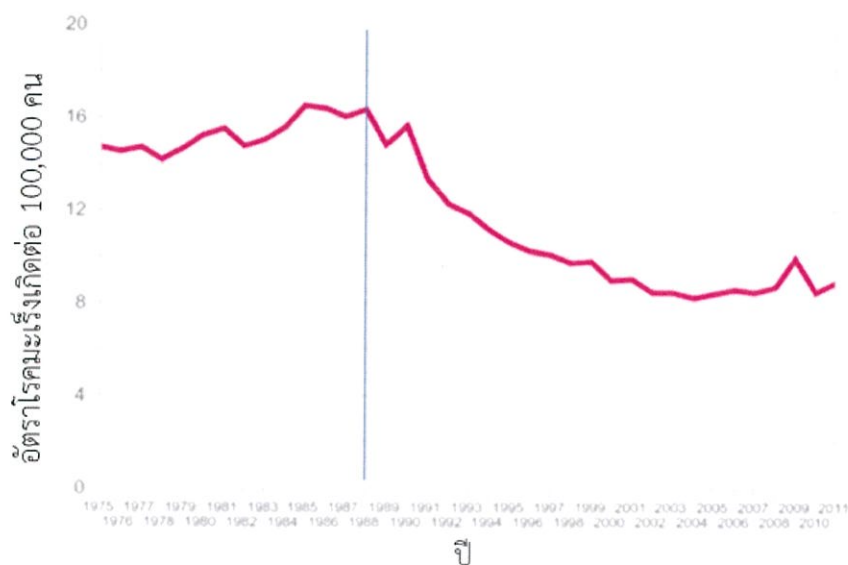
การกระจายของมะเร็งผ่านทางต่อมน้ำเหลืองผ่านการขนส่งสารผ่านระบบน้ำเหลือง เป็นทางหลักในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยเริ่มจากต่อมที่ผนังด้านข้างของอุ้งเชิงกราน ช่องของต่อมน้ำเหลืองมีขนาด 1-2 มิลลิเมตรจากเยื่อรองรับฐาน การอุดตันของต่อมน้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลืองจะนำไปสู่การเกิดเนื้องอกขนาดใหญ่

3. การลุกลามผ่านกระแสเลือด

การแพร่กระจายทางกระแสเลือดพบในผู้ป่วยร้อยละ 5 ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก บริเวณที่ถูกพบในการแพร่กระจายผ่านทางกระแสเลือด ได้แก่ ปอด ตับ และกระดูก ผู้ป่วยที่มีขนาดใหญ่และอาการป่วยรุนแรงจะมีการแพร่กระจายทางเลือดโดยผ่านหลอดเลือด หลอดเลือดฝอย หลอดเลือดดำ ท่อน้ำเหลือง ทอราซิกเป็นท่อน้ำเหลืองขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกายและท่อน้ำเหลืองขนาดเล็ก

2.1.3. การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก เป็นการป้องกันการเกิดและการพัฒนาการเกิดมะเร็งปากมดลูก โดยการตรวจหาระยะก่อนเกิดมะเร็ง หรือระยะที่เรียกว่า Intraepithelial neoplasia หรือเรียกสั้น ๆ ว่า CIN ของปากมดลูก ซึ่งนำไปสู่การรักษาโดยการตัดจี้ หรือผ่าตัดชิ้นเนื้อจะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งปากมดลูกได้

Papanicolaou (Pap) smears คือหนึ่งในวิธีในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก โดยการตรวจดูเซลล์ที่นำมาจากบริเวณปากมดลูกด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจหามะเร็ง ระยะก่อนเกิดมะเร็งปากมดลูก หรือสภาวะอื่น ๆ ทางกายวิภาค วิธีนี้ถูกค้นพบโดย Dr. George N.Papnicolou นักสรีระวิทยา ในประเทศอเมริกา เขาศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของฮอร์โมนเอสโตรเจน ที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของผู้หญิง ในปี 1926 ได้รายงานเกี่ยวกับการค้นพบเซลล์เนื้องอกพร้อมกับมะเร็งปากมดลูก ซึ่งนำไปสู่การตีพิมพ์ การวินิจฉัยมะเร็งบริเวณปากมดลูกโดยการสเมียร์เซลล์จากช่องคลอดโดย แพป-สเมียร์สามารถช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปากมดลูกและอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งปากมดลูกได้ถึงร้อยละ 75 โดยดูจากการเปลี่ยนแปลงของบริเวณเขตเซลล์แปรรูปซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดการเปลี่ยนแปลงและการติดเชื้อ HPV มากที่สุด การตรวจโดยวิธีสเมียร์ช่องคลอดหรือแปปสเมียร์ เป็นวิธีที่ง่าย มีค่าใช้จ่ายไม่สูงและมีความแม่นยำ วิธีนี้ถูกใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกมานานกว่า 50 ปี ในประเทศอังกฤษ มีผู้เข้ารับการตรวจแปปสเมียร์ 3 ล้านคนต่อปี โดยอุบัติการณ์โรคมะเร็งปากมดลูกหลังเริ่มดำเนินการโครงการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกของลดลงเมื่อเวลาผ่านไป



รูปที่ 2.7 อุบัติการณ์โรคมะเร็งปากมดลูกก่อนและหลังเริ่มดำเนินการโครงการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกของในประเทศอังกฤษ

การเก็บตัวอย่าง

ปากมดลูกประกอบด้วย เนื้อเยื่อผิวที่ปกคลุมบริเวณช่องปากมดลูกด้านใน Squamous epithelium ที่ปกคลุมบริเวณช่องปากมดลูกด้านนอกและบริเวณที่เซลล์เยื่อทั้งสองมาบรรจบกัน เรียกว่า Squamocolumnar junction หรือบริเวณเขตเซลล์แปรรูป การเปลี่ยนแปลงของเซลล์จะเริ่มจาก Squamocolumnar junction และลุกลามไปยังปากมดลูกด้านนอกและปากมดลูกด้านใน บริเวณเขตเซลล์แปรรูปจะเป็นบริเวณที่ถูกนำตัวอย่างออกมา สำหรับการตรวจคัดกรองควรทำในทุก ๆ 1 ปี ถ้ามีการใช้ Liquid-base cytoplasm (LBC) การตรวจคัดกรองสามารถยืดระยะเวลาออกเป็นทุก ๆ 2 ปี ควรเริ่มตรวจเมื่อมีอายุ 21 ปีหรือ 3 ปีหลังจากมีกิจกรรมทางเพศ และหยุดการตรวจคัดกรองเมื่อมี อายุ 70 ปี เมื่อไม่พบเซลล์ที่มีแนวโน้มผิดปกติมากกว่า 10 ปี

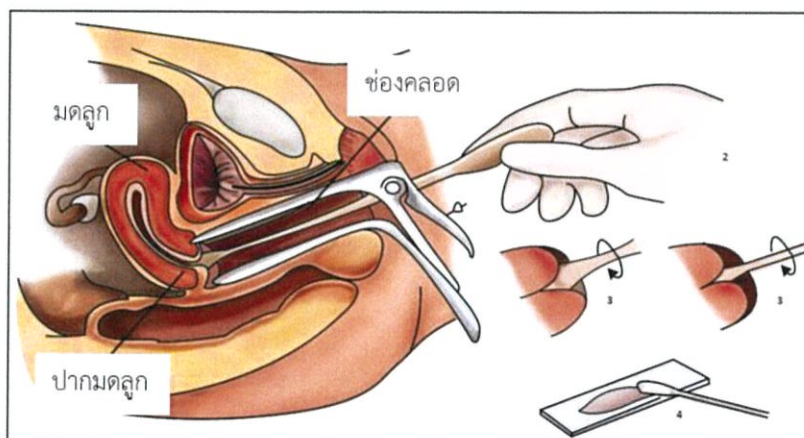
การตรวจ Pap smear ควรทำในช่วงครึ่งหลังการมีประจำเดือน (วันที่ 14) การเก็บตัวอย่างเซลล์ควรทำด้วยอุปกรณ์ที่เหมาะสมกับผู้ป่วย ผู้ป่วยต้องงดกิจกรรมทางเพศ การใช้ยาในช่องคลอดหรือยาคุมกำเนิดระยะเวลา 48 ชั่วโมงก่อนเก็บตัวอย่าง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

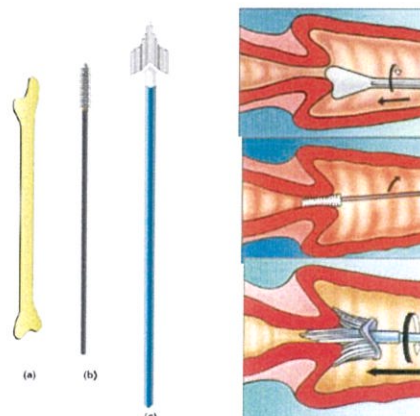
1. ไม้พายหรืออุปกรณ์เก็บตัวอย่างจากบริเวณเขตเซลล์แปรรูป
2. แปรงสำหรับการเก็บเซลล์จากบริเวณมดลูกด้านใน

วิธีการเก็บเซลล์ตัวอย่าง

ขณะทำการเก็บตัวอย่างผู้ป่วยจะถูกจัดให้นั่งอยู่ในท่านอนชันขาหยั่ง ช่องคลอดถูกเปิดด้วยเครื่องมือถ่างขยายช่องคลอด ทำให้สามารถมองเห็นปากมดลูกได้ หลังจากนั้นนำอุปกรณ์เก็บตัวอย่างสอดเข้าผ่านปากมดลูกด้านนอกเข้าไปปลายของอุปกรณ์เก็บตัวอย่างจะผ่านไปยัง Squamocolumnar junction และถูกขูดเนื้อเยื่อบริเวณนั้นออกโดยการหมุนไม้อุปกรณ์ 360 องศา บริเวณที่ถูกขูดออกมาจะถูกปาดบนสไลด์แก้วด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์หรือสเปรย์สำหรับตรึงเซลล์ เพื่อการรักษาสภาพเซลล์ การตรึงเซลล์จะสามารถกำจัดแบคทีเรียและหยุดการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ การตรึงเซลล์สำหรับแปปสเมียร์ ต้องคำนึงถึงว่าสไลด์ตัวอย่างต้องมองเห็นได้ชัดเจนผ่านกล้องจุลทรรศน์ การตรึงเซลล์สามารถทำได้โดยการอิมมัลชัน หรือการแช่สไลด์ในแอลกอฮอล์น้อยกว่า 15-20 นาที หลังจากนั้นนำไปย้อมสีด้วยวิธี Papanicolaou Staining สารที่ใช้สำหรับการตรึงเซลล์สำหรับแปปสเมียร์ คือ 95% เอทานอล



รูปที่ 2.8 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณปากมดลูก



รูปที่ 2.9 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเซลล์จากบริเวณปากมดลูก

กระบวนการย้อมสี

การย้อมสีเซลล์ตัวอย่าง เป็นการบ่งชี้ลักษณะเซลล์เพื่อบอกแยกประเภทของเซลล์ ลักษณะนิวเคลียส ลักษณะของไซโตพลาซึมเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ความผิดปกติของเซลล์ ในการย้อมสีเซลล์จะใช้สีประเภทเอซิด (acidic dye) เป็นสีย้อมที่แตกตัวให้อนุมูลประจุลบ จึงย้อมติดส่วนที่มีประจุบวกหรือบริเวณที่เป็นเบสภายในเซลล์ และประเภทเบสิก (basic dyes) แตกตัวให้อนุมูลประจุบวก จึงย้อมติดส่วนที่มีประจุลบหรือบริเวณที่เป็นกรดภายในเซลล์ ในการย้อม Papanicolaou (Pap) smears ใช้สารย้อม 5 ชนิด ได้แก่

ฮีมาโตทอกซิลิน (Hematoxylin) ใช้ในการย้อมสีนิวเคลียส ติดสีฟ้า ฮีมาโตทอกซิลินจะจับกับโครมาตินและโครงสร้างกลุ่มซัลเฟสภายในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

Orange Green 6 ใช้ในการย้อมไซโตพลาซึมของเซลล์ที่มีสารเคราตินและเป็นเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ ความเข้มของสีจะแตกต่างกันไปตามโครงสร้างของเซลล์

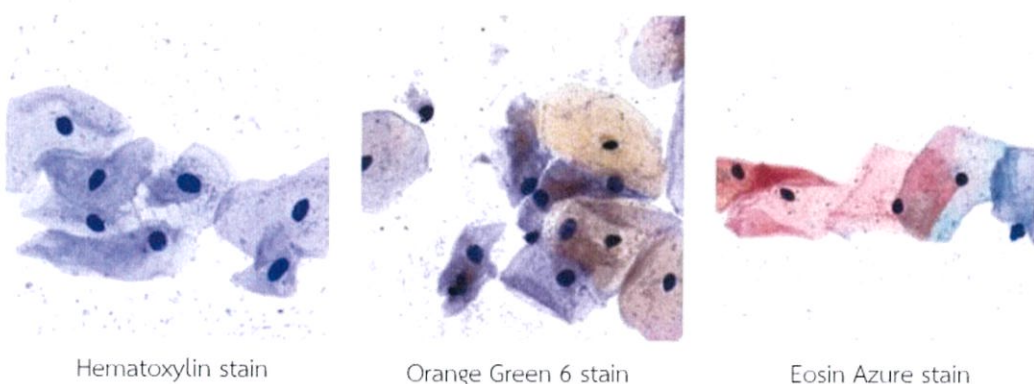
Eosin Azure เป็นสารที่ใช้ย้อมทับไซโตพลาซึมเป็นอันดับสอง ประกอบไปด้วย eosin Y light green SF และ Bismarck brown

eosin Y สีชมพูติดไซโตพลาซึมของ Squamous cells ซีเลียและเม็ดเลือดแดง

light green SF ให้สีฟ้ากับไซโตพลาซึมของเซลล์ที่เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึม เช่น Parabasal squamous cells Intermediate squamous cells และ Columnar cells

Bismarck brown ไม่เกิดการติดสีกับเซลล์ใด ๆ

ขั้นตอนการย้อม มี 2 วิธีที่ใช้ในการย้อมสีของ Papanicolaou (Pap) smears คือ เทคนิคการย้อมแบบ progressive และ regressive staining



Hematoxylin stain

Orange Green 6 stain

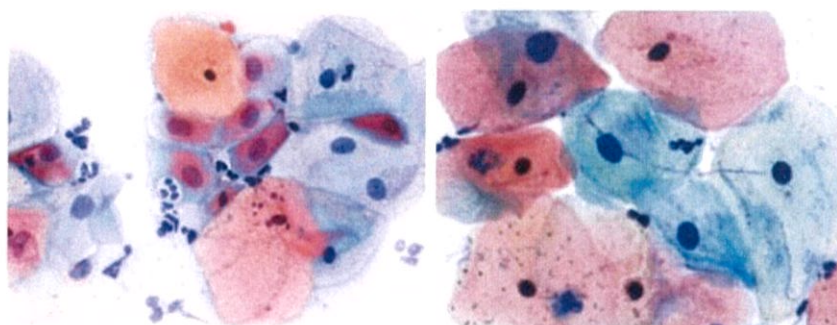
Eosin Azure stain

รูปที่ 2.10 สีที่เปลี่ยนของเซลล์จากการย้อมสารย้อมชนิดต่าง ๆ

การย้อมแบบ Progressive Papanicolaou Staining เป็นขั้นตอนในการย้อมนิวเคลียสโดยใช้ Hematoxylin เพื่อให้ได้ความเข้มตามที่ต้องการ ซึ่งควบคุมโดยการนำสไลด์ไปให้น้ำไหลผ่านจนกลายเป็นสีฟ้า

การย้อมแบบ Regressive Papanicolaou Staining เป็นขั้นตอนการย้อมโครงสร้างและส่วนต่าง ๆ ทุกส่วนภายในเซลล์ เช่น นิวเคลียส ไซโตพลาซึม และควบคุมความเข้มของสีโดยการล้างสีออกด้วยวิธี Acid alcohol differentiation และทำให้เป็นสีน้ำเงินด้วยต่างอ่อนเพื่อให้นิวเคลียสติดสีได้ดีมากขึ้น

ผลที่ได้จากการย้อมสีแบบ Papanicolaou Staining ทั้งสองแบบ



Progressive Papanicolaou Staining Regressive Papanicolaou Staining

รูปที่ 2.11 ลักษณะเซลล์หลังจากการย้อมสีทั้ง 2 วิธี

ตารางที่ 2.2 ลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งที่พบบนสไลด์แปปสเมียร์หลังการย้อมสี

สิ่งต่าง ๆ ที่พบบนสไลด์แปปสเมียร์	สีที่ติด
นิวเคลียส	สีน้ำเงิน
ไซโตพลาซึม	เซลล์เป็นกรดติดสีแดง เซลล์เป็นด่างติดสีฟ้าเขียวอ่อน
เซลล์เม็ดเลือดแดง	สีส้มหรือแดง
เซลล์ที่มีเคราติน	สีส้มหรือแดง
เซลล์ชั้นบนสุดหรือเซลล์ผิว	สีชมพู
เซลล์ชั้นกลางและ Parabasal cells	สีฟ้าออกเขียว
เซลล์เม็ดเลือดขาว	สีส้มหรือแดง
เชื้อรา	สีแดง
โปรโตซัว	สีเขียวออกเทา

หลังจากการกระบวนกรเก็บตัวอย่างเซลล์ การตรึงเซลล์และการย้อมสี สไลด์แปปสเมียร์ จะถูกนำไปวินิจฉัยโดยนักเซลล์วิทยา เป็นผู้ตรวจคนแรก เป็นผู้ที่ถูกฝึกให้สามารถตรวจหาเซลล์ที่ผิดปกติท่ามกลางเซลล์จากปากมดลูกหลายพันเซลล์ สไลด์แปปสเมียร์ที่มีการตรวจพบเซลล์ที่มีความผิดปกติ จะถูกส่งไปยังนักวิทยาศาสตร์ที่มีความอาวุโสหรือพยาธิวิทยาที่ปรึกษา ที่สามารถแบ่งประเภทของเซลล์ที่มีความผิดปกติได้ สำหรับการจัดหาแพทย์และการดูแลผู้ป่วยอย่างเหมาะสม

สิ่งสำคัญต่อการวินิจฉัยของนักเซลล์วิทยาหรือพยาธิแพทย์คือคุณภาพสไลด์และการเก็บตัวอย่างเซลล์พอเพียงพอต่อการวินิจฉัย ซึ่งจะประกอบไปด้วยสิ่งต่าง ๆ ดังนี้

1. มีจำนวน Squamous cells เพียงพอต่อการวินิจฉัย
2. มีเซลล์ตัวอย่างจากบริเวณเขตเซลล์แปรรูป
3. การปาดหรือการสเมียร์ตัวอย่างลงบนสไลด์แก้ว เซลล์มีเพียง 1 ชั้น ไม่ซ้อนทับกัน
4. เซลล์ตัวอย่างจากบริเวณปากมดลูกไม่ถูกบดบังด้วยเลือด เซลล์ที่มีการอักเสบและสารแปลกปลอมอื่น ๆ
5. สไลด์ตัวอย่างที่ผ่านการตรึงเซลล์และการย้อมสีถูกเก็บอย่างเหมาะสม

ในการทำแปปสเมียร์ในส่วนของการเก็บตัวอย่างเซลล์จะมีจุดมุ่งหมายในการเก็บ Epithelial cell จากบริเวณ Non-keratinising squamous epithelium เขตเซลล์แปรรูปและปากมดลูกด้านใน แต่ก็มีเซลล์ชนิดอื่น และสิ่งแปลกปลอมในบริเวณดังกล่าวปรากฏอยู่ในสไลด์แปปสเมียร์ด้วย สิ่งต่าง ๆ ที่พบบนสไลด์แปปสเมียร์ประกอบด้วย

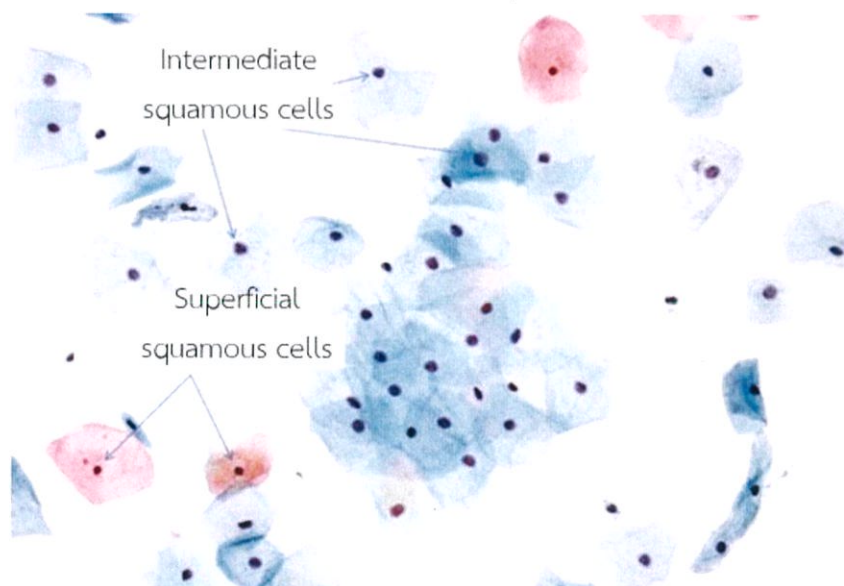
1. Squamous epithelial cells จากบริเวณปากมดลูกด้านนอก ที่ประกอบไปด้วยชั้นเซลล์หลายชั้น ได้แก่
 - Superficial squamous cell
 - Intermediate squamous cell
 - Parabasal squamous cell
 - Navicular cell
2. Columnar epithelium จากช่องบริเวณปากมดลูกด้านใน จะประกอบด้วย Endocervical cells
3. Metaplastic squamous cell จากบริเวณเขตเซลล์แปรรูป
4. จุลินทรีย์และแบคทีเรียที่มีและไม่มีประโยชน์ภายในช่องคลอด ได้แก่ แลคโตบาซิลัส Gardner Ella และ Vaginalis เป็นต้น

5. เมื่อกจากบริเวณปากมดลูกและช่องคลอด
6. เซลล์เยื่อโพรงมดลูก ซึ่งขึ้นอยู่กับรอบของการมีประจำเดือนของผู้ป่วย
7. เซลล์อื่น ๆ ได้แก่ เซลล์ที่จับกินสิ่งแปลกปลอม เม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว เป็นต้น
8. สารปนเปื้อน ได้แก่ อสุจิ หรือเม็ดแป้ง

Squamous epithelial cells ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงตัวกันหลายชั้น เซลล์ในแต่ละชั้นมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันไป ดังนี้

Superficial squamous cells เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ มีลักษณะหลายเหลี่ยม ขนาด 40-60 ไมครอน ประกอบด้วย นิวเคลียสที่ติดสีที่บออยู่ตรงกลางเซลล์ และไซโตพลาซึมที่ติดสีส้มแดง และสีฟ้า โดยปกติเซลล์จะกระจายตัวกันอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว

Intermediate cells มีขนาดใกล้เคียงกับ Superficial squamous cells มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่กึ่งกลางเซลล์มีลักษณะคล้ายไข่ดาว ผิวนิวเคลียสละเอียดจากการเรียงตัวกันของโครมาติน ไซโตพลาซึมติดสีส้มแดงหรือสีฟ้า เซลล์เกาะกันอยู่เป็นกลุ่ม

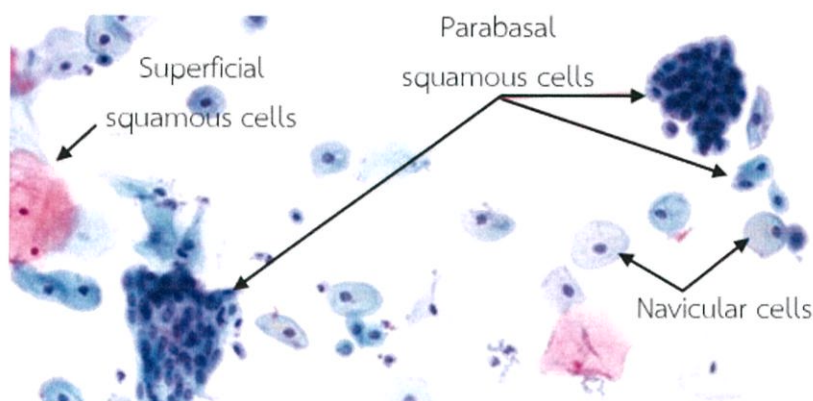


รูปที่ 2.12 ลักษณะ Superficial squamous cells และ Intermediate cells

Navicular cells เป็นเซลล์อีกประเภทหนึ่งในชั้น Intermediate ปรากฏขณะผู้ป่วยตั้งครรภ์หรือระยะหลังคลอดบุตร ระยะที่มีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูง เซลล์มีลักษณะคล้ายเรือรียว ขอบไซโตพลาซึมหนา ติดสีส้มหรือสีฟ้า นิวเคลียสไม่อยู่กึ่งกลางเซลล์ เมื่อเซลล์ในชั้น

Intermediate cells ถูกทำลายจะพบแบคทีเรียแลคโตบาซิลัส หรือในช่วงใช้ยาคุมกำเนิดจะทำให้พบนิวเคลียสอย่างเดียวในสไลด์ตัวอย่าง

Parabasal squamous cells เซลล์ที่เจริญเติบโตยังไม่เต็มที่ที่มีลักษณะเป็นรูปไข่หรือกลม มีนิวเคลียสโปร่งแสงอยู่กลางเซลล์ ไซโตพลาซึมติดสีฟ้าเข้ม เซลล์มีทั้งอยู่รวมกันเป็นกลุ่มและเซลล์เดี่ยว

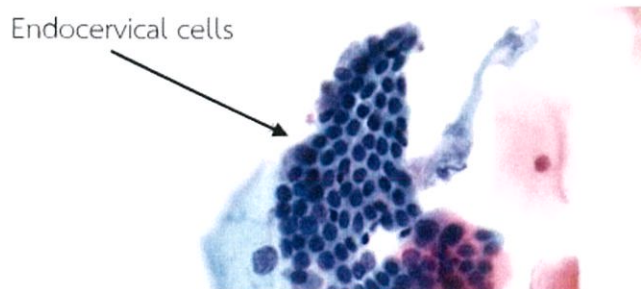


รูปที่ 2.13 ลักษณะ Superficial squamous cells Parabasal cells และ Navicular cells

Anucleate squamous cells เป็น squamous cells ที่ไม่มีนิวเคลียส เป็นเซลล์ผิดปกติที่หลุดมาจากปากมดลูกหรือช่องคลอด

Columnar epithelium จากช่องบริเวณปากมดลูกด้านใน จะประกอบด้วย

Endocervical cells นิวเคลียสของเซลล์มีผิวที่ละเอียด โครมาตินมีการกระจายตัว การมีหลายนิวเคลียสและมีขนาดใหญ่บ่งบอกถึงการติดเชื้อ ไซโตพลาซึมมีลักษณะบางและโปร่งแสง บางครั้งเซลล์มี Cytoplasmic tail



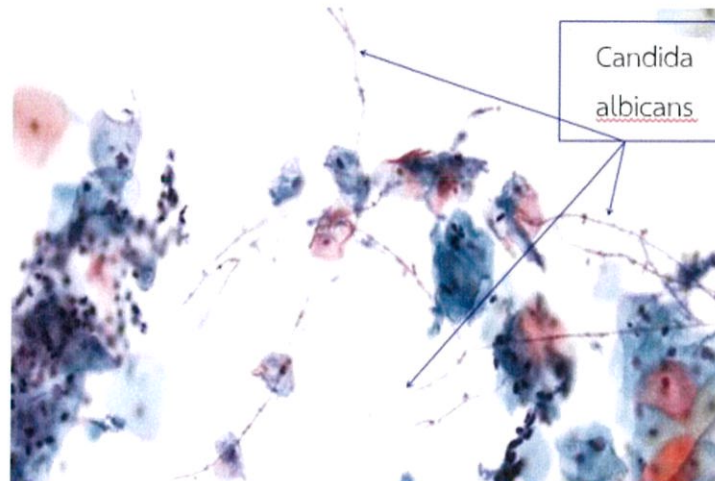
รูปที่ 2.14 ลักษณะ Endocervical cells

Metaplastic squamous cell จากการทำแปสเมียร์จะหลุดออกมาเป็นเยื่อเนื้อ เซลล์มีค่าอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโตพลาซึมมาก นิวเคลียสมีการกระจายตัวของโครมาติน เยื่อหุ้มนิวเคลียสเรียบและติดอยู่กับเซลล์ ในเซลล์ที่โตเต็มที่ไม่เต็มที่จะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเกาะตัวกันเป็นแผ่น รูปร่างเหมือน Columnar cells มีพื้นผิวนิวเคลียสหยาบจากการแบ่งเซลล์ นิวเคลียสติดสีแดงชัดเจน ส่วนเซลล์ที่โตเต็มที่แล้วมีลักษณะมีหลายด้าน ไซโตพลาซึมติดสีฟ้า เห็น Intercellular bridge

จุลินทรีย์และแบคทีเรีย ที่มีและไม่มีประโยชน์ภายในช่องคลอด

การส่องสไลด์ตัวอย่างผ่านกล้องจุลทรรศน์สามารถเห็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้หลากหลายชนิด เชื้อไวรัส จุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์หลังจากการติดเชื้อไวรัส ลักษณะของเซลล์จะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของเชื้อไวรัส แบคทีเรีย ทั้งแบบต้องการและไม่ต้องการออกซิเจน แลคโตบาซิลัสที่ช่วยในการปรับสมดุลภายในช่องคลอด ขจัดกลิ่นและทำความสะอาดช่องคลอด การติดเชื้อที่สามารถพบได้มีดังนี้

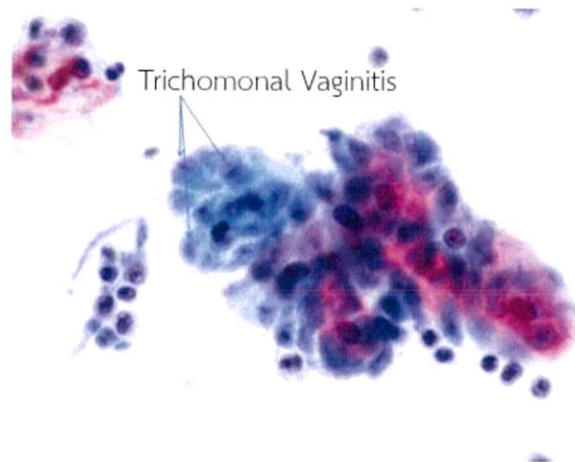
Thrush or Candidiasis เกิดโดยเชื้อรา *Candida albicans* แสดงผ่านการตกขาวที่ไม่มีกลิ่น รวมถึงอาการคันภายในช่องคลอด ในทางเซลล์วิทยาจะรายงานการพบเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา โดยปกติ *Candida albicans* สามารถพบได้จากการทำแปสเมียร์ในผู้ป่วยทั่วไป



รูปที่ 2.15 ลักษณะของ *Candida albicans*

Trichomonal Vaginitis เกิดจากโปรโตซัว *Trichomonas Vaginalis* ทำให้เกิดอาการตกขาวสีเหลืองและมูกกลิ่นไม่พึงประสงค์ โปรโตซัวมีขนาดเล็กมาก ขนาด 15 ไมครอน ทำให้

ยากต่อการระบุหรือบ่งชี้ ไชโตพลาซิมติดสีส้มและนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ จากการวินิจฉัยพบว่า *Trichomonas Vaginalis* ติดต่อได้จากการมีเพศสัมพันธ์ ถ้ามีการตรวจพบ คู่นอนควรได้รับการตรวจด้วยเช่นกัน เซลล์ที่มีการติดเชื้อจะมีความผิดปกติของเซลล์บริเวณนิวเคลียสมีการติดสีส้ม ขนาดใหญ่ ส่วนไชโตพลาซิมไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่พบ



รูปที่ 2.16 ลักษณะของ Trichomonal Vaginitis

ทั้ง *Candida albicans* และ *Trichomonas Vaginalis* ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบบริเวณอุ้งเชิงกราน คือ ไม่ทำให้เกิดการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์สตรีส่วนบน คือตั้งแต่บริเวณภายในโพรงมดลูก ท่อนำไข่ รังไข่ รวมถึงปีกมดลูก

Bacterial Vaginosis, *Gardnerella Vaginalis* และแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในการหายใจ ผู้หญิงที่มีแบคทีเรียดังกล่าวจะมีอาการตกขาว มีสีขาวเทา มีกลิ่นเหม็น การติดเชื้อแบคทีเรียไม่ลุกลามไปยังบริเวณอื่น ๆ จากการส่องกล้องจุลทรรศน์คือพบแบคทีเรียจำนวนมากและปิดบังเยื่อหุ้มเซลล์ของ Squamous cells

Actinomyces-like organisms เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ทนต่อความเป็นกรด มีลักษณะเป็นฝุ่น เรียกว่า Dust bunny

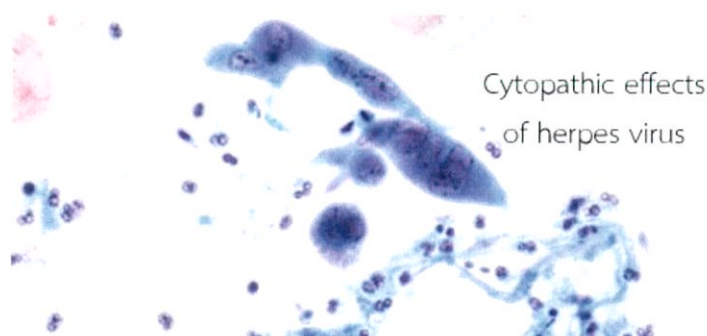


รูปที่ 2.17 ลักษณะของ Dust bunny จากแบคทีเรีย Actinomyces

การติดเชื้อไวรัส สามารถติดเชื้อได้ผ่านการมีเพศสัมพันธ์

Herp Virus แสดงอาการผ่านการเป็นแผล พอง หรือเป็นตุ่ม การเป็นเรื้อรังหรือไม่ปรากฏอาการ การวินิจฉัยการติดเชื้อจาก Herp Virus สำคัญมาก เชื้อไวรัสชนิดนี้อาจส่งผลกระทบต่อขณะตั้งครรภ์ ทำให้เกิดโรคไขสมองอักเสบในทารก มีลักษณะที่ปรากฏผ่านกล้องจุลทรรศน์คือ

1. Chromatin เข้าหาผนังนิวเคลียส เกิดจากการสะสมเชื้อไวรัสภายในนิวเคลียส
2. นิวเคลียสเกาะกลุ่มกันเป็นก้อน เกิดจากการที่นิวเคลียสเจริญเติบโต มีขนาดใหญ่เกินขนาดไซโตพลาซึมทำให้นิวเคลียสอยู่ติดกันเรียกว่า Cowdry bodies
3. มีหลายนิวเคลียสในเซลล์เดียว



รูปที่ 2.18 ลักษณะเซลล์จากการติดเชื้อไวรัส Herpes

Human papillomavirus (HPV) เป็นเชื้อไวรัสที่ติดต่อผ่านการมีเพศสัมพันธ์ และเป็นสาเหตุหลักในการเกิดมะเร็งปากมดลูก

ตารางที่ 2.3 ลักษณะที่บ่งบอกความผิดปกติของเซลล์จากเชื้อ HPV และมะเร็งปากมดลูก

ปกติ	ผิดปกติ
นิวเคลียสมีขนาดเล็กและรูปร่างปกติ	นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง
โครมาตินกระจายตัวสม่ำเสมอ	โครมาตินกระจุกรวมกันเป็นก้อน ไม่กระจายตัว
เยื่อหุ้มนิวเคลียสปกติ	เยื่อหุ้มนิวเคลียสมีลักษณะผิดปกติ เกิดรอยหยักและหนาขึ้น เนื่องจากโครมาตินไปจับและเกาะตัวกันเป็นก้อน
ไม่พบเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียสภายในเซลล์เดียว	พบเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียสภายในเซลล์เดียว
เซลล์ติดการย้อมสีทั่วทั้งเซลล์	นิวเคลียสติดสีเข้มผิดปกติ และมีการติดสีที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มเซลล์
นิวคลีโอลัสมีขนาดและรูปร่างปกติ ติดสีปกติ	นิวคลีโอลัสมีขนาดใหญ่ ติดสีเข้ม
เซลล์อยู่ติดต่อกัน เกาะกลุ่มกัน	เซลล์มีความกระจายตัวห่างกัน
เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสที่เยื่อหุ้มชั้นในสุด ไม่ปรากฏในการแปปสเมียร์	เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสที่เยื่อหุ้มชั้นบนสุด

การรายงานผลแปปสเมียร์

การรายงานผลแปปสเมียร์มีหลายระบบ เริ่มต้นการรายงานผลตรวจทางเซลล์วิทยาด้วยระบบ เป็นการรายงานโดยการแบ่งความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เป็น 5 ระดับ ต่อมา มีการพบว่า การเปลี่ยนแปลงของเซลล์สัมพันธ์ของลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ที่แตกต่างกัน จึงมีการเปลี่ยนระบบการรายงานเป็นระบบ Dysplasia ที่แบ่งระดับความรุนแรงเป็น 4 ระบบได้แก่ Mild Moderate และ Severe dysplasia กับ Carcinoma in situ (CIS) เพื่อให้สอดคล้องกัน ต่อมาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง Severe dysplasia กับ Carcinoma in situ (CIS) จึงมีการเปลี่ยนระบบเป็นระบบ Cervical intraepithelial neoplasia (CIS) แบ่งความผิดปกติเป็น CIN I CIN II และ CIN III แต่ในขณะนั้นแต่ละประเทศใช้ระบบรายงานผลที่แตกต่างกันออกไปทำให้เกิดความสับสนและเข้าใจไม่ตรงกัน ในปี 2531 ทางสถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา จึงมีการประชุมขึ้น และได้ระบบในการรายงานคือ The Bethesda systems (TBS) เป็นการรายงานแบบคำวินิจฉัย

เชิงพรรณนาและเริ่มมีการประเมินความเพียงพอของสิ่งที่ส่งตรวจ ต่อมาเมื่อมีการพัฒนาทางเทคโนโลยีและอุปกรณ์ที่ทันสมัยมากขึ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระบบ จนในที่สุดการรายงานที่ใช้จนกระทั่งปัจจุบันคือ TBS 2001 ซึ่งถูกใช้เป็นแนวทางในการดูแลผู้ป่วยได้เป็นอย่างดี แต่ในบางสถาบันการรายงานผลอาจยังใช้ระบบอื่น หรือรายงานควบคู่กันไป ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกันได้ดังนี้

ตารางที่ 2.4 การเปรียบเทียบการรายงานผล Pap smear

WHO system	Papanicolaou system	The Bethesda system	CIN system
Normal	Class I	Within normal limits	Normal
Apical	Class II	- Reactive or reparative changes -ASCUS, AGUS	-No significant cellular changes - Squamous atypia NOS - HPV changes (Koilocytic change)
Mild dysplasia	Class III	Low - grade SIL*, ASCUS, AGUS	CIN 1, HPV Infection
Moderate dysplasia	Class III	High - grade SIL	CIN 2
WHO system	Papanicolaou system	The Bethesda system	CIN system
Severe dysplasia Carcinoma in situ	Class IV	High - grade SIL	CIN 3
Squamous cell carcinoma Adenocarcinoma	Class V	Squamous cell carcinoma Adenocarcinoma	Squamous cell carcinoma Adenocarcinoma

*Includes changes associated with human papillomavirus (HPV) infection

ASCUS = Atypical squamous cell of undetermined significance

AGUS = Atypical glandular cell of undetermined significance

SIL = Squamous intraepithelial lesion

CIN = Cervical intraepithelial neoplasia

ตัวอย่างการแปลความหมายของการรายงานผลในระบบต่าง ๆ

การรายงานผลการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก Papanicolaou system

Class I หมายถึง ผลปกติ

Class II หมายถึง อาจพบเซลล์ที่มีการอักเสบ แต่ไม่พบเซลล์มะเร็ง

Class III หมายถึง พบเซลล์ผิดปกติ ซึ่งประกอบด้วยความผิดปกติในระดับ CIN 1 - 2 หรือ

Mild to moderate dysplasia

Class IV หมายถึง พบเซลล์ผิดปกติในระดับ CIN 3 หรือ Severe dysplasia หรือสงสัย

เซลล์มะเร็ง (Carcinoma in situ)

Class V หมายถึง ในการตรวจพบเซลล์มะเร็ง

การรายงานผลการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วย The 2001 Bethesda System

แบ่งความผิดปกติของเซลล์เยื่อปากมดลูกออกเป็น

1. ความผิดปกติของ squamous cells ได้แก่

1.1 Atypical squamous cells (ASC) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

-of undetermined significance หรือเซลล์ผิดปกติแบบไม่เจาะจง เรียกว่า “ASC-US”

- cannot exclude HSIL หรือเซลล์ squamous มีการเปลี่ยนแปลงระดับหนึ่ง เรียกว่า “ASC-H”

1.2 Low-grade squamous intraepithelial lesion เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงที่แน่นอนมากขึ้นแต่ยังคงมีความผิดปกติเล็กน้อย เรียกว่า “LSIL” ได้แก่ HPV infection และ mild dysplasia หรือ CIN1

1.3 High-grade squamous intraepithelial lesion มีความผิดปกติรุนแรงของเซลล์ปากมดลูก เรียกว่า “HSIL” ได้แก่ moderate dysplasia, severe dysplasia และ carcinoma in situ (CIS) หรือ CIN2 และ CIN3

1.4 Squamous cell carcinoma ตรวจพบเซลล์มะเร็ง

2. ความผิดปกติของ glandular cells ได้แก่

2.1 Atypical glandular cells (AGC) ให้ระบุว่าเป็นความผิดปกติของ endocervical cells หรือ endometrial cells หรือไม่สามาถระบุชนิดของ glandular cells ได้ (not otherwise specified) เรียกว่า “AGC NOS”

2.2 Atypical glandular cells, favor neoplasia เรียกว่า “AGC FN” ให้ระบุว่าเป็น atypical endocervical cells หรือไม่สามาถระบุชนิดของ glandular cells ได้

2.3 Adenocarcinoma in situ (AIS) ของ endocervix

2.4 Adenocarcinoma ระบุว่า เป็น endocervical, endometrial หรือ not otherwise specified

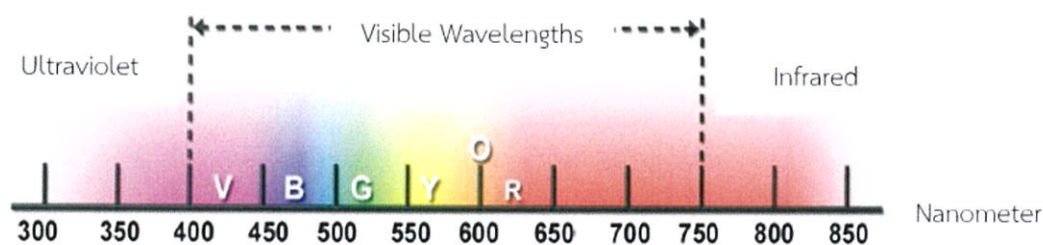
2.2. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

กล้องจุลทรรศน์เป็นอุปกรณ์ที่ถูกออกแบบเพื่อให้เราสามารถเห็นรายละเอียดสิ่งขนาดเล็กได้ หน้าที่หลักของกล้องจุลทรรศน์มี 3 ประการได้แก่

1. สร้างภาพที่มีกำลังขยายต่าง ๆ ได้ (Magnification)
2. แยกจุดหรือรายละเอียดของภาพได้ดี (Resolution)
3. ภาพที่ถูกสร้างสามารถแยกรายละเอียดได้ด้วยตา หรืออุปกรณ์ถ่ายภาพต่าง ๆ (Contrast)

2.2.1. การมองเห็นของมนุษย์

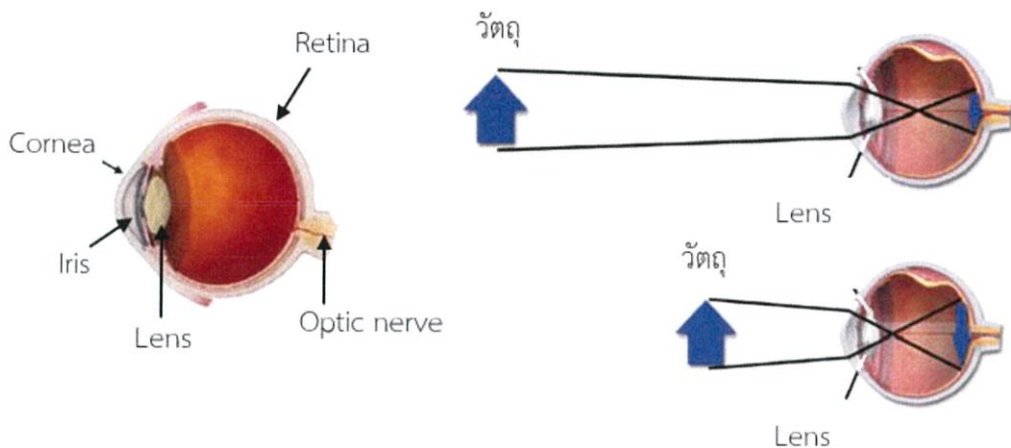
สิ่งสำคัญในการประกอบกล้องจุลทรรศน์คือความเข้าใจความสัมพันธ์และหลักการระหว่างกล้องจุลทรรศน์และตาของมนุษย์ ตาของเราสามารถมองเห็นและแยกแยะสีได้ในช่วงแสงที่มีความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร เริ่มตั้งแต่ สีม่วง ฟ้ำ เขียว เหลือง ส้ม แดง ตาไม่สามารถมองเห็นแสงของความยาวคลื่นในช่วงอื่น ๆ ได้ เช่น รังสีอินฟราเรด อัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้ความสามารถในการแยกแยะสีแล้วตาแยกความสว่างได้หรือปริมาณความสว่างจากสีดำถึงสีขาว รวมถึงสีเทาที่อยู่ระหว่างสีดำและสีขาว ดังนั้น ภาพที่ตาสามารถมองเห็นได้ต้องมีสีอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตาสามารถมองเห็นได้และมีระดับความแตกต่างของความสว่าง



Spectrum of White Light

รูปที่ 2.19 แสดงช่วงความยาวคลื่นที่ตาสามารถมองเห็น

ในส่วนของสีจะมีตัวรับสีที่มีชื่อว่าเซลล์รูปกรวย (Cone cell) ส่วนเซลล์ ที่รับความสว่างคือ เซลล์รูปแท่ง (Rod cell) โดยเซลล์ทั้งสองชนิดจะอยู่บนเรตินา (Retina) อยู่ภายในดวงตา ส่วนที่อยู่ ด้านหน้าคือ รูม่านตา (Iris) กระจกตา (Cornea) และเลนส์ที่ทำหน้าที่ในการรวมแสงให้ตกไปยังเรตินา ตาจะสามารถมองเห็นภาพได้ชัดเจนก็ต่อเมื่อภาพตาไปยังเรตินาในองศาที่พอเหมาะ ยิ่งวัตถุอยู่ ใกล้ตาทำให้องศามากขึ้น มองเห็นได้ชัดเจนขึ้น เรตินาจะนำภาพที่ได้ส่งไปยังสมองผ่านเส้นประสาท ตา (Optic nerve)

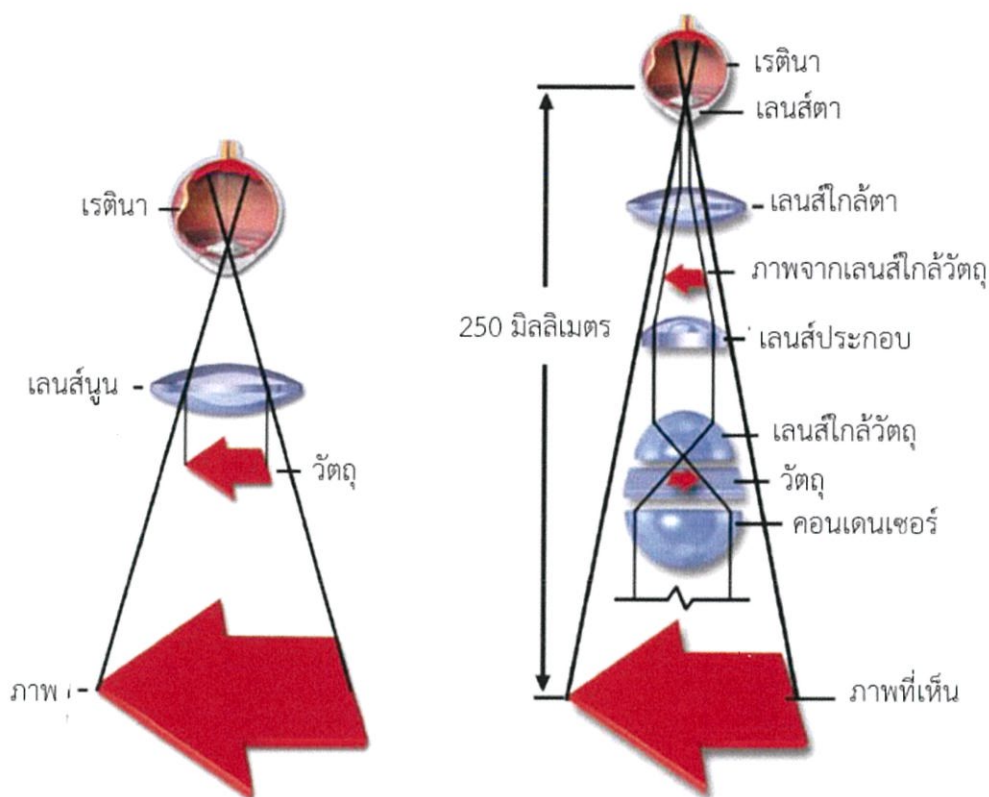


รูปที่ 2.20 แสดงส่วนประกอบในการมองเห็นของตา

และแสดงการเปรียบเทียบของตาที่ตกลงบนเรตินาของวัตถุที่ตำแหน่งต่างกัน

กล้องจุลทรรศน์ในยุคแรก ๆ เป็นกล้องจุลทรรศน์แบบง่าย โดยวางเลนส์นูนอยู่ระหว่างตา และวัตถุที่ต้องการส่องดูคล้ายแว่นขยาย เป็นการขยายภาพโดยการเพิ่มองศาการมองเห็นที่ตกบน เรตินา ถูกค้นพบโดย Anton von Leeuwenhoek สามารถทำให้มนุษย์สามารถมองเห็นเซลล์ของ สิ่งมีชีวิต แบบที่เรียบางชนิดได้ แต่มีข้อเสียคือเห็นภาพด้วยตาเท่านั้น ไม่สามารถบันทึกภาพได้ ไม่มี แผ่นวางสไลด์ ระบบการส่องสว่างและโครงสร้างอุปกรณ์

ต่อมามีการประดิษฐ์เป็นกล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน ประกอบไปด้วยเลนส์นูน 2 ชั้นเรียงต่อกัน คือเลนส์ใกล้วัตถุ (Objective lens) ที่วางไว้ใกล้กับวัตถุหรือสไลด์ และเลนส์ใกล้ตา (Ocular) วางไว้ ใกล้กับตำแหน่งที่ใช้ตาส่อง กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อนมีการขยายภาพ 2 ครั้ง ครั้งแรกเกิดจากเลนส์ ใกล้วัตถุ ภาพเกิดบริเวณระหว่างเลนส์ใกล้วัตถุและเลนส์ใกล้ตา หลังจากนั้นเกิดการขยายภาพของ เลนส์ใกล้ตาจากภาพจากเลนส์ใกล้วัตถุ สามารถคำนวณกำลังขยายของภาพจากกำลังขยายของเลนส์ ทั้ง 2 ชั้นคูณกัน



รูปที่ 2.21 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างกล้องจุลทรรศน์แบบง่ายและกล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน

การที่เรามองเข้าไปในกล้องจุลทรรศน์ สิ่งที่เราเห็นไม่ใช่วัตถุ หรือตัวอย่างบนสไลด์แต่เป็นภาพของวัตถุไม่สามารถจับต้องได้ สิ่งที่เราเห็นคือแผนที่หรือภาพของวัตถุหรือตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันของสีและความสว่างระหว่างดำถึงขาว ภาพที่ได้จะลอยอยู่ในอากาศในตำแหน่ง 10 มิลลิเมตรจากตำแหน่งวางตาของเราเป็นตำแหน่งของเลนส์ใกล้ตา

หลักการของกล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อนคือ แสงจากหลอดไฟผ่านเลนส์คอนเดนเซอร์ ไปยังตัวอย่างสไลด์ที่วางไว้บนแท่นยึด แสงจะถูกรวบรวมโดยเลนส์ใกล้วัตถุที่อยู่ใกล้เลนส์ประกอบ ภาพจากสไลด์จะถูกขยายอีกครั้งจากเลนส์ใกล้ตา ภาพสามารถเห็นได้ในระยะ 250 มิลลิเมตรจากตา

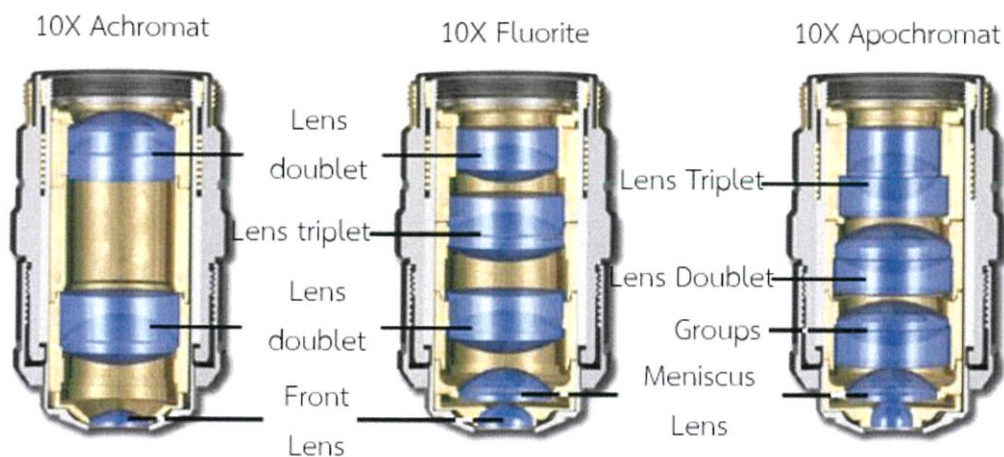
2.2.2. องค์ประกอบของกล้องจุลทรรศน์

องค์ประกอบของกล้องจุลทรรศน์ประกอบไปด้วย 2 ส่วนได้แก่ ส่วนของแสงและทัศนอุปกรณ์ (Optics component) และระบบแมคคานิกส์หรือระบบอิเล็กทรอนิกส์ (Mechanical/Electronic component)

ส่วนของแสงและทัศนูปกรณ์ ประกอบด้วย

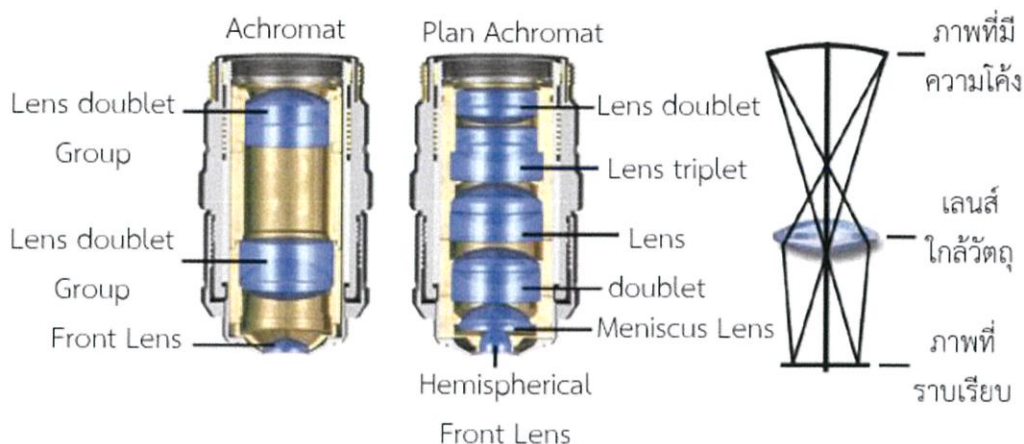
เลนส์ใกล้วัตถุ เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดในกล้องจุลทรรศน์ หน้าที่คือ รวบรวมแสงที่ผ่านสไลด์ตัวอย่างออกมาแล้วฉายภาพที่ถูกต้อง จริ่งออกมายังลำกล้องของกล้องจุลทรรศน์ เลนส์ใกล้วัตถุทำขึ้นจากแก้วที่มีคุณภาพดี การแก้ไขภาพจากความผิดพลาดจากการโค้งงอของเลนส์และการสร้างภาพที่มีความราบเรียบเป็นการบ่งบอกคุณสมบัติและมูลค่าของเลนส์ใกล้วัตถุ แบ่งออกเป็น 3 ระดับได้แก่

1. Achromatic objective เป็นเลนส์ใกล้วัตถุที่มีราคาถูกที่สุด เป็นเลนส์ที่ทำให้เกิดสีที่ถูกต้องของสีแดงและน้ำเงิน นอกจากนี้ยังแก้ไขความโค้งงอภาพจากการโค้งงอของเลนส์สำหรับสีเขียว ดังนั้น Achromatic objective เหมาะสำหรับแสงที่ผ่านฟิลเตอร์สีเขียวและภาพขาว-ดำ
2. Fluorites or Semi-apochromats เป็นเลนส์ที่ทำให้เกิดสีที่ถูกต้องของสีแดง สีนํ้าเงินและสีเขียว ในระยะโฟกัส มีการแก้ไขความโค้งงอภาพจากการโค้งงอของเลนส์สำหรับสีแดงและสีนํ้าเงิน เลนส์ชนิดนี้เหมาะสำหรับภาพสีและแสงสีขาว
3. Apochromatic objective lens เป็นเลนส์ที่ดีและมีราคาแพงที่สุด เป็นเลนส์ที่ทำให้เกิดสีที่ถูกต้องของสีนํ้าเงินเข้ม สีนํ้าเงิน สีเขียวและสีแดง มีการแก้ไขความโค้งงอภาพจากการโค้งงอของเลนส์สำหรับสีนํ้าเงินเข้ม สีนํ้าเงินและสีเขียว เป็นเลนส์ที่ดีที่สุดในการดูและบันทึกภาพสี เพราะเลนส์ชนิดนี้มีค่าความสามารถในเก็บรวบรวมแสงมากกว่าเลนส์ชนิดอื่น ๆ



รูปที่ 2.22 แสดงการเปรียบเทียบภายในระหว่างเลนส์ใกล้วัตถุทั้ง 3 ชนิด

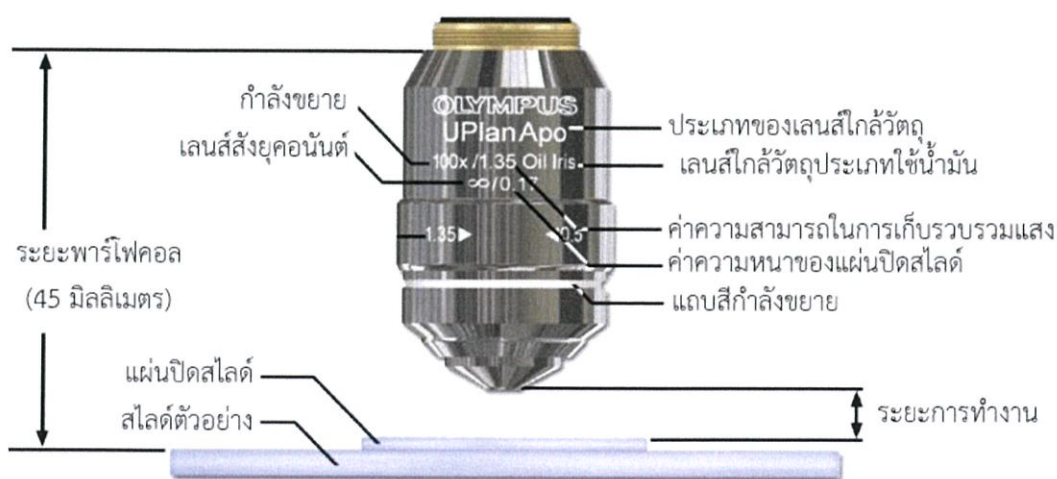
จากเลนส์ทั้ง 3 ชนิดภาพที่ได้มีความโค้งงอมากกว่าเป็นภาพเรียบชัด ทำให้มีการออกแบบเลนส์ที่สามารถสร้างภาพราบเรียบบนขอบเขตการมองเห็นของเลนส์ เลนส์ดังกล่าวมีชื่อเรียกว่า plan-achromatic objective plan-fluorites และ plan-apochromatic



รูปที่ 2.23 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างเลนส์ใกล้วัตถุแบบ Achromat และ Plan Achromat

เลนส์ใกล้วัตถุแต่ละอันจะมีการระบุคุณสมบัติต่าง ๆ ลงบนตัวเลนส์ ค่ากำลังขยายที่แตกต่างกัน สัญลักษณ์ ∞ ที่บ่งบอกว่าเลนส์ใกล้วัตถุเป็นแบบสังยุคอนันต์ ตัวเลขบอกความหนาของแผ่นปิดสไลด์ที่ใช้กับเลนส์ใกล้วัตถุชนิดนี้ สัญลักษณ์ OIL HI (homogeneous immersion) หรือ OEL เลนส์ใกล้วัตถุที่ถูกออกแบบมาเพื่อใช้น้ำมันหยดระหว่างหัวเลนส์กับสไลด์ตัวอย่าง ถ้าไม่มีสัญลักษณ์ดังกล่าวแสดงว่าเป็นเลนส์แบบแห้ง จะเป็นอากาศที่อยู่ระหว่างหัวเลนส์และสไลด์ตัวอย่าง มีตัวเลขบอกค่าความสามารถในการเก็บรวบรวมแสง (Numerical aperture, NA) อยู่ระหว่าง 0.04 ถึง 1.4

นอกจากนี้ยังมีระยะการทำงาน (Working Distance, WD) ที่เป็นระยะระหว่างหัวเลนส์ใกล้วัตถุถึงแผ่นปิดสไลด์และระยะพาริโฟคอล (Parfocal length) เป็นระยะตั้งแต่ปลายเลนส์ใกล้วัตถุถึงกระจกปิดสไลด์



รูปที่ 2.24 แสดงลักษณะและคุณลักษณะที่ถูกระบุลงบนเลนส์ใกล้วัตถุ

นอกจากนี้ยังมีแถบสีที่ถูกระบุลงบนเลนส์ใกล้วัตถุที่เป็นสิ่งบ่งบอกบางคุณลักษณะของเลนส์ใกล้วัตถุ เช่น ค่ากำลังขยายของตัวเลนส์ใกล้วัตถุและตัวกลางระหว่างหัวเลนส์กับสไลด์ ดังนี้

ตารางที่ 2.5 แสดงความหมายของแถบสีบนเลนส์ใกล้วัตถุ

แถบสีที่บ่งบอกกำลังขยาย	กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ
ดำ	1X, 1.25X
น้ำตาล	2X, 2.5X
แดง	4X, 5X
เหลือง	10X
เขียว	16X, 20X
ฟ้าอมเขียว	25X, 32X
ฟ้า	40X, 50X
น้ำเงิน	60X, 63X
แถบสีแสดงตัวกลาง	ตัวกลางระหว่างหัวเลนส์และแผ่นปิดสไลด์
ดำ	น้ำมัน
ส้ม	กลีเซอรอล
ขาว	น้ำ
แดง	วัตถุพิเศษชนิดอื่น ๆ

เลนส์ใกล้ตา มีหน้าที่ในการรับภาพจริงจากเลนส์ใกล้วัตถุ และขยายภาพดังกล่าวอีกครั้ง ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดคือการรวมกันของการสร้างภาพของเลนส์ใกล้วัตถุและเลนส์ใกล้ตา เลนส์ใกล้ตาแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ Ramsden หรือเรียกว่า Positive และ Huygenian หรือเรียกว่าแบบ Negative



Ramsden(Positive)



Huygenian (Positive)

รูปที่ 2.25 แสดงความแตกต่างระหว่างเลนส์ประเภท Ramsden และ Huygenian

คอนเดนเซอร์ (Condensers) มีหน้าที่ในการรวบรวมแสงจากแหล่งกำเนิดแสงและทำให้เป็นแสงขนานที่มีความเข้มแสงมากขึ้นก่อนส่องฉายแสงไปยังสไลด์ คอนเดนเซอร์จะถูกติดตั้งด้านล่างแท่นยึดสไลด์ระหว่างหลอดไฟที่เป็นแหล่งกำเนิดแสงและสไลด์ตัวอย่าง คอนเดนเซอร์ที่ประกอบง่ายที่สุด คือ Abbe condenser มีค่าความสามารถในการเก็บรวบรวมแสงมากที่สุด 1.25 แต่ไม่สามารถให้สร้างสีที่ถูกต้องและลดความโค้งของภาพให้ดีขึ้นได้ ใช้สำหรับกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงปกติ คอนเดนเซอร์ที่ดีที่สุดที่ถูกออกแบบขึ้นได้แก่ Aplanatic-achromatic ซึ่งสามารถช่วยให้ภาพได้สีที่ถูกต้องและลดความโค้งของภาพได้ คอนเดนเซอร์ชนิดนี้ใช้กับการส่องภาพสีและการใช้แสงสีขาวในการส่องภาพ



Abbe

Aplanatic-Achromatic

รูปที่ 2.26 แสดงความแตกต่างระหว่างคอนเดนเซอร์ประเภท

Abbe และ Aplanatic-achromatic

คอนเดนเซอร์จะมีการระบุค่าความสามารถในการเก็บรวบรวมแสงความสามารถในการแก้ไขคุณภาพของภาพ คอนเดนเซอร์ที่มีค่าความสามารถในการเก็บรวบรวมแสงมากกว่า 1.0 จะเหมาะสมกับการใช้น้ำมันเป็นตัวกลางระหว่างหัวเลนส์และสไลด์

นอกจากอุปกรณ์ที่เป็นทัศนูปกรณ์แล้วยังมีการส่องสว่าง (Illumination) ที่เป็นส่วนสำคัญบ่อยครั้งที่กล้องจุลทรรศน์ที่ถูกใช้งานไม่สามารถสร้างภาพที่มีคุณภาพดีได้ เนื่องจากการเลือกใช้แหล่งกำเนิดแสงที่ไม่ถูกต้องและอุปกรณ์อื่น ๆ ระบบส่องสว่างควรให้แสงสว่างทั่วทั้งขอบเขตการมองเห็น กล้องจุลทรรศน์ในปัจจุบันใช้ระบบแสงโคเลอร์ (Koehler illumination) ในการประกอบส่วนของคอนเดนเซอร์

ระบบแสงโคเลอร์ ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อทำให้เกิดแสงสว่าง เพื่อให้ได้แสงที่ดีที่สุดสำหรับการมองผ่านกล้องจุลทรรศน์และภาพจากกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้หลักการสะท้อนแสง ประกอบไปด้วย

1. เลนส์รวบรวมแสง (Collector lens) วางอยู่หน้าแหล่งกำเนิดแสง เลนส์ชิ้นนี้ถูกออกแบบเพื่อฉายภาพแสงที่ถูกทำให้บานออกของแหล่งกำเนิดแสงไปยังไดอะแฟรมปิดของแสงของคอนเดนเซอร์ซึ่ง

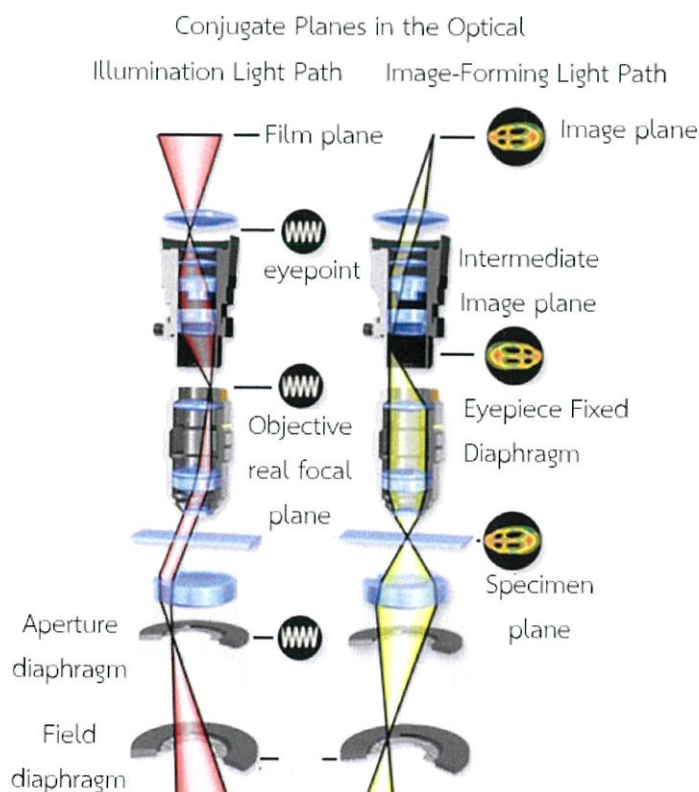
เป็นโลหะบาง ๆ เรียงซ้อนกันเป็นวงกลมติดตั้งอยู่ที่เลนส์อันล่างของคอนเดนเซอร์ มีหน้าที่ปรับความกว้างของลำแสงที่เข้าและออกจากคอนเดนเซอร์ แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะถูกรวบรวมที่ระยะโฟกัสหน้าเลนส์ของคอนเดนเซอร์ ทำให้แสงที่จากผ่านคอนเดนเซอร์ถูกเปลี่ยนแปลงกลายเป็นแสงขนานแล้วผ่านไปยังสไลด์ตัวอย่าง ถ้าแสงจากแหล่งกำเนิดแสงไม่ถูกรวบรวมที่ระยะโฟกัสหน้าเลนส์ของคอนเดนเซอร์ จะทำให้แสงที่ตกลงบนตัวอย่างสไลด์เป็นแสงที่บานออก การเปิด-ปิดไดอะแฟรมปิดช่องแสงของคอนเดนเซอร์เป็นการควบคุมองศาของโคนแสง ที่จะตกไปยังสไลด์

2. ไดอะแฟรมขั้นที่ 2 หรือเรียกว่า Field diaphragm ไดอะแฟรมขั้นนี้วางอยู่หน้าเลนส์รวมแสง ไดอะแฟรมชนิดนี้ทำหน้าที่ในการควบคุมเส้นผ่านศูนย์กลางของแสงที่ถูกส่งผ่านไปยังสไลด์ตัวอย่าง

3. ไดอะแฟรมขั้นที่ 3 คือไดอะแฟรมที่ถูกติดตั้งไว้ที่เลนส์ใกล้ตา เรียกว่า Intermediate image plane

โดย ไดอะแฟรมปิดช่องแสงของคอนเดนเซอร์ และ Field diaphragm เป็นกุญแจสำคัญของระบบโคเลเลอร์ เพื่อให้ได้ภาพที่ดีที่สุดโดยดูจากความละเอียดและความคมชัดของภาพ

ข้อดีของระบบแสงโคเลเลอร์คือเราสามารถเห็นความแตกต่างระหว่างระบบทางเดินแสงและระบบภาพที่เกิดขึ้นภายในระบบ หรือที่เรียกว่า Conjugate plane เป็นการที่เรายึดตำแหน่งรวมแสงที่ตำแหน่งบนระนาบ จะเป็นตำแหน่งรวมแสงของระนาบอื่น ๆ ด้วย



รูปที่ 2.27 แสดง Conjugate Plane ของกล้องจุลทรรศน์

อีกส่วนหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของกล้องจุลทรรศน์ได้แก่ ระบบแมคคานิกส์หรือระบบอิเล็กทรอนิกส์ (Mechanical/Electrical component)

ขาตั้งกล้องจุลทรรศน์ ต้องมีความเสถียรในการยึดอุปกรณ์ต่าง ๆ ไว้เช่น เลนส์ใกล้วัตถุ เลนส์ใกล้ตา สามารถขยับแท่นยึดสไลด์ไปยังระยะโฟกัสได้โดยการหมุนปุ่ม สามารถวางสไลด์ได้และสามารถขยับสไลด์ได้บนแท่นยึดสไลด์ และสามารถยึดแหล่งกำเนิดแสงและมีวงจรไฟฟ้าที่สามารถควบคุมหลอดไฟที่เป็นแหล่งกำเนิดแสงได้

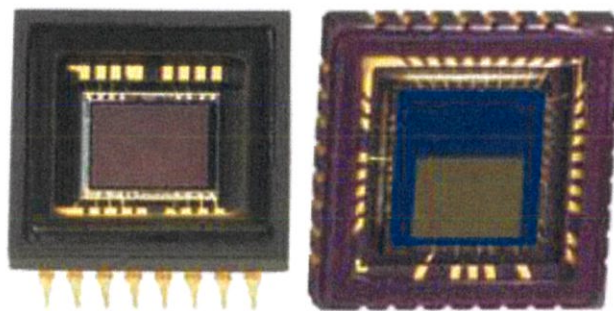
การควบคุมแท่นยึดสไลด์ใช้วิธีการหมุน ปุ่มที่ควบคุมตำแหน่งต่าง ๆ ของแท่นยึดสไลด์ถูกติดตั้งไว้ตำแหน่งบนโต๊ะเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการหมุนของผู้ใช้งาน โดยไม่ต้องยกมือหรือแขน ความละเอียดของปุ่มหมุนคำนวณจากขนาดที่หมุน ทั้งตามเข็มและทวนเข็มนาฬิกา โดยปกติจะมีค่าเท่ากับ 0.002 มิลลิเมตร หรือ 2 ไมครอน หรือถ้าต้องการอุปกรณ์ที่มีความละเอียดมาก ๆ จะใช้เป็น 0.001 หรือ 1 ไมครอน กล้องจุลทรรศน์มีการออกแบบตามสรีระวิทยาในการหมุนปรับตำแหน่งแท่นยึดสไลด์ในแนวแกน X และ Y โดยการควบคุมผ่านการหมุนโดยมือขวาหรือซ้าย แท่นยึดสไลด์อาจจะมียกขนะสี่เหลี่ยมหรือวงกลม และมีประโยชน์ในบางการใช้งานถ้าแท่นยึดสไลด์สามารถหมุนได้สำหรับการมองหรือการบันทึกภาพ

กล้องที่ใช้ส่องอาจจะเป็นแบบกล้อง 2 ตา กล้อง 3 ตา และกล้องตาเดียว สำหรับความสะดวกสบายในการใช้งานกล้อง 2 ตาจะช่วยลดภาวะตาล้า ใช้สำหรับโฟโตไมโครกราฟีและภาพวิดีโอ กล้อง 3 ตา ทำให้มีความสบายมากยิ่งขึ้น สามารถส่องด้วยสายตาและบันทึกวิดีโอไปพร้อมกันได้ ในปัจจุบันกล้องจุลทรรศน์ออกแบบให้สามารถถอดและเปลี่ยนในส่วนดังกล่าวได้ ในปัจจุบันกล้อง 2 ตาถูกสร้างให้มีองศา 30 องศาเพื่อให้มีมุมมองที่สบายตามากขึ้น และสามารถปรับได้ตั้งแต่ 0 ถึง 30 องศา ระยะในแนวนอนระหว่างส่วนกล้องที่ส่องถูกออกแบบให้พอดีกับรูม่านตาของผู้ใช้

2.3. เซนเซอร์รับภาพ

เมื่อภาพถูกบันทึกโดยกล้องดิจิทัลทั่วไป แสงจะผ่านเลนส์และตกกระทบไปยังเซนเซอร์รับภาพซึ่งประกอบไปด้วย เซลล์ที่มีความไวต่อแสง หรือที่เรียกว่า พิกเซล (Pixel) เป็นตัวรับแสงที่ตกกระทบลงมา หลังจากรับแสงที่ตกกระทบลงมาเซนเซอร์รับภาพจะแสงที่ตกกระทบเป็นสัญญาณไฟฟ้า ขนาดของสัญญาณไฟฟ้าขึ้นอยู่กับความเข้มแสงที่ตกกระทบบนเซนเซอร์ หลังจากนั้นสัญญาณจะถูกแปลงเป็นสัญญาณดิจิทัล โดยวิธีที่เรียกว่า A/D-Convertor

ปัจจุบันมีการพัฒนาเซนเซอร์รับภาพ 2 ชนิดคือ CCD ย่อมาจาก Charge-coupled Device และ CMOS ย่อมาจาก Complementary Metal-oxide Semiconductor



รูปที่ 2.28 แสดงเซนเซอร์รับภาพแบบ CCD (ซ้าย) CMOS (ขวา)

ฟิลเตอร์สี โดยปกติเซนเซอร์รับภาพจะรับแสงในความเข้มแสงระดับต่าง ๆ จากสว่างไปมืด ไม่มีการรับข้อมูลของสี ไม่สามารถระบุความต่างของสีได้ ฟิลเตอร์จะถูกวางอยู่ข้างหน้าเซนเซอร์รับภาพ เพื่อกำหนดสีที่ตกกระทบลงบนแต่ละพิกเซลบนเซนเซอร์รูปภาพ สีที่ถูกใช้คือ RGB ประกอบไปด้วยสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน และ CMYG ที่ประกอบไปด้วยสีฟ้า สีแดงเข้ม สีเหลืองและสีเขียว ซึ่งสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงินเป็นสีพื้นฐาน เมื่อนำทั้ง 3 สีมาผสมกันจะได้สีต่าง ๆ ที่ตาสามารถมองเห็น

ฟิลเตอร์เบเยอร์เป็นฟิลเตอร์สีที่ประกอบไปด้วยแถวอาร์ยที่มีสี แดงเขียว และสีน้ำเงินเขียว สลับกัน เพราะว่าตาของมนุษย์มีความไวต่อแสงสีเขียวมากกว่าสีแดงและสีน้ำเงิน และตาสามารถรับรายละเอียดของสีได้มากกว่าฟิลเตอร์เบเยอร์ ฟิลเตอร์อีกรูปแบบหนึ่งจะเพิ่มสีฟ้า สีแดงเข้ม และสีเหลือง โดยปกติฟิลเตอร์สี CMYG มักจะใช้คู่กับฟิลเตอร์สีเขียว ระบบ CMYG ใช้คู่กับเซนเซอร์รับภาพที่มีค่าพิกเซลสูง ๆ เนื่องจากต้องรับแสงที่มีสเปกตรัมกว้างขึ้น อย่างไรก็ตามสัญญาณที่ได้ต้องถูกเปลี่ยนเป็น RGB ที่มีสัญญาณมากขึ้นและมีสัญญาณรบกวนมากขึ้น ทำให้ภาพจากระบบ CMYG มักจะไม่ค่อยให้สีที่ต้องการ

ระบบฟิลเตอร์ CMYG มักใช้กับเซนเซอร์รับภาพแบบ CCD ส่วนฟิลเตอร์แบบ RGB นิยมใช้กับตัวสแกนเนอร์

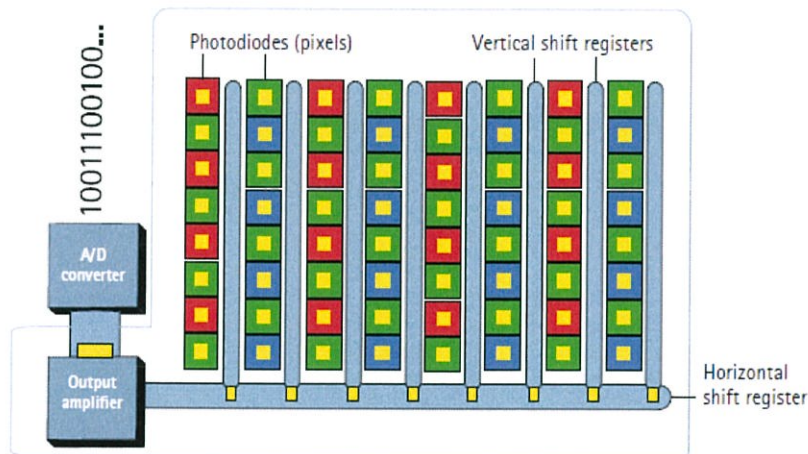


รูปที่ 2.29 แสดงความแตกต่างระหว่างฟิลเตอร์เบเยอร์ (ซ้าย) และฟิลเตอร์แบบ CMYG (ขวา)

2.3.1. เซนเซอร์รับภาพประเภท CCD

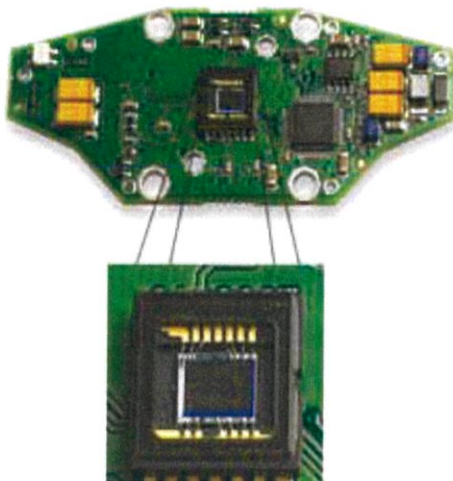
ในเซนเซอร์รับภาพประเภท CCD แสงที่ตกกระทบลงบนเซนเซอร์รับภาพจะแปลงเป็นสัญญาณและถูกถ่ายโอนจากชิปผ่านโหนดขาออกหนึ่งโหนดหรือเฉพาะโหนดขาออก กระแสไฟฟ้าจะถูกแปลงเป็นระดับความต่างศักย์ ถูกเก็บไว้ในหน่วยความจำสำรองและสัญญาณอนาล็อก หลังจากนั้น สัญญาณอนาล็อกจะถูกแปลงเป็นสัญญาณดิจิทัล

เซนเซอร์รับภาพประเภท CCD ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้สำหรับกล้องบันทึกภาพ เซนเซอร์ชนิดนี้ถูกใช้มานานกว่า 30 ปี ข้อดีของเซนเซอร์ประเภทนี้คือ มีความไวต่อแสงและมีสัญญาณรบกวนน้อยกว่าเซนเซอร์ประเภท CMOS



รูปที่ 2.30 แสดงลักษณะและการทำงานของเซนเซอร์ประเภท CCD

ข้อเสียของเซนเซอร์รับภาพชนิดนี้คือ ต้องมีการใช้วงจรรีเลย์ทรอนิกส์ภายนอกเซนเซอร์ ทำให้เซนเซอร์มีราคาสูงมากขึ้น และมีการใช้พลังงานมากกว่าเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS ถึง 100 เท่าทำให้เกิดความร้อนที่เกิดขึ้นภายในกล้อง

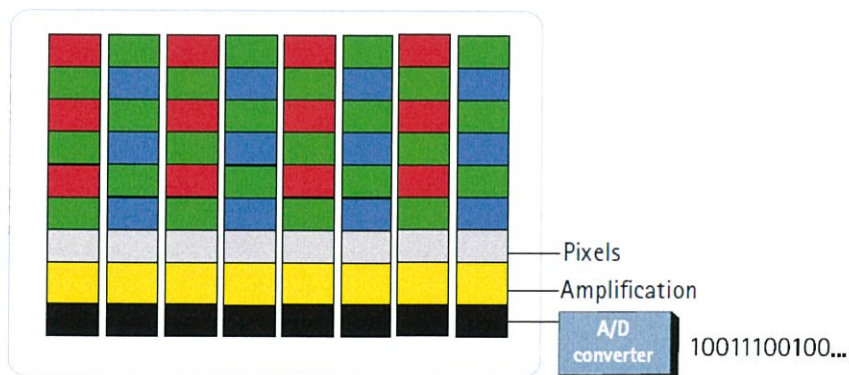


รูปที่ 2.31 แสดงส่วนประกอบของเซนเซอร์รับภาพประเภท CCD

2.3.2. เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS

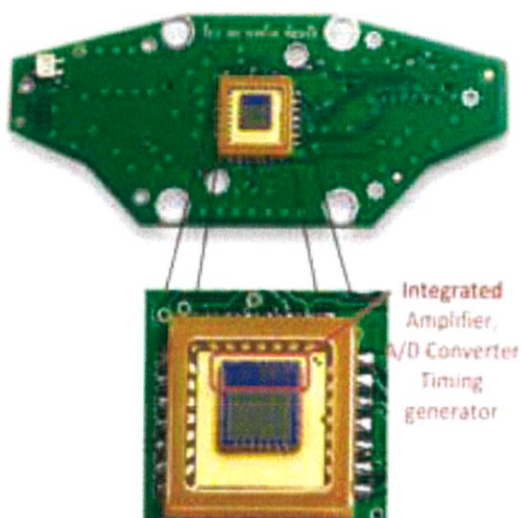
ในอดีต เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS ถูกพัฒนาเพื่อการบันทึกภาพแต่ภาพที่ได้ยังมีคุณภาพที่ไม่ดี เนื่องจากมีความไวต่อแสงน้อย ในปัจจุบันเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS มีการพัฒนามากขึ้น ทำให้เซนเซอร์มีความไวต่อแสงมากยิ่งขึ้น

เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS มีข้อดีหลายอย่างที่แตกต่างจากเซนเซอร์รับภาพประเภท CCD คือ เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS จะประกอบด้วยตัวขยายสัญญาณและวงจรแปลงสัญญาณอนาล็อกเป็นสัญญาณดิจิทัลที่มีราคาไม่สูง และมีขนาดเล็ก ในพิกเซลแต่ละพิกเซลบนเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS ประกอบด้วยตัวแปลงสัญญาณอยู่ใน เซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS จะสามารถอ่านภาพได้เร็วกว่า ใช้พลังงานต่ำกว่า มีการป้องกันสัญญาณรบกวนที่ดี



รูปที่ 2.32 แสดงลักษณะและการทำงานของเซนเซอร์ประเภท CMOS

ข้อเสียของเซนเซอร์ชนิดนี้ คือการตั้งค่าเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS จะมีความยุ่งยากมากกว่าเซนเซอร์รับภาพประเภท CCD

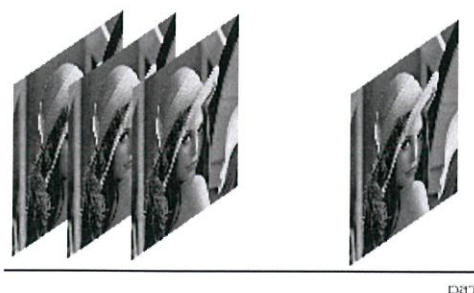


รูปที่ 2.33 แสดงส่วนประกอบของเซนเซอร์รับภาพประเภท CMOS

2.4. ข้อมูลพื้นฐานของภาพ

2.4.1. ลักษณะพื้นฐานของภาพ

ภาพแบ่งออกตามสภาพของภาพได้ 2 ลักษณะคือ ภาพนิ่งและภาพเคลื่อนไหว โดยภาพนิ่งจะไม่มี การเคลื่อนไหวไม่มีความต่อเนื่องของเวลา ทำให้ปรับปรุงภาพได้ง่ายต่อการประมวลผล ส่วนภาพเคลื่อนไหวสร้างขึ้นโดยการนำภาพนิ่งหลาย ๆ ภาพมาฉายต่อเนื่องอย่างรวดเร็วทำให้เกิดภาพลวงตาของการเคลื่อนไหวซึ่งจะมีความเกี่ยวข้องกับเวลาของการแสดงผล ดังนั้นการประมวลผลภาพเคลื่อนไหวจึงทำได้ยากขึ้น



รูปที่ 2.34 ภาพแสดงความสัมพันธ์ภาพนิ่งกับภาพเคลื่อนไหว

2.4.1.1. ข้อมูลภาพนิ่ง แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ ภาพเวกเตอร์ และภาพบิตแมพ

1. ภาพเวกเตอร์ (Vector) เป็นภาพที่สร้างด้วยส่วนประกอบของเส้นลักษณะต่าง ๆ และคุณสมบัติเกี่ยวกับสีของเส้นนั้น ๆ ซึ่งสร้างจากการใช้สมการทางคณิตศาสตร์เป็นตัวสร้างภาพด้วยจุดของเส้นหลาย ๆ จุด เป็นลักษณะของโครงร่างและสีเกิดจากสีของเส้นโครงร่างนั้น ๆ กับพื้นที่ผิวภายใน เมื่อมีการแก้ไขภาพ ก็จะเป็นการแก้ไขคุณสมบัติของเส้น

ข้อดี คือ ทำให้ภาพไม่สูญเสียความละเอียด

ข้อเสีย คือ ภาพไม่เหมือนภาพจริงเป็นได้เพียงภาพวาด หรือใกล้เคียงภาพถ่าย ข้อมูลภาพได้แก่ไฟล์สกุล .svg, .ps, .eps, .ai

1.1. ภาพบิตแมพ (Bitmap) เป็นภาพที่มีการเก็บข้อมูลแบบพิกเซล หรือจุดเล็ก ๆ มีลักษณะเป็นช่อง ๆ เหมือนตาราง เมื่อบิตที่แตกต่างกันในแต่ละตารางมารวมกัน จะสามารถสร้างภาพที่เกิดจากจุดดำและขาว แสดงเป็นค่าสีต่าง ๆ ดังนั้นภาพที่ได้จะประกอบด้วยจุดจำนวนมาก ทำให้ข้อมูลมีขนาดใหญ่ เมื่อนำมาใช้จึงต้องอาศัยเทคนิคการบีบอัดข้อมูล เทคนิคการปรับปรุงลักษณะภาพของภาพบิตแมพ

ข้อดี คือ แสดงผลได้รวดเร็วกว่าภาพเวกเตอร์ เนื่องจากภาพแบบเวกเตอร์ต้องใช้คำสั่งในการแสดงผลมากกว่า

ข้อเสีย คือ การปรับขนาดภาพสามารถทำได้เพียงเล็กน้อย อาจทำให้ลักษณะของภาพที่ได้ต่างไปจากเดิมโดยมีความละเอียดของภาพลดลง และอาจส่งผลกระทบต่ออัตราส่วนของภาพตัวอย่าง ได้แก่ไฟล์สกุล .BMP, .PNG, .GIF, .JPG, .TIF

โครงสร้างของไฟล์ข้อมูลภาพชนิดบิตแมพ โครงสร้างของไฟล์ข้อมูลภาพชนิดบิตแมพ จะประกอบไปด้วย 3 ส่วนคือ

ข้อมูลเฮดเดอร์ คือ ข้อมูลที่อยู่ภายในบริเวณส่วนหัวของไฟล์ซึ่งจะประกอบด้วยข้อมูลที่บอกรายละเอียดของภาพ เช่น ความกว้าง ความยาวของภาพ จำนวนสีจำนวนบิตความละเอียด

ข้อมูลจานสี คือ ข้อมูลที่บอกถึงชุดของสีที่เกิดจากการผสมแม่สีทั้งสามคือ แดง เขียว และน้ำเงิน มาผสมกันได้เป็นสีต่าง ๆ

ข้อมูลภาพ คือ ข้อมูลสีของภาพแต่ละจุด ที่มาประกอบกันเป็นภาพ

พิกเซล (Pixel) คือ องค์ประกอบย่อยในไฟล์กราฟิกแบบบิตแมพ

แอสเป็กเรโซของภาพ คือ อัตราส่วนระหว่างจำนวนพิกเซลทางแนวขวาง และ จำนวนพิกเซลทางแนวตั้งที่ใช้ในการสร้างภาพ สามารถ คำนวณหาจำนวนพิกเซลทั้งหมดในรูปภาพได้จากแอสเป็กเรโซ

รีโซลูชัน (Resolution) คือ รายละเอียดที่อุปกรณ์แสดงกราฟิกชนิดหนึ่งมีอยู่ ค่ารีโซลูชันมักระบุเป็นจำนวนพิกเซลในแนวนอนคือแนวแกน X สามารถแสดงพิกเซลในแนวนอนได้ไม่เกินตามที่ระบุในแนวแกน X และจำนวนพิกเซลในแนวตั้งคือแนวแกน Y สามารถแสดงพิกเซลในแนวแกนตั้งได้ไม่เกินตามที่ระบุในแนวแกน Y

1.2. Joint Photographic Experts Group (JPEG) คือรูปแบบการบีบอัดแฟ้มภาพแบบสูญเสียข้อมูลภาพบางส่วน โดยเสียความละเอียดน้อยที่สุดเพราะตัดรายละเอียดของภาพบางส่วนออก สามารถเก็บความละเอียดสูงได้โดยใช้ขนาดไฟล์ที่เล็ก สามารถเก็บภาพสีได้หลากหลายระดับความแม่นยำของสี (Bit Depth) ความสามารถในการย่อขนาดไฟล์ของแฟ้ม JPEG นั้นเกิดจากการใช้เทคนิคการย่อขนาดภาพแบบการบีบอัดคงข้อมูลหลัก (Lossy Compression) หรือการบีบอัดแบบมีความสูญเสียการบีบอัดของ JPEG นั้นจะใช้เทคนิค DCT (Discrete Cosine Transform) ซึ่งเป็นการแปลงค่าความสว่างของภาพให้อยู่ในรูปแบบเชิงความถี่ (Frequency Domain) ทำให้สามารถเลือกแทนค่าของสัมประสิทธิ์หรือในที่นี้คือ แอมพลิจูดของค่าความถี่ต่าง ๆ ได้โดยอาศัยตัวแปรที่มีนัยสำคัญที่ต่างกันได้ การที่สามารถลดนัยสำคัญของค่าตัวเลขลงไปได้ทำให้สามารถลดขนาดของหน่วยความจำหรือขนาดไฟล์ที่ใช้เก็บตามไปได้ JPG ทำให้การอ่านข้อมูลและการทำรูป ทำได้รวดเร็วมากขึ้นและไม่สิ้นเปลืองเนื้อที่ในการเก็บไฟล์ภาพ

1.3. Tagged Image File Format (TIF) เป็นแฟ้มภาพที่มีการจัดเก็บแบบบิตแมพ เป็นรูปแบบที่สามารถเปลี่ยนแปลงแก้ไขได้ รูปแบบ TIF เป็นรูปแบบแฟ้มแบบบิตแมพที่ค่อนข้างแข็งแรง สามารถทำบางสิ่ง ที่รูปแบบอื่นไม่สามารถทำได้ นอกจากนั้นข้อดีคือ สามารถเปลี่ยนไปมาระหว่างพีซี กับเครื่องแมคอินทอช ได้ เนื่องจากสนับสนุนทั้งสองระบบ แต่เนื่องจากลักษณะการจัดเก็บภาพ ไม่มีการบีบอัดข้อมูลเลย จึงทำให้ขนาดของภาพค่อนข้างใหญ่เมื่อเทียบกับรูปแบบการจัดเก็บภาพในลักษณะอื่น สามารถแสดงคุณสมบัติของสีทุกระดับตั้งแต่ภาพขาวดำไปจนถึงภาพสีได้

1.4. Portable Network Graphics (PNG) เป็นรูปแบบแฟ้มภาพที่พัฒนาขึ้นมาทดแทนรูปแบบแฟ้มแบบ GIF

1.5. Bitmap (BMP) เป็นภาพแบบ Resolution Dependent ประกอบขึ้นด้วยจุดสีต่าง ๆ ที่มีจำนวนคงที่ตายตัวตามการสร้างภาพที่มี Resolution หรือความละเอียดของภาพต่างกัน ขยายภาพบิตแมพ จะมีลักษณะเป็นตารางขนาดเล็ก ซึ่งแต่ละบิตคือส่วนหนึ่งของข้อมูลคอมพิวเตอร์ เนื่องจากบิตแมพมีค่าพิกเซลจำนวนคงที่จึงทำให้มีข้อจำกัดในเรื่องการขยายขนาดภาพ การเปลี่ยน

ขนาดภาพทำโดยเพิ่มหรือลดพิกเซลจากที่มีอยู่เดิม เมื่อขยายภาพให้ใหญ่ขึ้น ความละเอียดของภาพจึงลดลง และถ้าเพิ่มความละเอียดมากขึ้นก็จะทำให้ไฟล์มีขนาดใหญ่และเปลืองเนื้อที่หน่วยความจำมากขึ้นตามไปด้วย ภาพที่ขยายใหญ่มากจะมองเห็นเป็นตารางสี่เหลี่ยมเรียงต่อกัน ทำให้ขาดความสวยงามภาพแบบบิตแมพจึงเหมาะสำหรับงานกราฟิกในแบบที่ต้องการให้แสงเงาในรายละเอียด เป็นไฟล์ที่เหมาะสมกับการทำงานกับภาพเหมือนจริงประเภทภาพถ่าย เพราะบิตแมพมี Channel พิเศษ เรียกว่า Alpha Channel ซึ่งเป็น 32 bit หรือ true color คือสีสมจริง

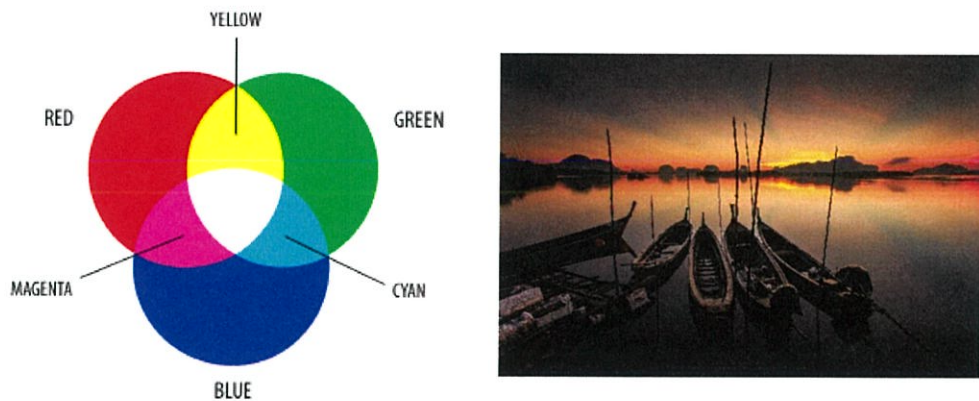
1.6. Graphics Interchange Format (GIF) เป็นไฟล์ที่มีการบีบอัดข้อมูลได้สูง เนื่องจากมีการไล่ระดับเฉดสีเพียง 256 สี ทำให้ไฟล์ชนิดนี้ไม่เหมาะกับภาพที่ต้องการรายละเอียดสูง แต่คุณสมบัติพิเศษของไฟล์ GIF คือสามารถนำมาสร้างภาพเคลื่อนไหวได้

1.7. Raw เป็นไฟล์ภาพชนิดหนึ่งซึ่งเก็บรายละเอียดของภาพทุกอย่างไว้หมด รายละเอียดจึงอยู่ครบ แต่ก็ต้องแรกกับไฟล์ที่มีขนาดใหญ่ ปัญหาของไฟล์ภาพนี้ต้องหาโปรแกรมเฉพาะค่ายนั้น ๆ เพื่อเปิดดูภาพ

2.4.1.2. ระบบสี

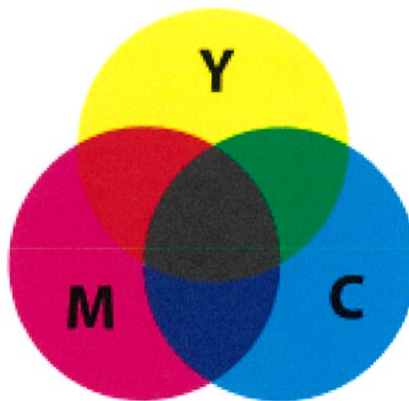
โหมดสีหรือระบบสีของไฟล์ภาพมีหลายชนิด แต่ละชนิดต่างมีคุณสมบัติเฉพาะที่ เหมาะกับการทำงานในลักษณะต่างกันตามความเหมาะสมของคุณสมบัติของสี โดยแต่ละระบบสีมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ระบบสีแบบ RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงินโดยมีการรวมกันแบบการผสมสีแบบบวก (Additive) ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube) ในการใช้งานระบบสี RGB ยังมีการสร้างมาตรฐานที่แตกต่างกันออกไปที่นิยมใช้งานได้แต่ RGBICIE และ RGBNTSC แสดงผลใกล้เคียงกับสีที่ตาเรามองเห็นปกติ แสงสี RGB มักจะถูกใช้สำหรับการส่องสว่างทั้งบนจอทีวีและจอคอมพิวเตอร์ ซึ่งสร้างจากการให้กำเนิดแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ทำให้สีดูสว่างกว่าความเป็นจริง



รูปที่ 2.35 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ RGB และภาพแสดงสีระบบ RGB

ระบบสีแบบ CMYK ประกอบด้วยสีพื้นฐาน คือ สีฟ้า (Cyan), สีม่วงแดง (Magenta), สีเหลือง (Yellow), และเมื่อนำสีทั้ง 3 สีมาผสมกันจะเกิดสีเป็น สีดำ (Black) เรียกการผสมสีทั้ง 3 เป็นแบบการผสมสีแบบลบ (Subtractive) หลักการเกิดสีของระบบนี้คือสีหนึ่งจะดูดกลืนสีจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่าง ๆ



รูปที่ 2.36 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ CMYK



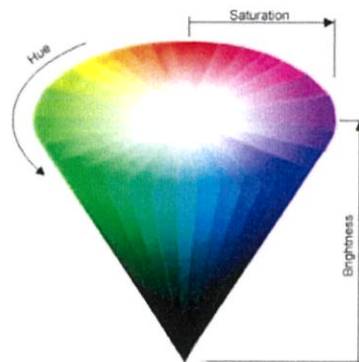
รูปที่ 2.37 ภาพแสดงการเปรียบเทียบระบบสี RGB กับ CMYK

ระบบสีแบบ HSB เป็นระบบสีพื้นฐานในการมองเห็นสีด้วยสายตาของมนุษย์ ประกอบด้วยลักษณะของสี 3 ลักษณะ คือ

- Hue คือ สีต่าง ๆ ที่สะท้อนออกมาจากวัตถุเข้ามายังตาของเรา ทำให้เราสามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่าง ๆ ได้ ซึ่งแต่ละสีจะแตกต่างกันตามความยาวของคลื่นแสงที่มากกระทบวัตถุและสะท้อนกลับที่ตาของเรา Hue ถูกวัดโดยตำแหน่งการแสดงสีบน Standard Color Wheel ซึ่งถูกแทนด้วยองศา 0 ถึง 360 องศา แต่โดยทั่ว ๆ ไปแล้วมักจะเรียกการแสดงสีนั้น ๆ เป็นชื่อของสี เช่น สีแดง สีม่วง สีเหลือง

- Saturation คือ ความสดของสี โดยค่าความสดของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนด Saturation ที่ 0 สีจะมีความสดน้อย แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสดมาก ถ้าถูกวัดโดยตำแหน่งบน Standard Color Wheel ค่า Saturation จะเพิ่มขึ้นจากจุดกึ่งกลางจนถึงเส้นขอบ โดยค่าที่เส้นขอบจะมีสีที่ชัดเจนและอึมท้วที่สุด

- Brightness คือ ระดับความสว่างและความมืดของสี โดยค่าความสว่างของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 ความสว่างจะน้อยซึ่งจะเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสว่างมากที่สุด ยิ่งมีค่า Brightness มากจะทำให้สีนั้นสว่างมากขึ้น



รูปที่ 2.38 ภาพแสดงสีของระบบ HSB



รูปที่ 2.39 ภาพแสดงผลเปรียบเทียบระบบสี HSV กับ RGB

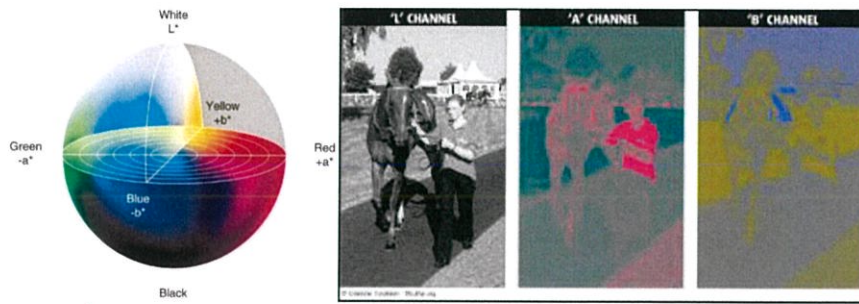
ระบบสีแบบ Lab

ระบบสีแบบ Lab เป็นค่าสีที่ถูกกำหนดขึ้นโดย CIE (Commission Internationale Eclairage) เพื่อให้เป็นสีมาตรฐานกลางของการวัดสีทุกรูปแบบ ครอบคลุมทุกสีใน RGB และ CMYK และใช้ได้กับสีที่เกิดจากอุปกรณ์ทุกอย่างไม่ว่าจะเป็นจอคอมพิวเตอร์ เครื่องพิมพ์ เครื่องสแกนและอื่น ๆ ส่วนประกอบของโหมดสีนี้ได้แก่

L หรือ Luminance เป็นการกำหนดความสว่างซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 จะกลายเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 จะกลายเป็นสีขาว

A เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีเขียวไปสีแดง

B เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีน้ำเงินไปสีเหลือง



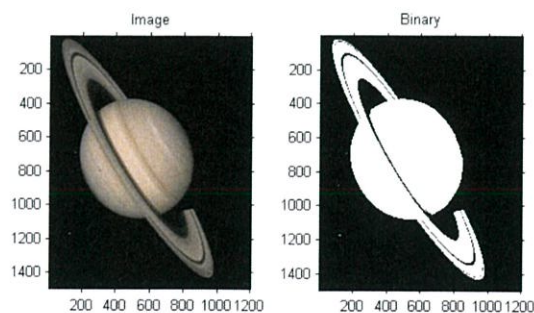
รูปที่ 2.40 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ Lab และภาพแสดงสีระบบ Lab

ระบบสีแบบ Grayscale เป็นภาพแสดงระดับสีเทาค่าสีจะอยู่ในช่วงสีขาวไล่ระดับไปจนถึงสีดำ มีระดับความเข้มสีของสีดำ 255 ระดับรวมกับสีขาว ในโหมดนี้จึงมี 256 สีโดยเก็บอยู่ในรูปแบบของอาร์เรย์ 2 มิติ



รูปที่ 2.41 ภาพแสดงการผสมสีของระบบ Lab และภาพแสดงสีระบบ Lab

ระบบสีแบบ Binary เป็นภาพขาว-ดำ เป็นรูปที่ใช้เนื้อที่เพียง 1 บิต ต่อพิกเซล โดยค่าสีจะมีแค่สองค่าคือ 0 หรือสีดำ และ 1 หรือสีขาว



รูปที่ 2.42 ภาพแสดงผลระบบสี Binary

ระบบสีแบบ Index โหมดสี 8 bit channel หรือ 256 โดยไม่มีการกำหนดสีตายตัวในแต่ละตำแหน่ง ซึ่งสีจะถูกกำหนดไว้ในแต่ละพิกเซลตามชุดสีที่ต้องการ จะทำให้ขนาดของภาพไม่ใหญ่มาก และยังคงคุณสมบัติของภาพไว้อย่างครบถ้วน

1	53	52	51	49	11	55	56
9	46	12	10	14	5	47	16
3	45	43	50	42	41	13	48
7	44	6	4	8	33	54	15
38	40	36	35	34	37	39	2
17	18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31	32

รูปที่ 2.43 ภาพระบบสีแบบ Index

2.5. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพดิจิทัล

2.5.1. ภาพดิจิทัล

ภาพดิจิทัล เป็นการแสดงผลภาพในลักษณะสองมิติในรูปแบบพิกเซล ภาพดิจิทัลสามารถนิยามเป็นฟังก์ชันสองมิติ $f(x,y)$ โดยที่ x และ y เป็นพิกัดของภาพ และแอมพลิจูดของ f ที่พิกัด (x,y) ใด ๆ ภายในภาพคือค่าความเข้มแสงของภาพ (Intensity) ที่ตำแหน่งนั้น ๆ และเมื่อ x, y และแอมพลิจูดของ f เป็นค่าจำกัด (Finite value) จึงเรียกรูปภาพนี้เป็นภาพดิจิทัล (Digital Image) และถ้ากำหนดให้ภาพ $f(x,y)$ มีขนาด M แถวและ N คอลัมน์ และพิกัดของจุดกำเนิด (Origin) ของภาพคือที่ตำแหน่ง $(x,y) = (0,0)$ แล้ว จะสามารถเขียนสมการให้อยู่ในรูปเมทริกซ์ได้ดังนี้

$$f(x,y) = \begin{bmatrix} f(0,0) & f(0,1) & \dots & f(0,N-1) \\ f(1,0) & f(1,1) & \dots & f(1,N-1) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ f(M-1,0) & f(M-1,1) & \dots & f(M-1,N-1) \end{bmatrix}$$

2.5.2. การประมวลผลภาพดิจิทัล

การประมวลผลภาพหมายถึง การนำภาพที่เปลี่ยนเป็นข้อมูลดิจิทัลมาประมวลผลหรือคิดคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เรากำลังต้องการทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยมีขั้นตอน

ต่าง ๆ ที่สำคัญ คือ การทำให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้น การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ การแบ่งส่วนของวัตถุที่เราสนใจออกมาจากภาพ เพื่อนำภาพวัตถุที่ได้ไปวิเคราะห์หาข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ขนาด รูปร่าง และทิศทางการเคลื่อนของวัตถุในภาพ สามารถนำข้อมูลเชิงปริมาณเหล่านี้ไปวิเคราะห์ และสร้างเป็นระบบ เพื่อใช้ประโยชน์ในงานด้านต่าง ๆ ซึ่งประกอบด้วยหลายกระบวนการ ยกตัวอย่างเช่น

- การแปลงข้อมูลรูปภาพ (Image Transformation)
- การกรองภาพ (Image Filters)
- การบีบอัดข้อมูลภาพ (Image Compression)
- การปรับปรุงคุณภาพของภาพ (Image Enhancement)
- การแบ่งภาพและการหาขอบภาพในวัตถุ (Image Segmentation and Edge Detection)

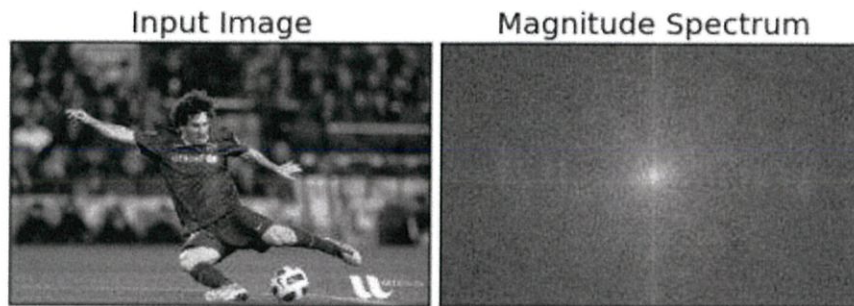
โดยวิธีการปรับปรุงภาพแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ วิธีสเปเชียลโดเมน (Spatial Domain Method) ซึ่งเป็นการประมวลผลกับค่าที่อยู่ในแต่ละจุดโดยตรง และวิธีฟรีควอนซีโดเมน (Frequency Domain Method) เป็นกระบวนการประมวลผลภาพที่ผ่านกระบวนการแปลงด้วยวิธีฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (Fourier Transform)

1. วิธีสเปเชียลโดเมน (Spatial Domain Method)

สเปเชียลโดเมน หมายถึง ตัวระนาบของภาพ เพราะฉะนั้นกระบวนการประมวลผลภาพจึงขึ้นกับค่าที่อยู่ในแต่ละจุดโดยตรง เช่น ฮิสโตแกรมมิคควอลิเซชัน (Histogram Equalization) การบีบอัดไดนามิกเรนจ์ (Dynamic Range Compression) และการแปลงเป็นระดับสีเทา (Gray Scaling)

2. วิธีฟรีควอนซีโดเมน (Frequency Domain Method)

การแปลงฟูเรียร์ทำหน้าที่ในการแปลงสัญญาณในโดเมนเวลาหรือสัญญาณที่เป็นฟังก์ชันของเวลา ให้อยู่ในรูปของสัญญาณในโดเมนความถี่หรือสัญญาณที่เป็นฟังก์ชันของความถี่



รูปที่ 2.44 แสดงสัญญาณความถี่

2.5.2.1. การแปลงข้อมูลรูปภาพในสองมิติ (Image Transformation)

การแปลงข้อมูลภาพ (Image Transformation) เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการประมวลผล เนื่องจากเป็นกระบวนการที่จะนำไปสู่การวิเคราะห์ภาพโดยจะกล่าวถึงในลักษณะ 2 มิติ การแปลงข้อมูลพื้นฐานแบ่งออกเป็น 4 วิธีคือ

1. การเลื่อนภาพ (Translation)

เป็นการเลื่อนตำแหน่งของภาพตามระยะการขจัดทางแนวแกน x (T_x) และตามแนวแกน y (T_y) เมื่อกำหนดให้พิกัดเดิมคือ (x, y) และพิกัดใหม่คือ (x', y') จะได้สมการของการเลื่อนภาพดังนี้คือ

$$x' = x + T_x \quad \text{สมการที่ 2.1}$$

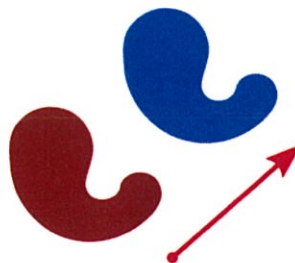
$$y' = y + T_y \quad \text{สมการที่ 2.2}$$

ซึ่งสามารถเขียนให้อยู่ในรูปแบบของเมตริกได้ มีลักษณะดังนี้คือ $P' = P + T$ เมื่อ

$$P' = \begin{bmatrix} x' \\ y' \end{bmatrix}$$

$$P = \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix}$$

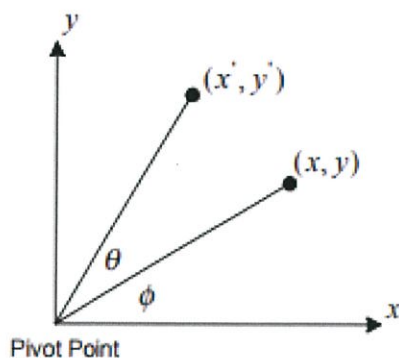
$$T = \begin{bmatrix} T_x \\ T_y \end{bmatrix}$$



รูปที่ 2.45 แสดงการเลื่อนตำแหน่งของวัตถุในภาพ

2. การหมุนภาพ (Rotation)

เป็นการหมุนภาพในระนาบ xy เมื่อจุดศูนย์กลางการหมุน (Pivot Point) อยู่ที่จุดเริ่มต้น (Origin)



รูปที่ 2.46 แสดงเวกเตอร์การหมุนภาพ

จากรูปที่ จะได้ว่า

$$x = r \cos(\phi) \quad \text{สมการที่ 2.3}$$

$$y = r \sin(\phi) \quad \text{สมการที่ 2.4}$$

และ

$$x' = r \cos(\phi + \theta) = r(\cos \phi \cos \theta - \sin \phi \sin \theta) \quad \text{สมการที่ 2.5}$$

$$y' = r \sin(\phi + \theta) = r(\sin \phi \cos \theta + \cos \phi \sin \theta) \quad \text{สมการที่ 2.6}$$

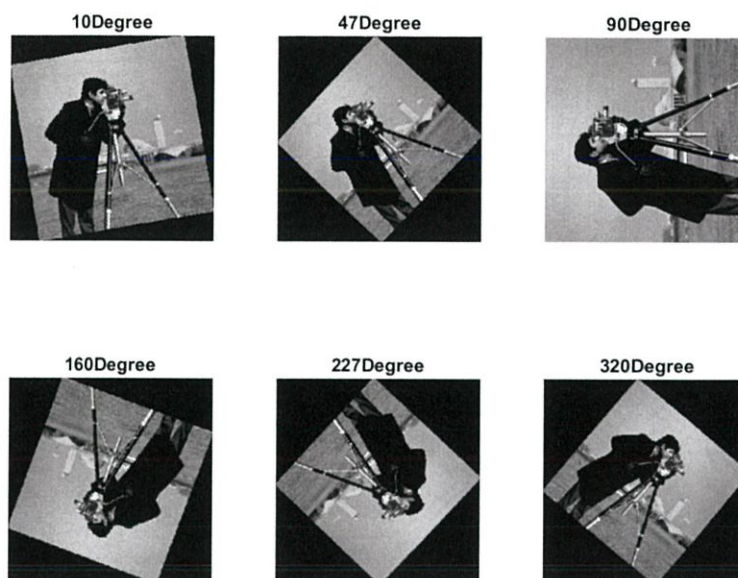
เพราะฉะนั้นจากสมการที่ () และ () จะได้สมการของการหมุนรอบจุดเริ่มต้นดังนี้

$$x' = x \cos(\theta) - y \sin(\theta) \quad \text{สมการที่ 2.7}$$

$$y' = x \sin(\theta) + y \cos(\theta) \quad \text{สมการที่ 2.8}$$

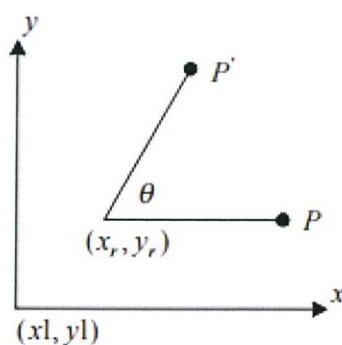
ซึ่งสามารถเขียนให้อยู่ในรูปแบบของเมตริกได้ดังนี้ $P' = R \cdot P$

$$P' = \begin{bmatrix} x' \\ y' \end{bmatrix} \quad P = \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} \quad R = \begin{bmatrix} \cos(\theta) & -\sin(\theta) \\ \sin(\theta) & \cos(\theta) \end{bmatrix}$$



รูปที่ 2.47 ภาพแสดงการหมุนภาพในองศาต่าง ๆ

การหมุนภาพเมื่อจุดศูนย์กลางการหมุนไม่ได้อยู่ที่จุดเริ่มต้น พิจารณาเมื่อจุดหมุนอยู่ที่ตำแหน่ง (x_r, y_r)



รูปที่ 2.48 ภาพแสดงการหมุนภาพที่ไม่ใช่ตำแหน่งจุดเริ่มต้น

วิธีการในการหมุนภาพเมื่อจุดหมุนไม่ได้อยู่ที่จุด Origin สามารถทำได้ ดังนี้คือ

1. ทำการเปลี่ยนจุด Pivot ไปยังจุด Origin

$$x1 = x - x_r$$

สมการที่ 2.9

$$y1 = y - y_r$$

สมการที่ 2.10

2. ทำการหมุนรอบจุด Origin
3. ย้ายกลับไปยังจุดเดิม โดยการบวกด้วย x_r และ y_r
4. สมการการหมุนรอบจุด Pivot ใด ๆ ที่ไม่ใช่จุด Origin มีลักษณะดังนี้คือ

$$x' = (x - x_r) \cos \theta - (y - y_r) \sin \theta + x_r \quad \text{สมการที่ 2.11}$$

$$y' = (x - x_r) \sin \theta + (y - y_r) \cos \theta + y_r \quad \text{สมการที่ 2.12}$$

3. การย่อภาพ (Scaling)

การย่อและการขยายภาพสามารถทำได้โดยการใช้ Scaling factor ได้แก่ S_x และ S_y ซึ่ง ใช้สำหรับการย่อและการขยายภาพในทางแกน x และ y ตามลำดับ โดยถ้า

$0 < S_x, S_y < 1$ แสดงว่าเป็นการย่อภาพ

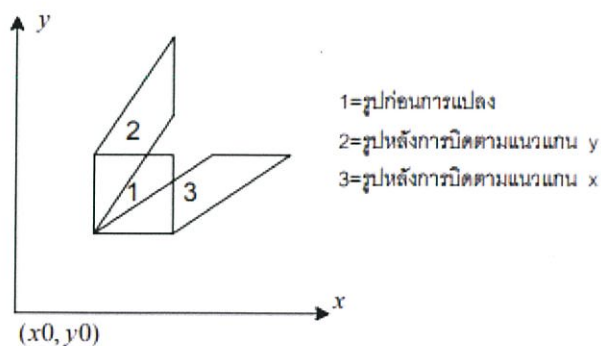
$S_x, S_y > 1$ แสดงว่าเป็นการขยายภาพ

$S_x = S_y$ แสดงว่าย่อและขยายจะเป็นไปตามสัดส่วน

$S_x \neq S_y$ แสดงว่าย่อและขยายจะไม่เป็นอัตราส่วน

4. การบิดภาพ (Shearing)

การบิดภาพสามารถบิดภาพได้ทั้งแนวแกน x และ y



รูปที่ 2.49 แสดงการบิดภาพ

2.5.2.2. การกรองภาพ (Image Filters)

การกำจัดสัญญาณรบกวน (Noise Reduction) เมื่อได้ภาพขาวดำ สังเกตได้ว่าภาพที่ได้มานั้นยังมีส่วนเกินที่อยู่ในภาพ ทำให้ภาพนั้น ยังไม่มีความชัดเจน จึงต้องอาศัยวิธีการกำจัด สัญญาณรบกวนออกจากรูปภาพ ผลลัพธ์ที่ได้นั้นจะทำให้ภาพชัดเจนมากยิ่งขึ้น โดยวิธีการกำจัดสัญญาณรบกวนสามารถทำได้ด้วยวิธีต่อไปนี้

1. Morphological Image Processing เป็นการนำโครงสร้าง 0 หรือ 1 ขนาดหนึ่งไปวางบนภาพที่แต่ละตำแหน่งบนภาพจะทำการ อนุมาณด้วยเหตุผลระหว่างโครงสร้างกับภาพ ที่อยู่ได้ โครงสร้าง ได้ผลลัพธ์มาปรับค่าที่ ตำแหน่งนั้น Morphological มีการทำงานอยู่ 2 แบบ คือ

- 1) Erosion คือการกำจัดจุดขอบทุกจุด จะทำให้วัตถุเล็กลง 1 Pixel
- 2) Dilation คือการเพิ่มจุดรอบขอบ วัตถุอีก 1 Pixel

หากทำ Erosion ก่อน Dilation จะเรียกว่า Opening คือทำการให้วัตถุที่เล็กถูกกำจัดออกไป โดยจะแยกวัตถุที่เชื่อมต่อกันด้วยเส้นบาง ๆ ออกจากกัน จากนั้นทำให้วัตถุมีขนาดใหญ่ขึ้น ขอบเรียบขึ้น ผลลัพธ์จะได้วัตถุที่มีขนาดเท่าเดิม หากทำ Dilation ก่อน Erosion จะเรียกว่า Closing จุดเล็ก ๆ ที่อยู่บนวัตถุจะถูกเติมเต็มทั้งหมด ทำให้วัตถุที่อยู่ใกล้กันมากจะถูกเชื่อมต่อกัน จากนั้นทำให้วัตถุเรียบขึ้น ผลลัพธ์ที่ได้วัตถุจะมีขนาดเท่าเดิม

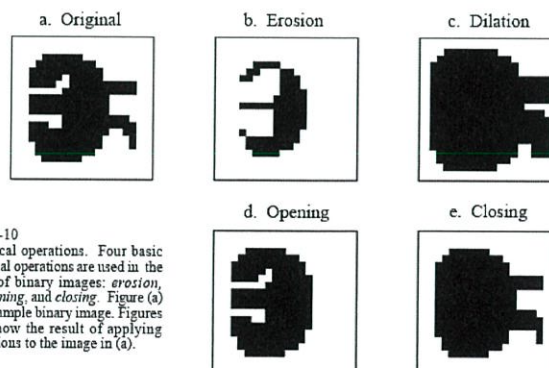


FIGURE 25-10 Morphological operations. Four basic morphological operations are used in the processing of binary images: *erosion*, *dilation*, *opening*, and *closing*. Figure (a) shows an example binary image. Figures (b) to (e) show the result of applying these operations to the image in (a).

รูปที่ 2.50 แสดงผลการทำ morphology method

2. การกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่าเฉลี่ยแบบคณิตศาสตร์ (mean filtering) วิธีการนี้จะใช้ค่าเฉลี่ยแบบคณิตศาสตร์ของจุดทั้งหมด หากมีภาพขนาด $N \times M$ ทั้งหมด K ภาพ เราสามารถคำนวณหาภาพใหม่ได้ดังนี้

$$\hat{I}(x, y) = \frac{1}{K} \sum_{j=1}^K I_j(x, y)$$

สมการที่ 2.13

$\hat{I}(x, y)$ คือความเข้มแสงของจุด ณ ตำแหน่ง (x, y) ในภาพผลลัพธ์

$I_j(x, y)$ คือความเข้มแสงของจุด ณ ตำแหน่ง (x, y) ในภาพที่ j

วิธีนี้เป็นการลดทอนสัญญาณรบกวน ภาพที่ได้จะมีสัญญาณรบกวนลดลง



ภาพต้นฉบับ

ภาพผ่านการกรองโดยใช้ค่าเฉลี่ย

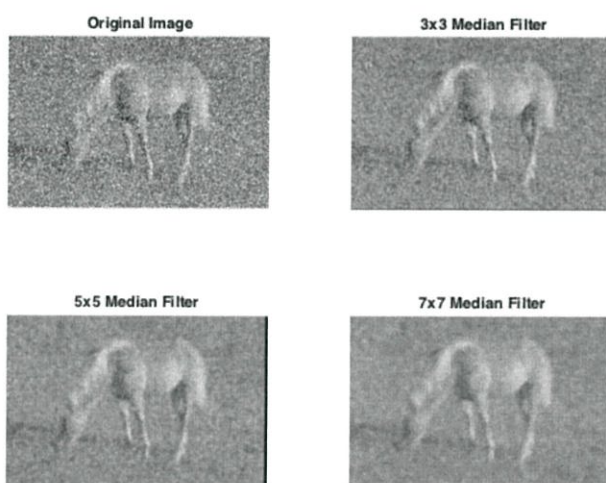
รูปที่ 2.51 ภาพแสดงผลการกรองข้อมูลโดยใช้ค่าเฉลี่ย

3. การกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่ามัธยฐาน (median filtering)

วิธีการนี้จะนำเอาความเข้มแสงของจุดที่ตรงกันในภาพต่าง ๆ มาเรียงลำดับ (sort) จากน้อยไปหามาก จากนั้นจะเลือกค่าที่อยู่ตรงกลางไปใช้ หากจำนวนภาพทั้งหมดเป็นจำนวนคู่ จะใช้ค่าทั้งสองที่อยู่ตรงกลางจะนำมาหาค่าเฉลี่ย วิธีการนี้จะต้องใช้การเรียงลำดับซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้เวลาในการคำนวณสูง แต่ข้อดีคือไม่สูญเสียความคมชัด

ตัวอย่าง

ภาพที่ 1	ภาพที่ 2	ภาพที่ 3	=	ผลลัพธ์
1 2 1 3	2 3 4 3	3 2 1 4		2 2 1 3
4 2 2 1	5 3 4 1	2 1 4 0		4 2 4 1
0 1 1 3	3 2 4 2	1 4 2 0	=	1 2 2 2
2 2 1 1	1 3 1 2	2 4 0 2		2 3 1 2



รูปที่ 2.52 แสดงผลการกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่ามัธยฐานในขนาดต่าง ๆ

4. การกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่าฐานนิยม (modal filtering) วิธีการนี้คล้ายกับวิธีใช้ค่ามัธยฐานแต่ไม่ใช้การเรียงลำดับข้อมูล ทำได้โดยเลือกระดับความเข้มแสงที่ใช้บ่อยที่สุด วิธีนี้เหมาะสำหรับการลดสัญญาณรบกวนที่เกิดขึ้นไม่บ่อย

ตัวอย่าง

ภาพที่ 1	ภาพที่ 2	ภาพที่ 3	=	ผลลัพธ์
1 2 1 3	2 3 4 3	3 2 1 4		2 2 1 3
4 2 2 1	5 3 4 1	2 1 4 0		4 2 4 1
0 1 1 3	3 2 4 2	1 4 2 0	=	1 2 2 2
2 2 1 1	1 3 1 2	2 4 0 2		2 3 1 2

5. การกรองข้อมูลสำหรับกรองความถี่ต่ำผ่าน เเทมเพลตขนาด 3×3 ต่อไปนี้สามารถใช้เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันของค่าความเข้มแสงในภาพ

1	1	1
1	1	1
1	1	1

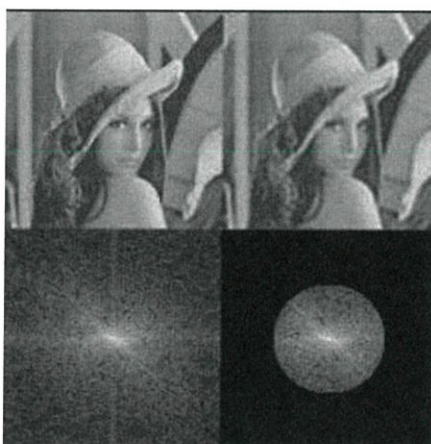
เทมเพลตขนาด 3×3

1	3	1
3	16	3
1	3	1

เทมเพลตเน้นจุดกลาง

ผลของการคอนโวลูชันกับเทมเพลตนี้จะเหมือนกับการหาผลรวมของจุดภาพทั้ง 9 จุดที่เทมเพลตซ้อนทับอยู่ การเปลี่ยนแปลงใด ๆ ในบริเวณดังกล่าวจะถูกเฉลี่ยให้มีความราบเรียบ ผลที่ได้คือสัญญาณที่มีการเปลี่ยนแปลง (เช่นสัญญาณรบกวนความถี่สูง) จะถูกลดทอน ภาพที่ได้จะมีความคมลดลง คุณสมบัติเช่นนี้เปรียบได้กับการกรองสัญญาณความถี่ต่ำผ่าน

เทมเพลตการกรองความถี่ต่ำผ่านที่นิยมใช้อีกแบบหนึ่งคือ เทมเพลตเน้นความสำคัญของจุดที่อยู่ตรงกลาง โดยจะให้จุดกลางมีน้ำหนัก 50% ของทั้งหมด และให้น้ำหนักรวมของจุดทั้ง 4 ที่อยู่ด้านบน ด้านล่าง ด้านซ้าย และด้านขวาของจุดกลางมีค่าเท่ากับ 40% ส่วนจุดมุมทั้ง 4 มีน้ำหนักเพียง 10% โดยจุดที่อยู่ใกล้จุดศูนย์กลางจะมีน้ำหนักมากกว่าจุดที่อยู่ห่างออกไป



รูปที่ 2.53 ภาพแสดงผลการกรองความถี่ต่ำผ่าน

6. เหมเพลตสำหรับกรองความถี่สูงผ่าน สัญญาณความถี่สูงคือสัญญาณที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าไปมาอย่างรวดเร็ว ต่างกับสัญญาณความถี่ต่ำ ซึ่งมีการเปลี่ยนค่าอย่างช้า ๆ หรือไม่เปลี่ยนแปลงเลย การกรองความถี่สูงผ่าน (High pass filter) ก็คือการกรองสัญญาณที่เพิ่มความแรงของสัญญาณที่มีความถี่สูงและลดความแรงของสัญญาณที่มีความถี่ต่ำ เหมเพลตต่อไปนี้ใช้สำหรับการกรองความถี่สูงผ่าน

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

เหมเพลตความถี่สูงผ่านขนาด 3×3



รูปที่ 2.54 แสดงผลการกรองความถี่สูงผ่าน

7. การคอนโวลูชัน คือการกระทำกันระหว่างเหมเพลต (template) กับภาพ (image) เหมเพลตคือเมตริกซ์ขนาด $n \times m$ ของชุดตัวเลขที่จะนำไปซ้อนทับภาพที่ตำแหน่งต่าง ๆ เพื่อหาผลลัพธ์ของการคอนโวลูชัน ถ้ากำหนดให้เหมเพลต $T(x,y)$ เป็นเหมเพลตขนาด $n \times m$ และภาพ $I(X,Y)$ มีขนาด $N \times M$ การคอนโวลูชันระหว่างเหมเพลตกับภาพสามารถแสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

$$I'(X,Y) = T * I = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{m-1} T(i,j) \cdot I(X-i,Y-j) \quad \text{สมการที่ 2.14}$$

โดย $I'(X,Y)$ คือภาพผลลัพธ์จากการคอนโวลูชัน

จากสมการที่ 2.14 จะเห็นว่าระดับความเข้มแสง ณ จุด (X,Y) ในภาพผลลัพธ์ได้จากการหาผลรวมของผลคูณของระหว่างค่าในเทมเพลตกับค่าระดับความเข้มแสงของภาพในบริเวณที่เทมเพลตซ้อนทับอยู่ จากสมการ ตัวชี้ตำแหน่งจุดในภาพ $(X-i,Y-j)$ แสดงให้เห็นว่ามีการพลิกเทมเพลตทางแกนนอน และแกนตั้ง สมการที่ 5.2 แสดงการคอนโวลูชันที่ไม่ต้องมีการพลิกเทมเพลต ซึ่งวิธีการนี้มีชื่อที่แท้จริงว่า cross-correlation และเป็นที่ยอมรับใช้ในด้านประมวลผลภาพ

ขั้นตอนของการคอนโวลูชันประกอบด้วยการเล่น บวก และคูณ เราสามารถใช้การคอนโวลูชันในการประมวลผลภาพได้ในหลายลักษณะ เช่น กรองสัญญาณภาพ การหาขอบภาพ (edge detection) หรือการหารูปทรงของวัตถุในภาพ เป็นต้น

โดยทั่วไปในการคอนโวลูชัน เราจะไม่ยอมให้มีการเลื่อนเทมเพลตออกนอกขอบเขตของภาพ ดังนั้นถ้าเทมเพลตมีขนาดใหญ่กว่า 1×1 ภาพผลลัพธ์จะมีขนาดเล็กกว่าภาพเริ่มต้นเสมอ ตัวอย่างเช่น การคอนโวลูชันระหว่างภาพขนาด 4×5 กับ เทมเพลตขนาด 2×2 ต่อไปนี้

เทมเพลต	ภาพเริ่มต้น	ภาพผลลัพธ์
	1 1 3 3 4	2 5 7 6 *
1 0	1 1 4 4 3	2 4 7 7 *
0 1	2 1 3 3 3	3 2 7 7 *
*	1 1 1 4 4	* * * * *

=

จะให้ภาพผลลัพธ์ที่มีขนาด 3×4 จากตัวอย่างข้างต้น ค่าความเข้มสี 3 ในภาพผลลัพธ์ได้จากการหาผลรวมของผลคูณระหว่างเทมเพลตกับภาพ ซึ่งมีค่าเท่ากับ

$$(1 \times 2) + (0 \times 1) + (0 \times 1) + (1 \times 1) = 3$$

การคอนโวลูชันแบบไม่เป็นรายคาบ (aperiodic convolution) เป็นการคอนโวลูชันที่ไม่ยอมให้เทมเพลตเลื่อนออกนอกบริเวณขอบภาพ วิธีการนี้จะได้ภาพที่มีขนาดเล็กลง

คอนโวลูชันแบบเป็นรายคาบ (periodic convolution) เป็นการคอนโวลูชันแบบคงขนาดภาพ การคอนโวลูชันนี้เปรียบเสมือนการม้วนภาพให้ขอบซ้ายมาชนกับขอบขวา และม้วนให้ขอบบนมาชนกับขอบล่าง เมื่อเทมเพลตเลื่อนตกขอบข้างใดข้างหนึ่ง ๆ ส่วนของเทมเพลตที่เลยขอบก็จะไปทับกับขอบภาพอีกด้านหนึ่ง

วิธีการอย่างง่ายที่ทำให้ภาพผลลัพธ์มีขนาดเท่ากับภาพเริ่มต้น คือการเติมค่าศูนย์บริเวณรอบ ๆ ภาพเริ่มต้นเพื่อทำให้ภาพเริ่มต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น หลังจากการคอนโวลูชันจะได้ภาพผลลัพธ์ที่มีขนาดเท่ากับภาพเริ่มต้นก่อนมีการขดเซย แสดงการคอนโวลูชันที่มีการเติมค่าศูนย์ให้กับภาพเริ่มต้น

ภาพแสดงการคอนโวลูชันแบบเติม 0 จากภาพเริ่มต้น

ภาพเริ่มต้น	ภาพเริ่มต้นหลังจาก					เทมเพลต	=	ภาพผลลัพธ์
	เติมศูนย์							
	0	0	0	0	0			
1 2 3	0	1	2	3	0	1 0 0		6 8 3
4 5 6	0	4	5	6	0	* 0 1 0		12 15 8
7 8 9	0	7	8	9	0	0 0 1		7 12 14
	0	0	0	0	0			

2.5.2.3. การบีบอัดข้อมูลภาพ (Image Compression)

การบีบอัดข้อมูล มีความสำคัญในระบบการสื่อสารและจัดเก็บข้อมูล เนื่องจากทำให้เก็บหรือรับส่งข้อมูลได้มากขึ้น โดยใช้เนื้อที่เท่าเดิม (คำว่าเนื้อที่อาจจะเป็นเนื้อที่จัดเก็บข้อมูล หรือเนื้อที่ในช่องสัญญาณ)

การบีบอัดข้อมูลแบ่งได้เป็นสองประเภทใหญ่ ๆ ตามคุณภาพของข้อมูลที่ถูกบีบอัดแล้ว คือ

1. การบีบอัดข้อมูลแบบไม่สูญเสีย (lossless data compression)
2. การบีบอัดข้อมูลแบบสูญเสียบางส่วน (lossy data compression)

2.5.2.4. การปรับปรุงภาพ (Image enhancement)

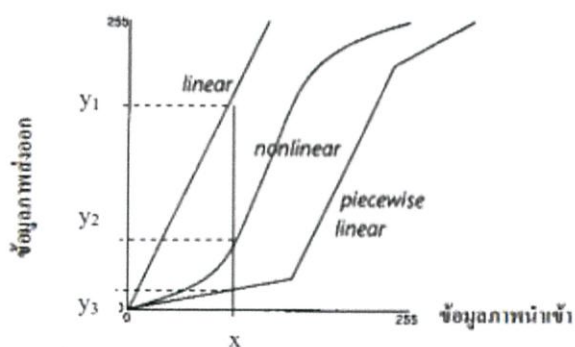
เป็นกระบวนการในการแปลงข้อมูลภาพตัวเลข เพื่อที่จะสร้างภาพที่เน้นรายละเอียดที่ต้องการหรือปรับพิสัยของโทนแสงที่ต้องการของภาพเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลหรือรายละเอียดอื่น ๆ ของภาพ ซึ่งการปรับปรุงภาพแต่ละวิธีจะช่วยในการแปลงภาพในแง่มุมมองที่แตกต่างกัน เทคนิคที่ใช้การปรับปรุงภาพโดยทั่วไปได้แก่ การปรับปรุงภาพเชิงรังสี (radiometric enhancement) เชิงช่วงคลื่น (spectral enhancement) และเชิงพื้นที่ (spatial enhancement)

1. การปรับปรุงภาพเชิงรังสี (radiometric enhancement)

การปรับภาพเชิงรังสี เป็นการปรับภาพ โดยใช้ค่าตัวเลขของจุดภาพเดี่ยว ๆ ในแต่ละแบนด์ และปรับภาพทีละแบนด์ เป็นอิสระต่อกัน การปรับภาพเชิงรังสีที่ใช้ได้ดีกับภาพแบนด์หนึ่ง อาจจะใช้

กับแบนด์อื่นไม่ได้ หลังการ ปรับภาพแต่ละแบนด์แล้ว สามารถนำมาทำภาพสีผสมตามต้องการได้ การปรับภาพเชิงรังสีนี้มักจะ ไม่มีการเปลี่ยนข้อมูลภาพอย่างถาวร ตัวอย่างเทคนิคการปรับภาพเชิงรังสีได้แก่

การปรับระดับสีเทาของภาพ (contrast stretching) เป็นการขยายความเข้มของโทนสีให้อยู่ในพิสัยที่ ต้องการ เทคนิคแบบที่ใช้มีทั้งแบบสมการเส้นตรง (linear) แบบไม่เป็นเส้นตรง (nonlinear) หรือแบบแตกส่วน (piecewise)



รูปที่ 2.55 กราฟแสดงการขยายความเข้มของโทนสี

2. การปรับปรุงภาพเชิงช่วงคลื่น (spectral enhancement)

ความละเอียดเชิงช่วงคลื่นเป็นการวัดจำนวนและขนาดของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ที่สามารถบันทึกได้ด้วยเครื่องจับภาพ เป็นการใช้อุปกรณ์ในหลาย ๆ ช่วงคลื่น แล้วแปลงเป็นแบนด์ใหม่เพื่อจะเน้นลักษณะที่สนใจ หรืออาจจะลดขนาดของข้อมูล หรือความซ้ำของข้อมูล

3. การปรับปรุงภาพเชิงพื้นที่ (spatial enhancement)

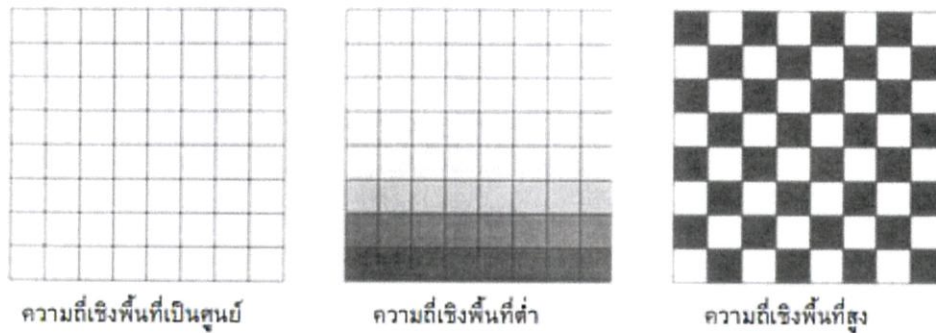
การปรับภาพเชิงพื้นที่เป็นการเน้นภาพที่ใช้ค่าจากจุดภาพที่อยู่รอบ ๆ จุดภาพนั้นมาคำนวณด้วย การปรับภาพเชิงพื้นที่จะเกี่ยวข้องกับ “ความถี่เชิงพื้นที่” ซึ่งหมายถึง ความแตกต่างระหว่างค่าสูงสุดและต่ำสุดของกลุ่มจุดภาพที่อยู่ติดกัน หรืออยู่ใกล้เคียงกัน หรือจำนวนการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างต่อหน่วยระยะทางในส่วนของภาพ

ความถี่เชิงพื้นที่เป็นศูนย์ เป็นภาพเรียบ ๆ ทุกจุดภาพมีค่าเท่ากัน

ความถี่เชิงพื้นที่ต่ำ เป็นภาพที่ค่อย ๆ มีการเปลี่ยนแปลงของค่าหรือโทนสี

ความถี่เชิงพื้นที่สูง เป็นภาพที่มีการตัดกันของโทนสีขาวดำอย่างชัดเจน หรือมีการเปลี่ยนโทน สีอย่างฉับพลัน

บางครั้งเป็นการปรับภาพเพื่อการสกัดลักษณะเด่น (feature extraction) ให้เห็นชัดขึ้น ผลจากการใช้ เทคนิคนี้ช่วยให้การแปลภาพด้วยสายตาดูง่ายขึ้น และมักจะเปลี่ยนค่าข้อมูลดั้งเดิมอย่างถาวร



รูปที่ 2.56 แสดงความถี่เชิงพื้นที่ในระดับต่าง ๆ

การแบ่งภาพและการหาขอบภาพในวัตถุ (Image Segmentation and Edge Detection)

1. spatial gradient

เทคนิคนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงถึงรอยต่อเชิงพื้นที่ของวัตถุไม่ว่าจะเป็นจุด เส้น หรือโหนด การกรองนี้ใช้กับปรากฏการณ์ที่การกระจายเชิงพื้นที่ไม่ติดต่อกัน

พื้นที่ที่ข้อมูลนำเข้ามีค่าเท่ากัน ผลที่ได้จะมี ค่าเป็น ศูนย์

พื้นที่ที่มีความถี่ต่ำ ผลที่ได้จะมีค่าต่ำ

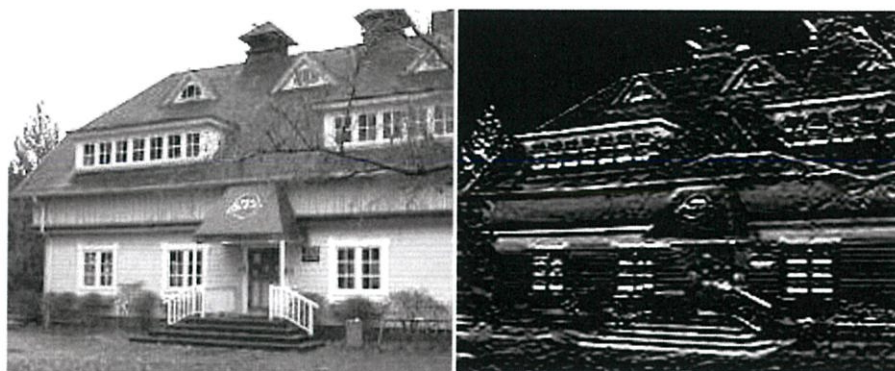
พื้นที่ที่มีความถี่สูง ผลที่ได้จะมีค่าสูงมาก

การจับขอบในทุกทิศทาง หรือไม่มีทิศทางจะกระทำผ่านทางกรองภาพแบบทิศทางที่ตั้งฉากกัน

- Sobel หน้าต่างเคลื่อนที่ Zero-sum ที่ใช้หน้าต่างเคลื่อนที่แบบตั้งฉาก 2 ตัวกระทำกับข้อมูลดั้งเดิมแล้วค่อย เอามารวมกันแบบเวกเตอร์

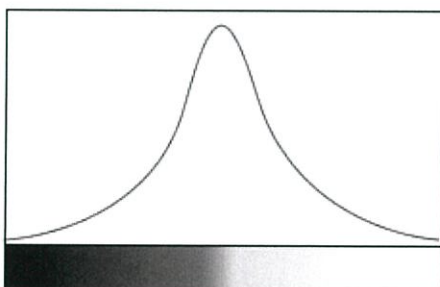
$$\begin{pmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad \begin{array}{c} \text{แนวนอน} \\ \text{แนวตั้ง} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{Sobel} \\ \text{Diagram} \end{array}$$

รูปที่ 2.57 แสดงหน้าต่างเคลื่อนที่ของวิธี Sobel

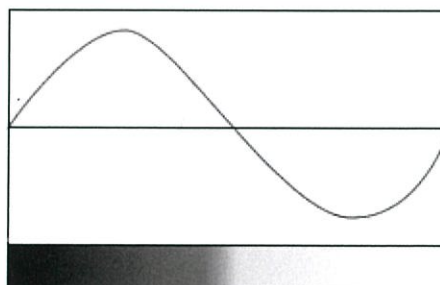


รูปที่ 2.58 ภาพแสดงผลการจับขอบด้วยวิธี Sobel

- Laplacian ใช้อนุพันธ์อันดับที่ 2 ในการจับขอบ เป็นการให้ ความแตกต่างระหว่างจุดภาพ ตรงกลางกับจุดภาพรอบข้างมาก ใช้ได้ดีในกรณีที่ข้อมูลที่มีขอบแบบ ความถี่เชิงพื้นที่ที่มีความลาดชัน

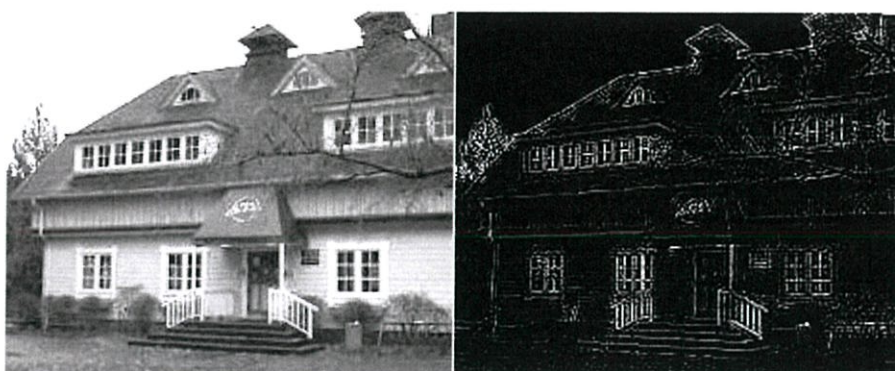


The first derivative of the curve above



The second order derivative

รูปที่ 2.59 แสดงกราฟอนุพันธ์ลำดับที่ 1 และ 2



รูปที่ 2.60 แสดงผลการจับขอบแบบ Laplacian

2.6. การประมวลผลภาพทางการแพทย์

การประมวลผลภาพทางการแพทย์ นำศาสตร์ทางการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้ เช่นกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการวินิจฉัยโรคต่าง ๆ หรือตรวจหาความผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายของผู้ป่วยได้รวดเร็วยิ่งขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ตัวอย่างการนำภาพถ่ายมาทำการวิเคราะห์ ใช้หลักการของการประมวลผลภาพให้ภาพคมชัดมากยิ่งขึ้น

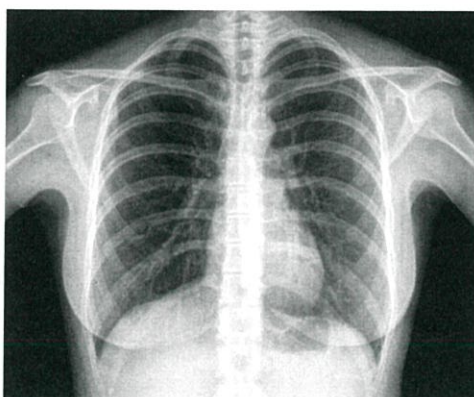
ในปัจจุบัน เทคนิคการถ่ายภาพทางการแพทย์ ซึ่งทำให้แพทย์สามารถตรวจดูอวัยวะสำคัญภายในร่างกายได้โดยไม่ต้องผ่าตัด ได้แก่

ภาพถ่ายเอกซเรย์ จากเครื่อง X-Ray ซึ่งสามารถถ่ายภาพโครงสร้างกระดูกและอวัยวะบางอย่างเช่น ปอด ภายในร่างกายได้

ภาพถ่าย CT scan จากเครื่อง CT (Computed Tomography) ซึ่งสามารถจับภาพอวัยวะต่าง ๆ ในแนวระนาบตัดขวางได้

ภาพถ่าย MRI จากเครื่อง MRI (Magnetic Resonance Imaging) ซึ่งใช้ถ่ายภาพส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่กระดูก (soft tissues) ได้ดี ภาพ MRI นั้นนอกจากจะให้ข้อมูลทางกายภาพแล้วยังให้ข้อมูลทางเคมีด้วย เครื่อง MRI ยังสามารถถ่ายภาพอวัยวะที่ต้องการในระนาบต่าง ๆ ได้ด้วย โดยไม่จำเป็นต้องเคลื่อนย้ายตำแหน่งของผู้ป่วย

ภาพจากอัลตราซาวด์ (Ultrasound) ซึ่งใช้ตรวจดูความสมบูรณ์ของทารกในครรภ์มารดา หรือตรวจดูขนาดของ ตับ ม้าม ถุงน้ำดี และ ไต เพื่อหาความผิดปกติของอวัยวะ



รูปที่ 2.61 ภาพถ่ายเอกซเรย์

2.7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการจำแนกประเภทเซลล์ปกติและผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกด้วยการวิเคราะห์ภาพจากวิธี PAP smear พบงานวิจัยที่มีความน่าสนใจอยู่จำนวนหนึ่งซึ่งสามารถนำมาศึกษาหาแนวทางในการวิจัยและพัฒนา งานวิจัย Analysis of PAP smear image data กล่าวถึงการวิเคราะห์แยกภาพเซลล์มะเร็งปากมดลูกโดยใช้ภาพที่ถ่ายจากตัวอย่างสไลด์ PAP smear ใช้วิธีการ Mahalanobis distance ในการพิจารณาความหนาแน่นของการกระจายตัวของข้อมูล ซึ่งเป็นการระบุขอบเขตของนิวเคลียสและกำหนดระยะความใกล้เคียงกันของแต่ละเซลล์ และงานวิจัย PAP Smear Classification Using Efficient Second Order Neural Network Training Algorithms, Nikolaos A. กล่าวถึงกระบวนการขั้นตอนการจำแนกเซลล์ไว้ดังนี้ การใช้กระบวนการ c-means clustering โดยการหาขอบเขตการตัดแยกบริเวณนิวเคลียสและไซโตพลาซึม แบ่งได้ออกเป็น 3 วิธีคือ hard c-means (HCM), fuzzy c-means (FCM) และ Gustafson -Kessel (GK) และงานวิจัย Automatic cervical cell segmentation and classification in PAP smears, Thanatip C. ใช้วิธีการ fuzzy c-means (FCM) โดยใช้เทคนิคการปรับปรุงภาพให้ง่ายต่อการแยกบริเวณนิวเคลียส ไซโตพลาซึม และพื้นหลัง วิธีการเหล่านี้สามารถแยกเซลล์ที่ทับซ้อนกันได้ แต่มีความซับซ้อนการคำนวณทางคณิตศาสตร์ในระดับสูง จึงมีการศึกษางานวิจัยเพิ่มเติมในทางเทคนิคการวิเคราะห์ภาพโดยใช้วิธีการทางการปรับแต่งสีภาพ เพื่อพิจารณารูปร่าง ขนาด และพื้นผิว พบงานวิจัย Automated classification of PAP smear images to detect cervical dysplasia ใช้หลักการแยกนิวเคลียส คำนวณหาพื้นที่นิวเคลียสเพื่อระบุเซลล์ที่มีความผิดปกติ โดยการใช้ K-means clustering และปรับภาพให้ง่ายต่อการแยกแต่ละส่วน งานวิจัยนี้มีความถูกต้องถึง 99% ซึ่งมีความถูกต้องสูงมาก แต่งานวิจัยเหล่านี้ใช้ภาพเซลล์เดี่ยวเพื่อการแยกเซลล์ผิดปกติ ภาพสไลด์ PAP smear เซลล์จำนวนมาก

ดังนั้น ผู้วิจัยจำได้แนวทางการศึกษาวิจัยดังนี้คือ การกำหนดความต้องการจากภาพที่นำมาวิเคราะห์ประกอบไปด้วยขนาดนิวเคลียส และไซโตพลาซึม ซึ่งต้องอาศัยการแยกส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ พบว่าวิธีการตัดแยกที่ใช้การคำนวณในระดับที่สามารถเข้าถึงได้ และเพื่อทำให้งานวิจัยสมบูรณ์คือส่วนการใช้ K-means clustering ส่วนรายละเอียดขั้นตอนการวิจัยเกิดจากการวิเคราะห์เรียบเรียงขั้นตอนขึ้นใหม่เพื่อให้ได้ผลลัพธ์และวิธีการที่แตกต่างเพื่อพัฒนาต่อไป

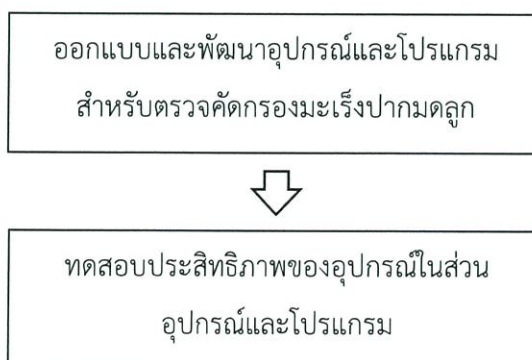
บทที่ 3

ระเบียบวิจัย

อุปกรณ์ถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพสำหรับวิเคราะห์ภาพสไลด์ Pap smear เป็นอุปกรณ์ในการช่วยตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกโดยการถ่ายภาพเซลล์จากปากมดลูกและทำการวิเคราะห์ประมวลผลภาพ เพื่อวิเคราะห์ลักษณะและรูปร่างของเซลล์ ก่อนแสดงผลการตรวจวินิจฉัยสำหรับคัดกรองมะเร็งปากมดลูก

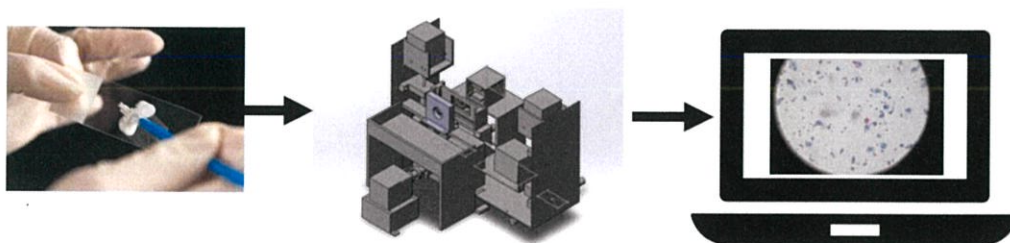
งานวิจัยแบ่งเป็น 4 ส่วน ได้แก่

1. ออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์ถ่ายภาพและวิเคราะห์ภาพประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ
 - 1.1 การเรียงแสง โดยใช้ทัศนูปกรณ์ เพื่อให้เกิดภาพในสายตาของกล้องจุลทรรศน์
 - 1.2 Motorized stage ช่วยในการขยับสไลด์ Pap smear เพื่อการวิเคราะห์เซลล์จากปากมดลูกทั่วสไลด์และหาตำแหน่งที่ได้ภาพที่ชัดที่สุด
2. การทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ถ่ายภาพ
3. การออกแบบและพัฒนาโปรแกรมสำหรับวิเคราะห์และประมวลผลภาพสำหรับวิเคราะห์เซลล์จากมะเร็งปากมดลูก
4. การทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมสำหรับวิเคราะห์และประมวลผลภาพสำหรับวิเคราะห์ลักษณะเซลล์จากปากมดลูก



รูปที่ 3.1 แผนดำเนินการวิจัย

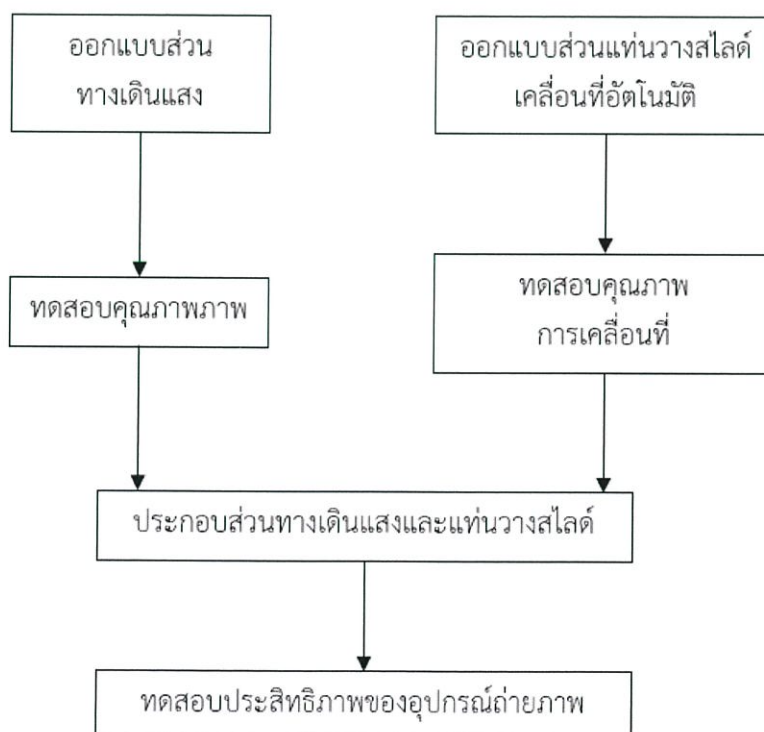
หลักการทำงานของอุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสง



รูปที่ 3.2 ภาพรวมในการทำงานของอุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสง

3.1. การออกแบบอุปกรณ์ถ่ายภาพ

3.1.1. การออกแบบตัวอุปกรณ์ถ่ายภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ ประกอบไปด้วย การออกแบบทางเดินแสงและการออกแบบแท่นยึดที่สามารถเคลื่อนที่อัตโนมัติในแนวแกนนอน แนวแกนตั้งและแนวแกนความลึก

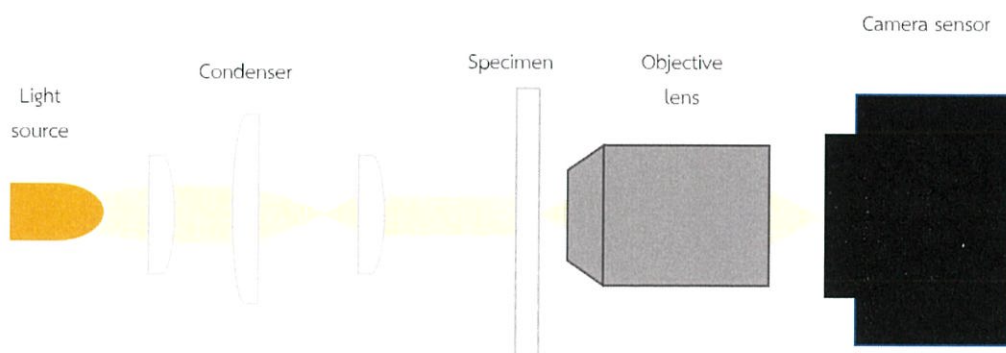


รูปที่ 3.3 ภาพรวมในการการออกแบบตัวอุปกรณ์ถ่ายภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ

ออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์ส่วนทางเดินแสง

หลักการของทางเดินแสงผ่านทัศนอุปกรณ์เพื่อให้เกิดภาพจากสไลด์ Pap smear ใช้หลักการคล้ายกับกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง(Light Microscope) ประกอบไปด้วย 3 ระบบ คือ

1. ระบบส่องสว่าง (Illuminating system) จะประกอบไปด้วย แหล่งกำเนิดแสง และคอนเดนเซอร์
2. ระบบเลนส์ (Imaging system) ประกอบไปด้วยเลนส์ชนิดต่าง ๆ มาประกอบกันเพื่อให้เกิดภาพขยายของสไลด์ตัวอย่าง
3. ระบบถ่ายภาพ(Image recording system)



รูปที่ 3.4 แผนภาพทางเดินแสงผ่านทัศนอุปกรณ์

จากรูปที่ 3.4 แผนภาพทางเดินของแสง ประกอบไปด้วย

แหล่งกำเนิดแสง เป็นส่วนที่เป็นแหล่งกำเนิดแสงสว่างให้กับอุปกรณ์
คอนเดนเซอร์ ทำให้แสงที่บานออกจากแหล่งกำเนิดแสงกลายเป็นแสงขนานและเพิ่มความเข้มของแสงก่อนเข้าสู่ตัวอย่าง
สไลด์ตัวอย่าง เซลล์ตัวอย่างจากปากมดลูก
เลนส์ใกล้วัตถุ ทำหน้าที่ขยายภาพ จากสไลด์ตัวอย่าง
เซนเซอร์รับภาพ รับภาพที่ผ่านการขยายจากเลนส์ใกล้วัตถุและถ่ายออกมาเป็นรูปภาพ
การออกแบบทางเดินแสงเพื่อให้เกิดภาพบนเซนเซอร์รับภาพ ต้องคำนึงถึงความคมชัดและคุณภาพของภาพ ปัจจัยที่มีผลต่อความคมชัดและคุณภาพของภาพ คือ

1. ความเข้มแสงที่ตกกระทบบนตัวอย่าง
2. ความสามารถของเลนส์ใกล้วัตถุในการแยกจุดสองจุด ซึ่งอยู่ใกล้กันที่สุดให้เห็นแยกออกเป็นสองจุด

3. ขนาดตัวอย่างบนสไลด์ที่ถูกขยายเพียงพอต่อการถ่ายภาพ และการวิเคราะห์ภาพ
4. ความละเอียดในการรับภาพของเซนเซอร์รับภาพ
5. ระยะของสไลด์ตัวอย่างกับเลนส์ใกล้วัตถุ

ส่วนที่ 1 ระบบส่องสว่าง เกี่ยวข้องกับความเข้มแสงที่ตกกระทบบนตัวอย่าง

แหล่งกำเนิดที่มีการใช้ในปัจจุบันมีอยู่ 2 ชนิดได้แก่ หลอดฮาโลเจนและหลอดไฟแอลอีดี (Light Emitting Diode ,LED) ซึ่งทั้ง 2 ชนิดมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ในด้านความร้อนที่เกิด การให้แสงในการยวคลื่นต่าง ๆ ที่ตาสามารถมองเห็น ความปลอดภัยและผลที่มีต่อดวงตา

ผู้วิจัยได้เลือกใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็นหลอดไฟแอลอีดีสีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร ซึ่งมีคุณสมบัติ ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร

พารามิเตอร์	สัญลักษณ์	คอนดิชัน	ค่าต่ำสุด	ค่ากลาง	ค่าสูงสุด	หน่วย
แรงดันตกคร่อม	VF	IF=20mA	-	3.5	4.0	-
กระแสไหลย้อนกลับ	IR	VR=5V	-	-	50	-
การส่องสว่าง	IV	IF=20mA	2850	-	7150	-
องศาของแสง	2θ _{1/2}	IF=20mA	-	25°	-	-

ตารางที่ 3.2 แสดงความเข้มแสงตามแนวแกนต่าง ๆ ของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร โดยใช้กระแส 20 มิลลิแอมแปร์

ค่าความเข้มแสง	แสงตามแนวแกน	แสงตามแนวแกน Z
ค่าความเข้มแสงน้อยสุด	2850 mcd	4500 mcd
ค่าความเข้มแสงมากที่สุด	4500 mcd	7150 mcd

*มีค่าความไม่แน่นอน 15 เปอร์เซ็นต์

ความเข้มแสงสามารถปรับได้โดยตัวต้านทานปรับค่า โดยคำนวณปริมาณค่าความต้านทานที่ใช้จากความต้องการกระแสตกคร่อม (IF) และความต่างศักย์ไฟฟ้าตกคร่อม (VF) ของ LED จากสมการ

$$R = \frac{(V_{cc} - V_F)}{I_F}$$

สมการ 3.1

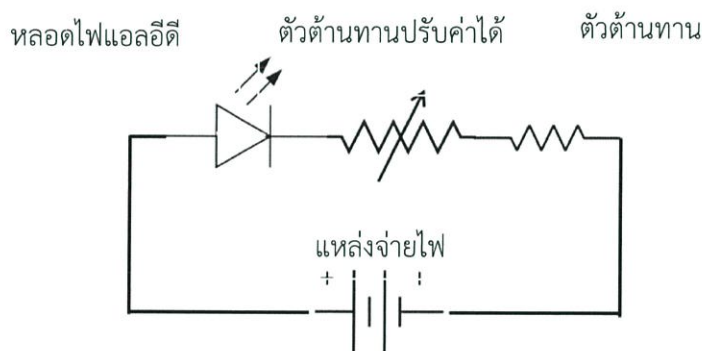
โดย V_{cc} คือ ความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้่าที่จ่ายให้กับวงจร

ความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้่าที่จ่ายให้กับวงจร มีขนาดเท่ากับ 9 โวลต์

ต้องการกระแสตรงคร่อม (IF) ของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร เท่ากับ 20 มิลลิแอมแปร์

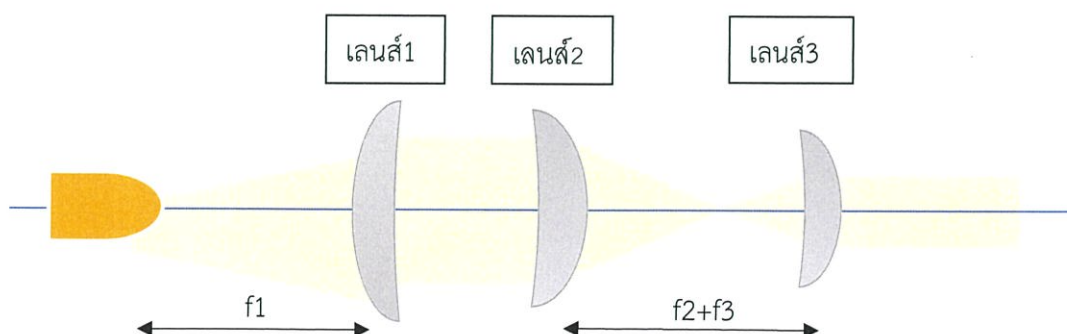
ต้องการแรงดันไฟฟ้าตกคร่อม (VF) ของ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร 3.5 โวลต์

จากสมการ ที่ 3.1 เราจะได้ค่าความต้านทานที่เหมาะสมกับ LED สีขาวขนาด 3 มิลลิเมตร คือ ความต้านทานขนาด 220 โอห์มและใช้ตัวต้านทานปรับค่าได้ในช่วง 1000 โอห์ม



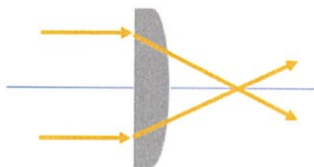
รูปที่ 3.5 แสดงวงจรไฟฟ้าของแหล่งกำเนิดแสง

ส่วนที่เพิ่มความเข้มแสงตามทฤษฎี Koehler Illumination ให้กับแหล่งกำเนิดแสง ได้แก่ ส่วนของคอนเดนเซอร์



รูปที่ 3.6 แสดงแผนภาพทางเดินแสงในส่วนคอนเดนเซอร์

จากรูปที่ 3.6 เลนส์รวบรวมแสง เลนส์สนามและเลนส์คอนเดนเซอร์ เป็นเลนส์นูนแกมระนาบที่ทำให้เกิดการรวมแสงขนานที่จุดโฟกัสของเลนส์



รูปที่ 3.7 แสดงแผนภาพทางเดินแสงที่ผ่านเลนส์นูนแกมระนาบ

เลนส์ที่ 1 เรียกว่า เลนส์เก็บรวบรวมแสง หรือ คอลเล็กเตอร์เลนส์ ทำหน้าที่ ในการเก็บรวบรวมแสงจาก แหล่งกำเนิดแสงและทำให้แสงที่บานออกจากแหล่งกำเนิดแสงกลายเป็นแสงขนาน

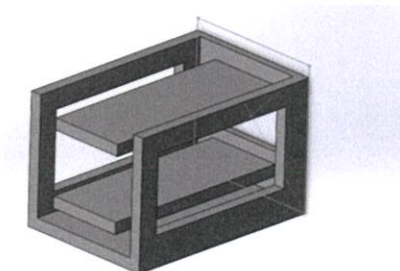
เลนส์ที่ 2 เรียกว่า เลนส์สนาม ทำให้แสงที่แสงขนาน รวมกันที่จุดโฟกัสของเลนส์ที่ 2

เลนส์ที่ 3 เรียกว่า คอนเดนเซอร์เลนส์ ทำให้แสงที่ออกมาจากจุดโฟกัสของเลนส์ที่ 2 กลายเป็นแสงขนานก่อนเข้าสู่ตัวอย่าง โดยเลนส์ที่ 3 มีขอบเขตการมองเห็นที่น้อยกว่า เลนส์ที่ 1 และ 2 เพื่อให้มีความเข้มแสงที่กระทบบนสไลด์ตัวอย่างมากขึ้น

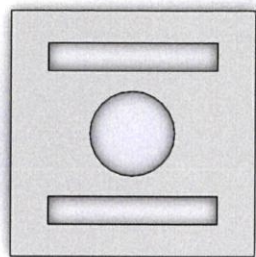
เลนส์ที่ 1 2 และ 3 ผู้วิจัยได้เลือกใช้เลนส์พอลิเมอร์ ซึ่งมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

- ผลิตจาก Polyepoxide ที่ทำให้ขึ้นรูปผ่านแรงดึงผิวและแรงโน้มถ่วง
- ข้อดีคือมีลักษณะโปร่งใส ค่าดัชนีหักเหสูง ซึ่งส่งผลทำให้มีความสามารถในการเก็บรวบรวมแสงมากขึ้น

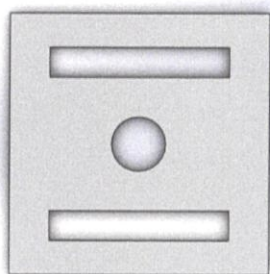
การออกแบบส่วนของระบบส่องสว่าง จะมีการออกแบบส่วนที่ยึดเลนส์พอลิเมอร์ โดยใช้โปรแกรม Solid work ในการออกแบบต้องคำนึงว่า ในการเรียงทศนุปรณ์ต้องตรงกัน มีช่องสำหรับแสงเข้าและออก และมีการขยับเพื่อหาตำแหน่งในการวางเลนส์ที่ถูกต้อง



รูปที่ 3.8 แสดงรางที่ออกแบบสำหรับเรียงทศนุปรณ์

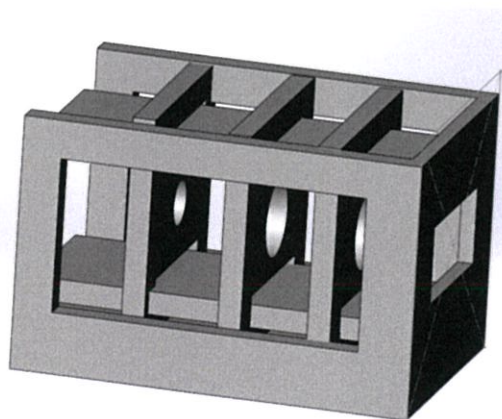


รูปที่ 3.9 แสดงอุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 1 และ 2 สำหรับเรียงทัศนูปกรณ์



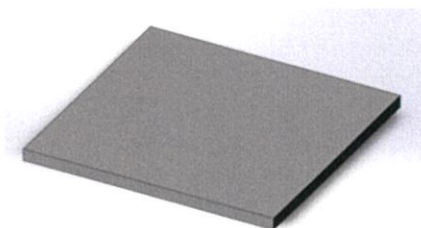
รูปที่ 3.10 แสดงอุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 3 สำหรับเรียงทัศนูปกรณ์

อุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 3 จะมีขนาดรูเล็กกว่า อุปกรณ์ติดเลนส์ที่ 1 และ 2 เพื่อป้องกันไม่ให้แสงจากเลนส์ ที่ 2 เข้าสู่สไลด์ตัวอย่าง

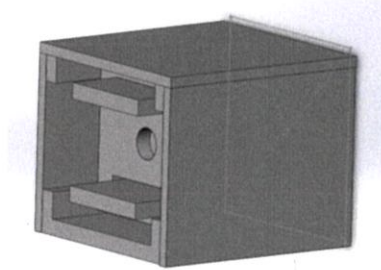


รูปที่ 3.11 แสดงรางสำหรับเรียงทัศนูปกรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์

หลังจากเรียงทศนูปรณ์เสร็จ ได้ทำการออกแบบอุปกรณ์ส่วนประกบราง ทางด้านบนและด้านข้าง เพื่อป้องกันไม่ให้แสงกระจายออกมาในช่วงระหว่างทศนูปรณ์แล้วส่งผลให้แสงเกิดกระทบต่อส่วนอื่น ๆ ของอุปกรณ์



รูปที่ 3.12 แสดงอุปกรณ์สำหรับประกบข้างบนและด้านข้างของรางเรียงทศนูปรณ์



รูปที่ 3.13 แสดงรางเรียงทศนูปรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์พร้อมส่วนประกบด้านบนและด้านข้าง

ทำการพิมพ์ชิ้นงานด้วย เครื่องพิมพ์ 3 มิติ (Flashforge Dreamer) พิมพ์โดยโปรแกรม FlashPrint โดยใช้เส้นพลาสติก (Filament) PLA สีดำ ขนาด 1.75 มิลลิเมตร



รูปที่ 3.14 เครื่องพิมพ์ 3 มิติ (Flash forge Dreamer)

ส่วนที่ 2 ระบบเลนส์ ใช้เลนส์ใกล้วัตถุในการขยายภาพ มีส่วนที่ต้องคำนึง คือ ความละเอียดหรือความสามารถของเลนส์ใกล้วัตถุในการแยกจุดสองจุด ซึ่งอยู่ใกล้กันที่สุดให้เห็นแยกออกเป็นสองจุด และขนาดตัวอย่างบนสไลด์ที่ถูกขยายเพียงพอต่อการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ภาพ

ในส่วนนี้เลือกใช้เป็น เลนส์ใกล้วัตถุแบบที่มีการแก้ไขความคลาดเคลื่อนในลักษณะภาพโค้งงอ (Field curvature distortion) ที่มีกำลังขยาย 40 เท่า ความสามารถของเลนส์ที่ใกล้วัตถุในการเก็บรวบรวมแสงที่หักเหออกมาจากตัวอย่าง (Numerical aperture, NA) เท่ากับ 0.65 มีระยะโฟกัสหรือจุดที่เกิดภาพเท่ากับ 160 มิลลิเมตร ใช้ความหนาของกระจกปิดสไลด์เท่ากับ 0.17 มิลลิเมตร เลนส์ใกล้วัตถุมีขอบเขตการมองเห็นเท่ากับ 0.55 มิลลิเมตร



รูปที่ 3.15 เลนส์ใกล้วัตถุที่ใช้ในตัวอุปกรณ์

จากการใช้เลนส์ใกล้วัตถุดังกล่าว อุปกรณ์จะมีความละเอียดในการเก็บภาพจากสไลด์ตัวอย่าง โดยคำนวณจากสูตร

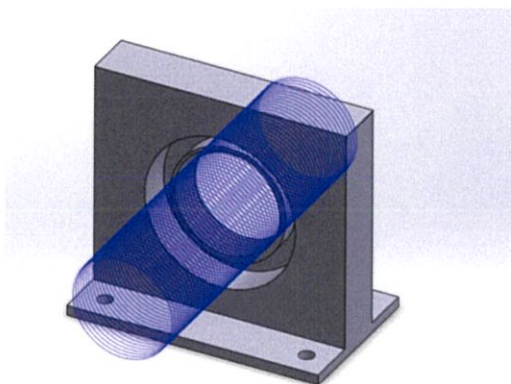
$$\text{Resolution} = \frac{0.6 \times \lambda}{\text{NA}} \quad \text{สมการที่ 3.2}$$

โดยที่ λ ใช้แสงสีเขียวเป็นมาตรฐาน เท่ากับ 0.55 ไมโครเมตร

NA ความสามารถของเลนส์ที่ใกล้วัตถุในการเก็บรวบรวมแสงที่หักเหออกมาจากตัวอย่าง

จากสมการที่ 3.2 เลนส์ใกล้วัตถุมีค่าความสามารถในการเก็บรวบรวมแสงเท่ากับ 0.65 อุปกรณ์จะมีความละเอียดในการเก็บภาพจากสไลด์เท่ากับ 0.5077 ไมโครเมตร

ในส่วนระบบเลนส์มีการออกแบบตัวยึดเลนส์ใกล้วัตถุ โดยใช้เกลียวมาช่วยยึดให้ไม่เกิดการขยับหรือหลุดจากตัวอุปกรณ์



รูปที่ 3.16 ออกแบบตัวยึดเลนส์ใกล้วัตถุที่ใช้ในตัวอุปกรณ์

ส่วนที่ 3 ระบบถ่ายภาพ (Image recording system) สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในส่วนนี้คือ ความละเอียดและขนาดในการรับภาพของเซนเซอร์รับภาพ ตัวอุปกรณ์ถ่ายภาพที่ผู้วิจัยเลือกใช้ คือ กล้อง digital single lens reflex (DHLR) เป็นกล้องสะท้อนภาพเลนส์เดี่ยวด้วยระบบดิจิทัลแคนอน รุ่น EOS 50D ภายในประกอบด้วยเซนเซอร์รับภาพ ที่มีคุณสมบัติดังนี้

ตารางที่ 3.3 แสดงคุณสมบัติของเซนเซอร์รับภาพ

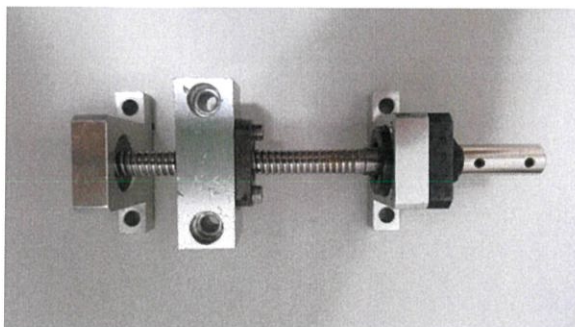
ประเภทเซนเซอร์	CMOS
ความละเอียดภาพสูงสุด	4752 x 3168 (15.1 เมกะพิกเซล)
ขนาดเซนเซอร์รับภาพ	22.3x14.9 มิลลิเมตร
อัตราส่วนขนาด	3:2
ความหนาแน่นของพิกเซล	4.5 เมกะพิกเซล/ตารางเซนติเมตร
ขนาดของพิกเซลแต่ละพิกเซล	4.99 ไมครอน
ระบบกรองสี	RGB
ประเภทไฟล์	JPEG, RAW (14-bit, Canon original), sRAW, RAW+JPEG



รูปที่ 3.17 กล้อง DHLR ที่ใช้เป็นส่วนถ่ายภาพของอุปกรณ์

การออกแบบและพัฒนา Motorized stage ช่วยในการขยับสไลด์ Pap smear เพื่อการวิเคราะห์เซลล์จากปากมดลูกทั่วสไลด์และหาตำแหน่งที่ได้ภาพที่ชัดที่สุด ผู้จัดทำได้มีการพัฒนาอุปกรณ์โดยมีอาร์ดูโน้และสเต็ปเปอร์มอเตอร์เป็นตัวควบคุมการเคลื่อนที่ผ่านบอลสกรูและไมโครมิเตอร์วัดภายในใช้โปรแกรม MATLAB ในการพัฒนาระบบการควบคุม

บอลสกรู เป็นระบบขับเคลื่อนแบบหนึ่งในระบบขับเคลื่อนประเภทเครื่องกล โดยมีส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน คือ เพลาเกลียว (Shaft) และ ตลับลูกปืน (Nut) ซึ่งมีเม็ดลูกปืนกลม เป็นตัวรับน้ำหนักและลดแรงเสียดทาน



รูปที่ 3.18 แสดงภาพของบอลสกรู

ไมโครมิเตอร์ หรือไมโครมิเตอร์สกรูเกลจ เป็นเครื่องมือวัดละเอียดชนิดหนึ่ง นิยมใช้ในการวัดความกว้างยาวหรือหนาของวัตถุที่มีขนาดเล็กและต้องการความละเอียดเช่นเดียวกับคาลิเปอร์ ไมโครมิเตอร์ การวัดขนาดโดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่บนระยะพิทของเกลียว มีได้หลายลักษณะตามแต่ความต้องการใช้วัดของผู้ใช้งาน โดยมากมักเป็นปากกา หนีบวัตถุ มีสกรูชั้นที่ปรับตั้งความกว้างไว้ดีแล้ว ในกรณีนี้ไมโครมิเตอร์ที่ใช้เป็นไมโครมิเตอร์วัดความลึก ใช้สำหรับการวัดความลึกของช่องเปิด



รูปที่ 3.19 แสดงภาพไมโครมิเตอร์

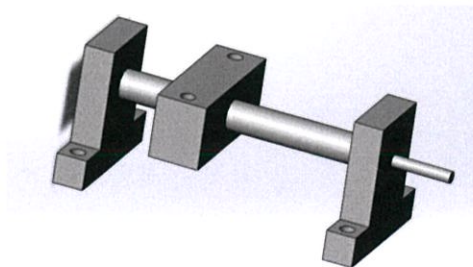
สเต็ปเปอร์มอเตอร์ เป็นอุปกรณ์ที่สามารถหมุนข้อแกนต่าง ๆ โดยอาศัยการทำงานของแม่เหล็กไฟฟ้า โดยมีการทำงานในการหมุนเป็นสเต็ปและมีแรงบิดสูง ทำให้มีการหมุนที่แม่นยำในการหมุน



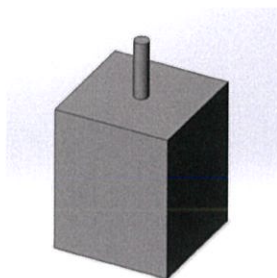
รูปที่ 3.20 แสดงภาพสเต็ปเปอร์มอเตอร์

Motorized stage จะประกอบไปด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนของการขยับในแนวนอน แนวตั้ง และความลึก

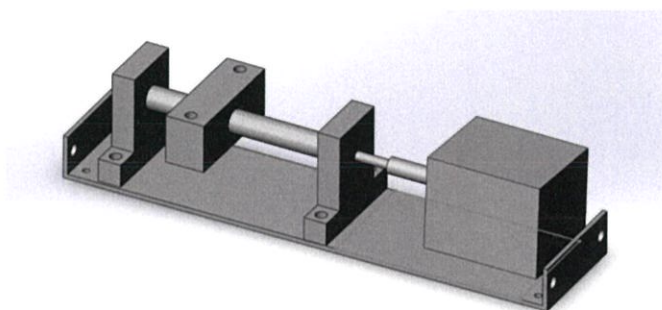
ส่วนที่ 1 ส่วนของการขยับในแนวนอน หรือ แกน X ใช้สเต็ปเปอร์มอเตอร์ควบคุมโดยอาร์ดูโน้ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ผ่านการหมุนบอลสกรู โดยการหมุน 360 องศา ทำให้แกนขยับ 2 มิลลิเมตร



รูปที่ 3.21 แสดงแบบจำลองบอลสกรูสำหรับออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work

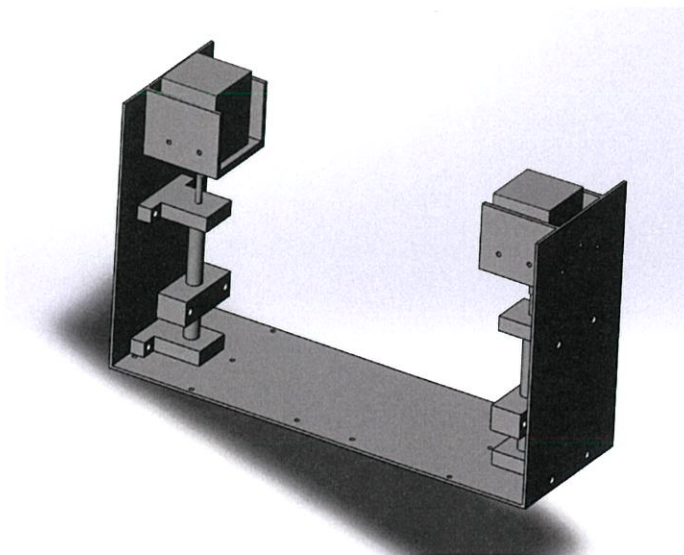


รูปที่ 3.22 แสดงแบบจำลองสตีปเปอร์สำหรับออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work



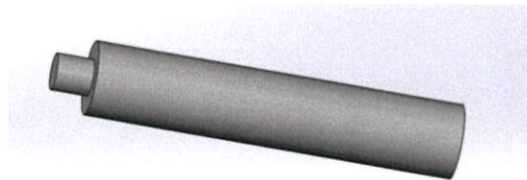
รูปที่ 3.23 แสดงส่วนของแกนขยับในแนวนอน

ส่วนที่ 2 ส่วนของการขยับในแนวตั้ง หรือ แกน Y ใช้สตีปเปอร์มอเตอร์ 2 ตัว ควบคุมโดย อาร์ดูโน่ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ผ่านการหมุนบอลสกรู 2 ตัว



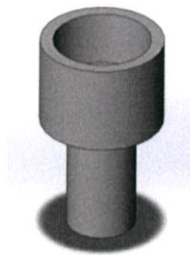
รูปที่ 3.24 แสดงส่วนของแกนขยับในแนวตั้ง

ส่วนที่ 3 การขยับตามความลึก หรือแนวแกน Z ใช้สแต็ปเปอร์มอเตอร์ ควบคุมโดยอาร์ดูโน้ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ผ่านการหมุนไมโครมิเตอร์ โดนการหมุน 360 องศา แกนขยับ 0.5 มิลลิเมตร แกนความลึกเป็นแกนที่ต้องการความละเอียดมาก เพราะระยะของสไลด์ตัวอย่างกับเลนส์ใกล้วัตถุจะมีผลกับความคมชัดของภาพ

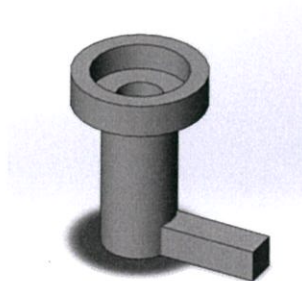


รูปที่ 3.25 แสดงแบบจำลองไมโครมิเตอร์สำหรับออกแบบผ่านโปรแกรม Solid work

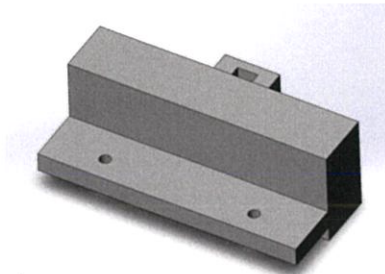
การต่อสแต็ปเปอร์มอเตอร์ เข้ากับไมโครมิเตอร์และอุปกรณ์ในแกนอื่น ต้องมีการออกแบบข้อต่อสำหรับเชื่อมอุปกรณ์เหล่านี้เข้าด้วยกัน



รูปที่ 3.26 แสดงส่วนเชื่อมระหว่างสแต็ปเปอร์มอเตอร์และไมโครมิเตอร์



รูปที่ 3.27 ส่วนเชื่อมระหว่างไมโครมิเตอร์และส่วนที่ใช้สำหรับติดตั้ง สำหรับการขยับตามแนวความลึก



รูปที่ 3.28 ส่วนที่ใช้สำหรับติดตั้งสำหรับการขยับตามแนวความลึก

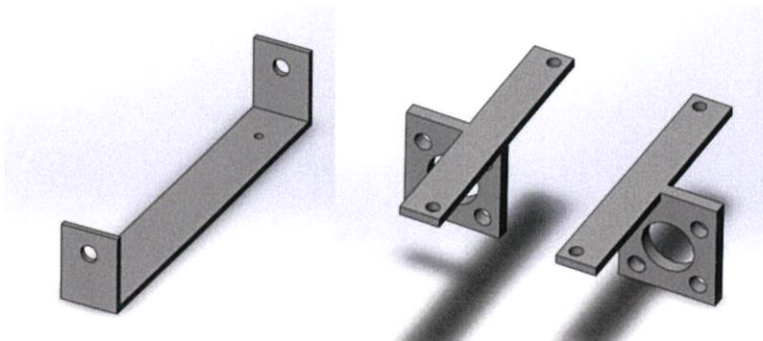
ในส่วนของแกนความลึกมีการนำลูกปืนสไลด์ และแท่งเหล็กมาช่วยให้การเคลื่อนที่นิ่งมากขึ้น และป้องกันความไม่สมดุลของอุปกรณ์



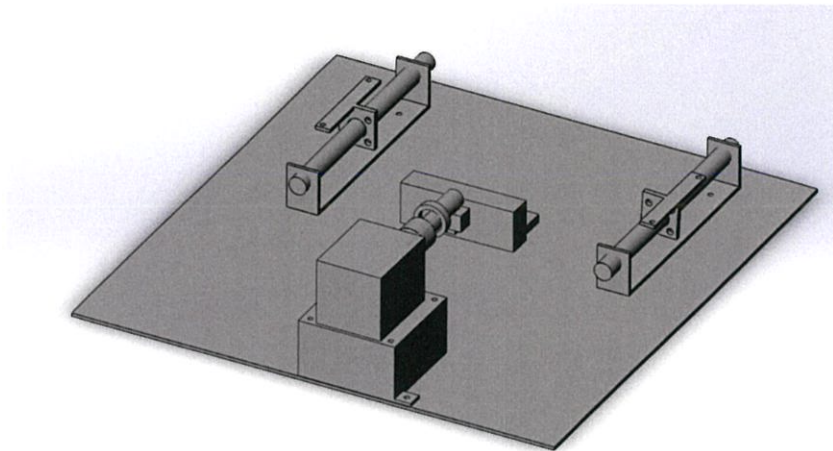
รูปที่ 3.29 ลูกปืนสไลด์และแท่งเหล็ก

ลูกปืนสไลด์บนเพลากลิ้ง คือ ตลับลูกปืนเชิงเส้นที่ใช้ร่วมกับแท่งเหล็กทรงกระบอก จะช่วยให้เกิดการเคลื่อนไหวเชิงเส้นที่มีแรงเสียดทานน้อยที่สุดเพื่อให้การเคลื่อนที่มีความเที่ยงตรงและนุ่มนวลมากเป็นพิเศษ

การออกแบบส่วนสำหรับยึดลูกปืนสไลด์และแท่งเหล็กจะออกแบบสำหรับยึดลูกปืนกับฐานด้านล่างของส่วนการขยับตามแนวความลึก

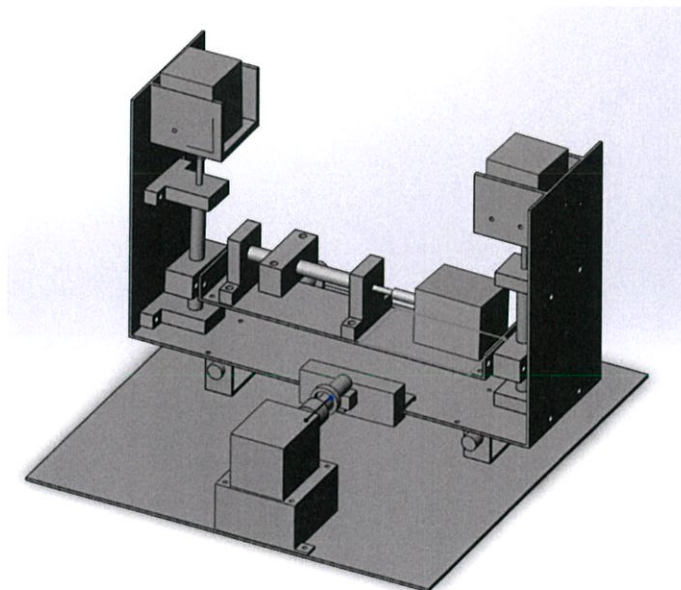


รูปที่ 3.30 ออกแบบส่วนสำหรับใส่แท่งเหล็กและที่ยึดลูกปืน



รูปที่ 3.31 ออกแบบส่วนสำหรับขยับตามแนวความลึก

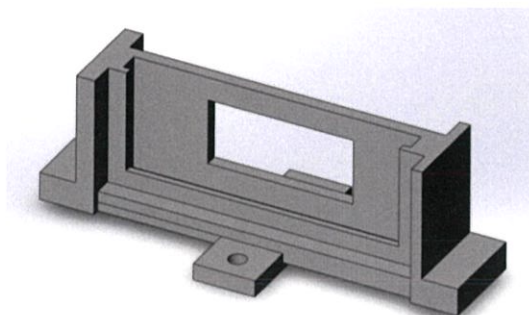
หลังจากออกแบบทั้ง 3 ส่วนเรียบร้อย นำแกนความเคลื่อนที่ทั้ง 3 ส่วนมารวมเข้าด้วยกัน



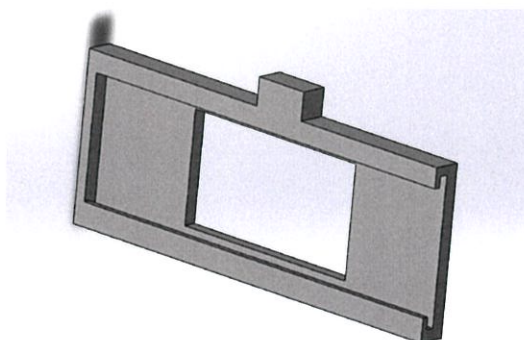
รูปที่ 3.32 ออกแบบส่วนสำหรับขยับตามแนวนอน แนวตั้งและตามความลึก

หลังจากออกแบบอุปกรณ์ชิ้นส่วนต่าง ๆ แล้วทำการพิมพ์ชิ้นงานด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ และประกอบอุปกรณ์เข้าด้วยกัน โดยใช้ข้อขนาด 3 และ 5 มิลลิเมตรเป็นตัวยึด และเพิ่มความแข็งแรงให้อุปกรณ์โดยการใช้ไม้อัดที่มีความหนา 4 มิลลิเมตรประกอบเข้าไปตามโครงของชิ้นงาน

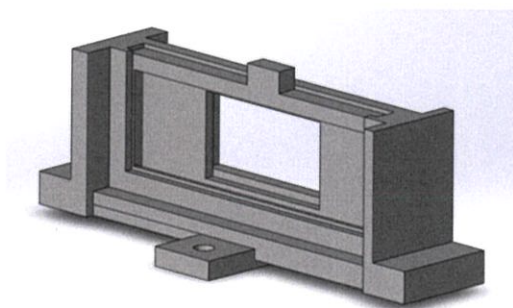
ออกแบบและพัฒนาประกอบส่วนทางเดินแสงและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติเข้าด้วยกัน การประกอบส่วนอุปกรณ์ทางเดินแสงและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ ต้องคำนึงถึงตำแหน่งของตัวอย่าง สไลด์กับทางเดินแสงเป็นหลัก การจัดวางแสงที่ศูนย์อุปกรณ์ต้องเรียงตรงกันรวมถึงสไลด์ตัวอย่างจึงมีการ ออกแบบที่วางสไลด์ที่มีความเหมาะสมกับตัวอุปกรณ์



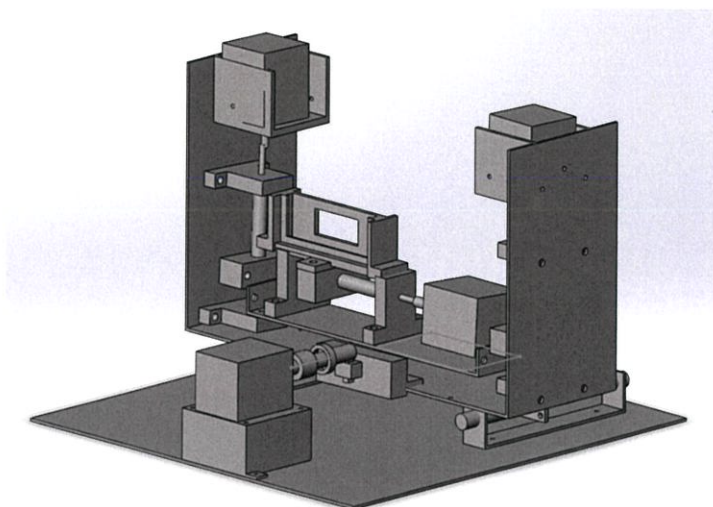
รูปที่ 3.33 แสดงภาพแท่นวางสไลด์ตัวอย่าง



รูปที่ 3.34 แสดงที่ใส่สไลด์ตัวอย่าง

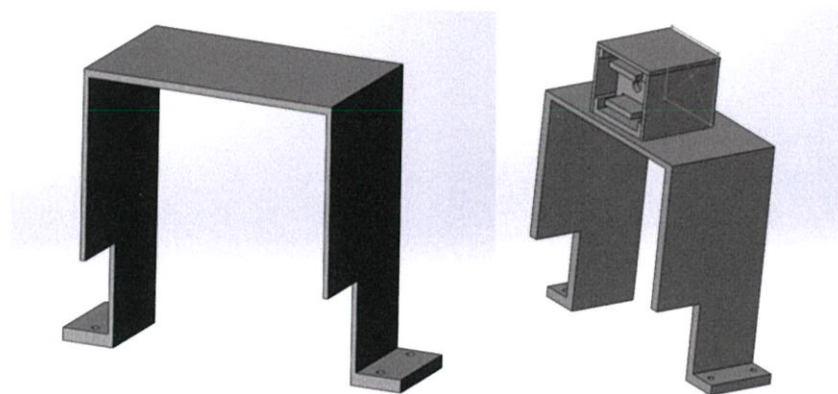


รูปที่ 3.35 แสดงภาพประกอบที่ใส่สไลด์และแท่นวางสไลด์ตัวอย่าง

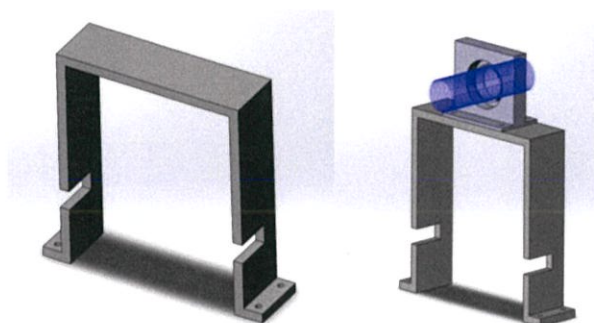


รูปที่ 3.36 แสดงภาพประกอบส่วนสำหรับขยับตามแนวนอน แนวตั้งและตามความลึก และแท่นวางสไลด์

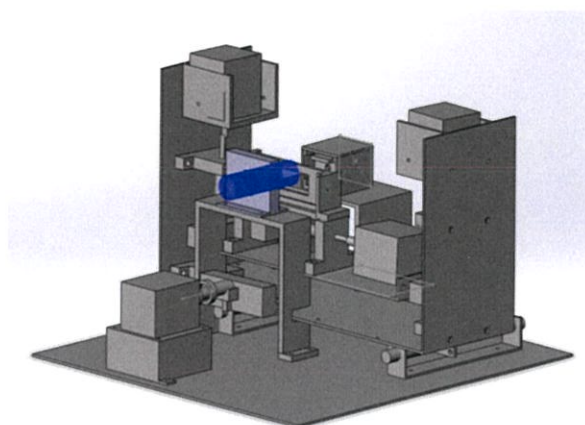
จากที่กล่าวข้างต้นการประกอบส่วนอุปกรณ์ทางเดินแสงและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ ต้องคำนึงถึงตำแหน่งของตัวอย่างสไลด์กับทางเดินแสงเป็นหลัก การจัดวางแสงทัศนอุปกรณ์ต้องเรียงตรงกัน ผู้จัดทำได้ออกแบบการโดยยึดแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติเป็นหลักแล้วปรับส่วนของทางเดินแสงให้เข้ากับแท่นยึด ออกแบบฐานวางอุปกรณ์ทางเดินแสงให้มีตำแหน่งที่เหมาะสม



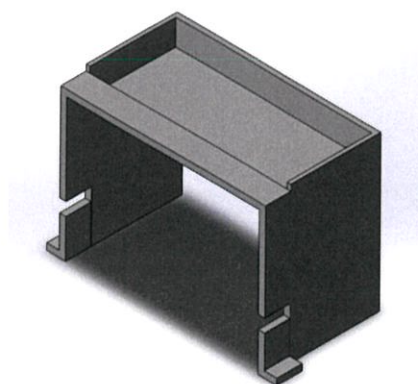
รูปที่ 3.37 แสดงส่วนที่วางของรางสำหรับเรียงทัศนอุปกรณ์ในส่วนคอนเดนเซอร์



รูปที่ 3.38 แสดงส่วนที่วางของที่ยึดเลนส์ใกล้วัตถุ



รูปที่ 3.39 แสดงส่วนทางเดินแสงและแท่นวางสไลด์เครื่องที่อัตโนมัติประกอบกัน ส่วนของกล้อง จะออกแบบอุปกรณ์สำหรับวางกล้องที่ติดอยู่กับส่วนที่ติดตั้งเลนส์ใกล้วัตถุ



รูปที่ 3.40 แสดงที่วางกล้อง

ภายนอกของเครื่องจะทำเป็นกล่องจากแผ่นอะคริลิก ประกอบเข้าไปเพื่อป้องกันแสงเข้าไป ภายในรวมทั้งความชื้นและฝุ่นจากภายนอก

3.1.2. ออกแบบและพัฒนาส่วนการควบคุมอุปกรณ์

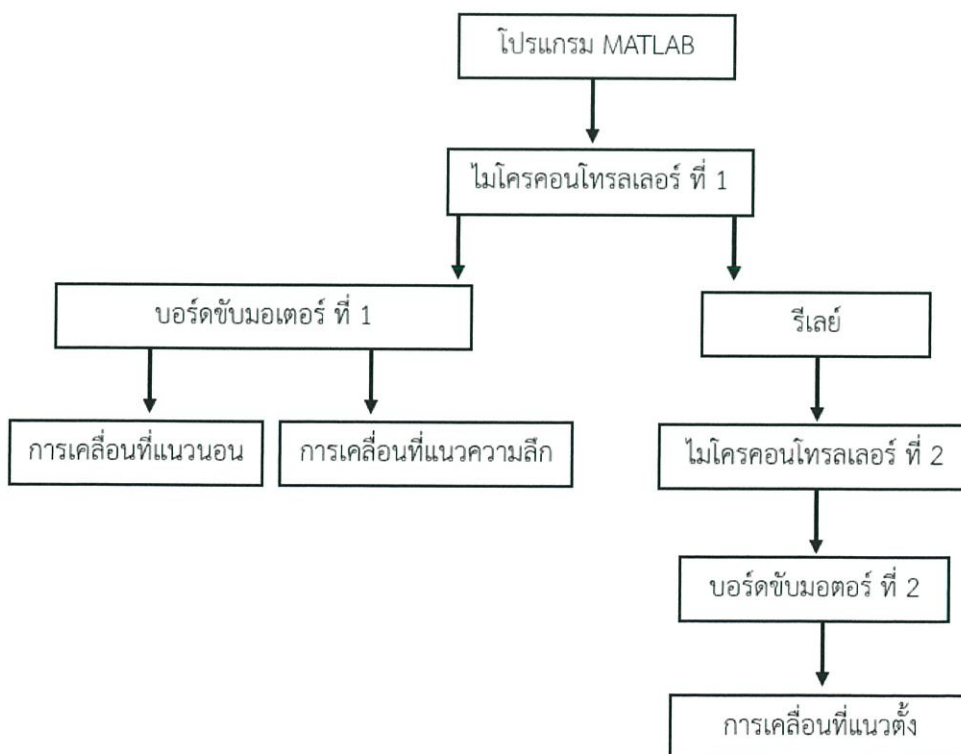
อุปกรณ์ที่ต้องมีการควบคุมผ่านคอมพิวเตอร์มี 2 ส่วนหลักๆ ได้แก่ ระบบถ่ายภาพ และการเคลื่อนอัตโนมัติของแท่นยึดผ่านสเต็ปเปอร์มอเตอร์ โปรแกรมที่ถูกนำมาใช้ในการพัฒนา ได้แก่ MATLAB เป็นโปรแกรมที่สามารถใช้ในการสั่งงานกล้องถ่ายภาพและไมโครคอนโทรลเลอร์ได้

ระบบถ่ายภาพ ใช้โปรแกรม MATLAB ควบคุมโปรแกรม digiCamControl เป็นโปรแกรมที่ช่วยควบคุมการถ่ายภาพและถ่ายโอนภาพจากกล้องไปยังคอมพิวเตอร์ อีกทั้งสามารถควบคุมพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการถ่ายภาพผ่านโปรแกรมได้ เชื่อมต่อผ่านสาย USB



รูปที่ 3.41 แสดงแผนผังการสั่งงานของกล้อง

การเคลื่อนอัตโนมัติของแท่นยึดผ่านสเต็ปเปอร์มอเตอร์ ควบคุมโดยโปรแกรม MATLAB สั่งงานผ่านไมโครคอนโทรลเลอร์ บอร์ดขับมอเตอร์และรีเลย์



รูปที่ 3.42 แผนผังการควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ที่ควบคุมแต่ละแกนเคลื่อนที่

จากรูป 3.42 มีรายละเอียดของอุปกรณ์ต่าง ๆ ดังนี้

ไมโครคอนโทรลเลอร์ 1 และ 2 ใช้เป็นบอร์ดอาร์ดูโน้

บอร์ดขับมอเตอร์ ที่ 1 และ 2

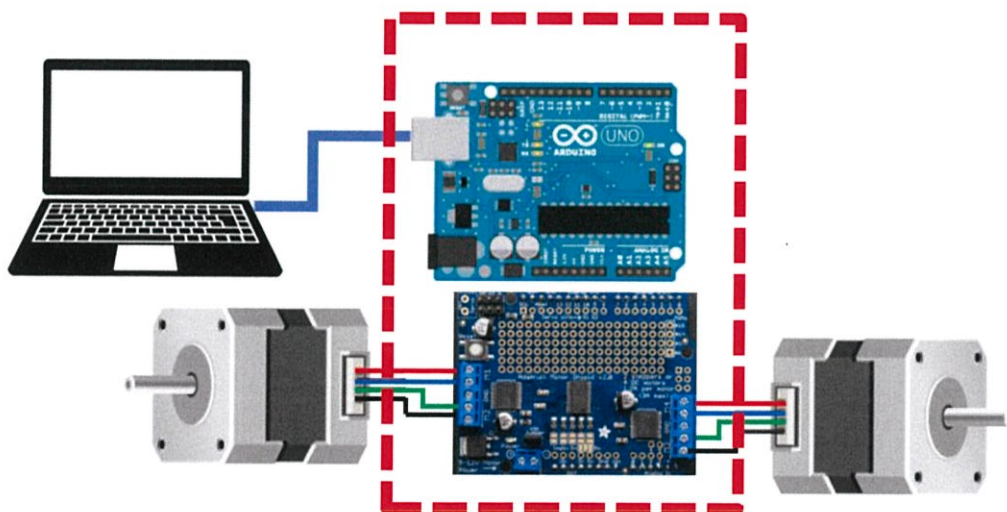
รีเลย์

การเคลื่อนที่แนวนอน ใช้เป็นสเต็ปเปอร์มอเตอร์ 1 ตัว

การเคลื่อนที่แนวความลึก ใช้เป็นสเต็ปเปอร์มอเตอร์ 1 ตัว

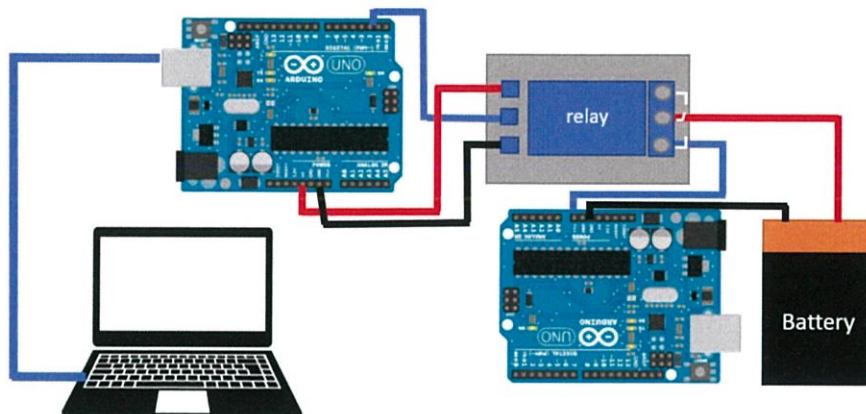
การเคลื่อนที่แนวตั้ง ใช้เป็นสเต็ปเปอร์มอเตอร์ 2 ตัว

การเขียนโปรแกรมในส่วนควบคุมการเคลื่อนที่แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เคลื่อนที่ในแนวนอนและความลึกและการเคลื่อนที่ในแนวตั้ง ในส่วนการเคลื่อนที่ในแนวนอนและความลึก จะควบคุมโดยการเขียนโปรแกรมสั่งงานอาร์ดูโน้ผ่านโปรแกรม MATLAB



รูปที่ 3.43 แสดงวงจรควบคุมสเต็ปเปอร์มอเตอร์ที่ควบคุมการเคลื่อนที่ในแกนนอนและแนวลึก

ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของแท่นยึดในแนวตั้ง ใช้เป็น Arduino ตัวที่ 2 ผ่านการควบคุมการทำงานโดย รีเลย์ ผ่านการจ่ายไฟ ซึ่งรีเลย์จะถูกควบคุมโดยอาร์ดูโน้ตัวที่ 1 ผ่าน pin ที่ 2 การควบคุมรีเลย์ของอาร์ดูโน้ผ่าน โปรแกรม MATLAB นั้นใช้คำสั่งในการส่งสัญญาณดิจิทัลในกับรีเลย์ผ่าน pin บนบอร์ดอาร์ดูโน้



รูปที่ 3.44 แสดงวงจรควบคุมการจ่ายไฟให้กับบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ตัวที่ 2 จากบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ตัวที่ 1 และรีเลย์

บอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ตัวที่ 2 จะทำงานด้วยตัวเองเมื่อถูกจ่ายไฟให้ ซึ่งบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ตัวที่ 1 จะมีชุดคำสั่งภายในตัวเรียบร้อยแล้วผ่านโปรแกรมบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ โดยเมื่อถูกจ่ายไฟสแต็ปเปอร์มอเตอร์ที่ควบคุมการเคลื่อนที่ในแนวตั้งจะทำงานโดยการหมุน มีมอเตอร์ไดรเป็นตัวยึดกำลังในการหมุน

```

Y_axis | Arduino 1.8.4
File Edit Sketch Tools Help
Y_axis

//
// Trigger Motor (stepper) one revolution
//
// This program drives a stepper motor in the positive direction.
// The motor is attached to digital pins 8 - 11 of the Arduino.
// The motor should rotate one revolution in the direction that
// one revolution in the other direction.

// Motor: 12V 0.2A 200P
// Model: NEMA 17 2000
// by Tom Igoe

//
#include <stepper.h>

const int stepsPerRevolution=360; // change this to fit the number of steps per revolution
// for your motor

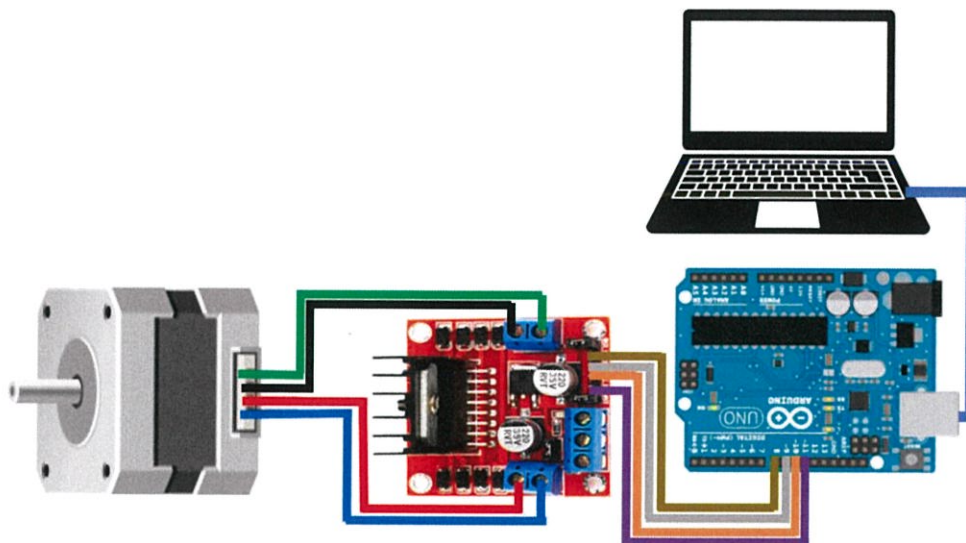
// initialize the stepper library on pins 8 through 11:
Stepper myStepper(stepsPerRevolution, 8, 9, 10, 11);

void setup() {
  // set the speed at 60 rpm:
  myStepper.setSpeed(10);
  // initialize the serial port:
  Serial.begin(9600);
}

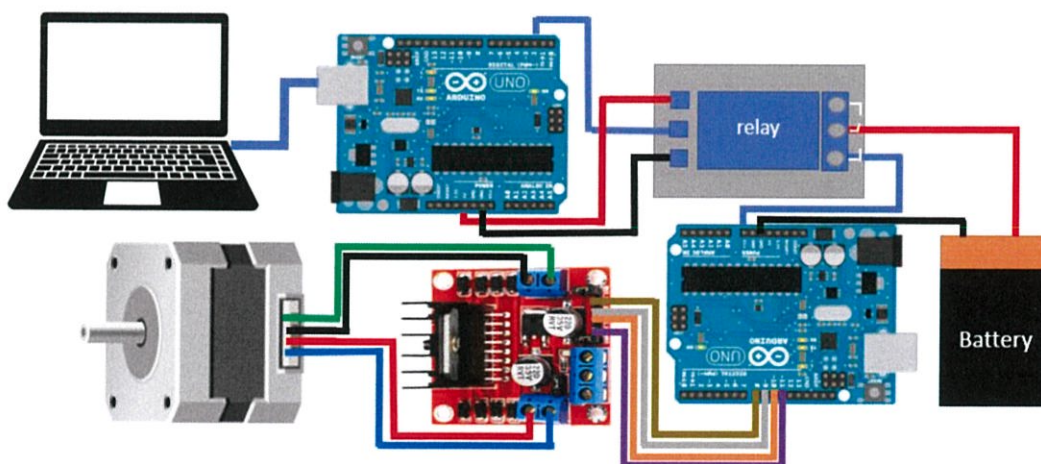
void loop() {
  // step one revolution in one direction:
  Serial.println("Clockwise");
}

```

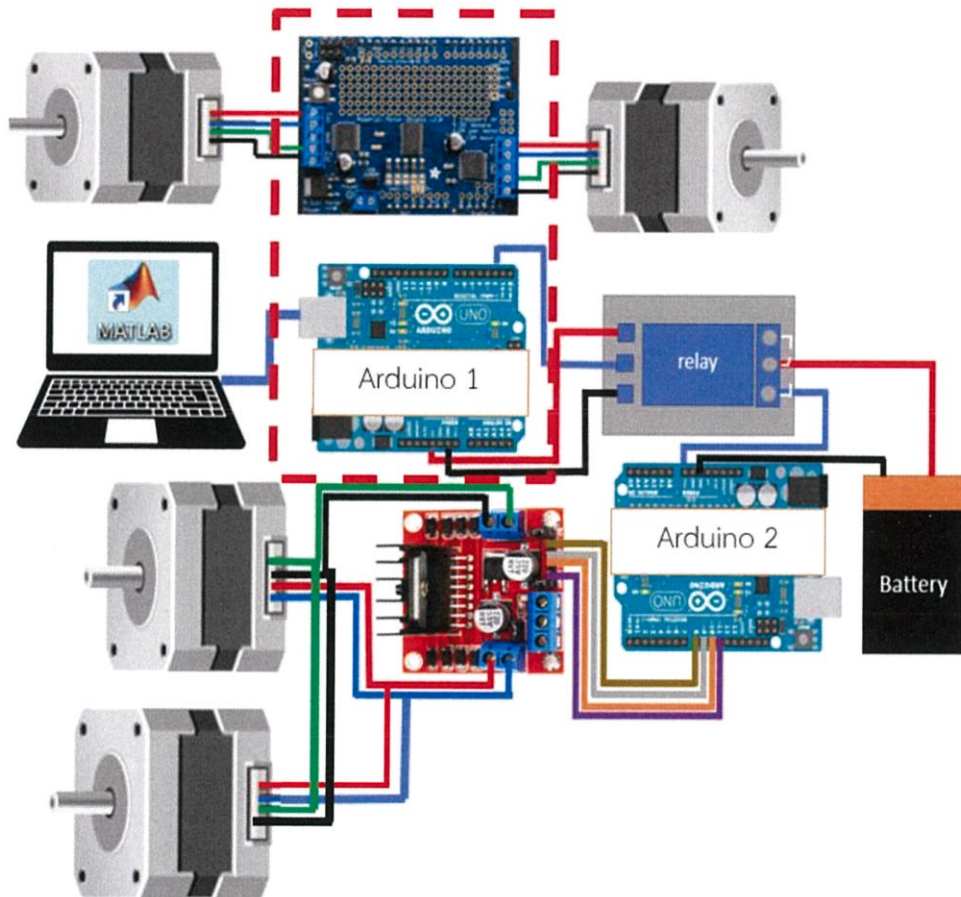
รูปที่ 3.45 แสดงหน้าจอการทำงานของโปรแกรมบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์



รูปที่ 3.46 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ในแกนตั้งผ่าน
คอมพิวเตอร์

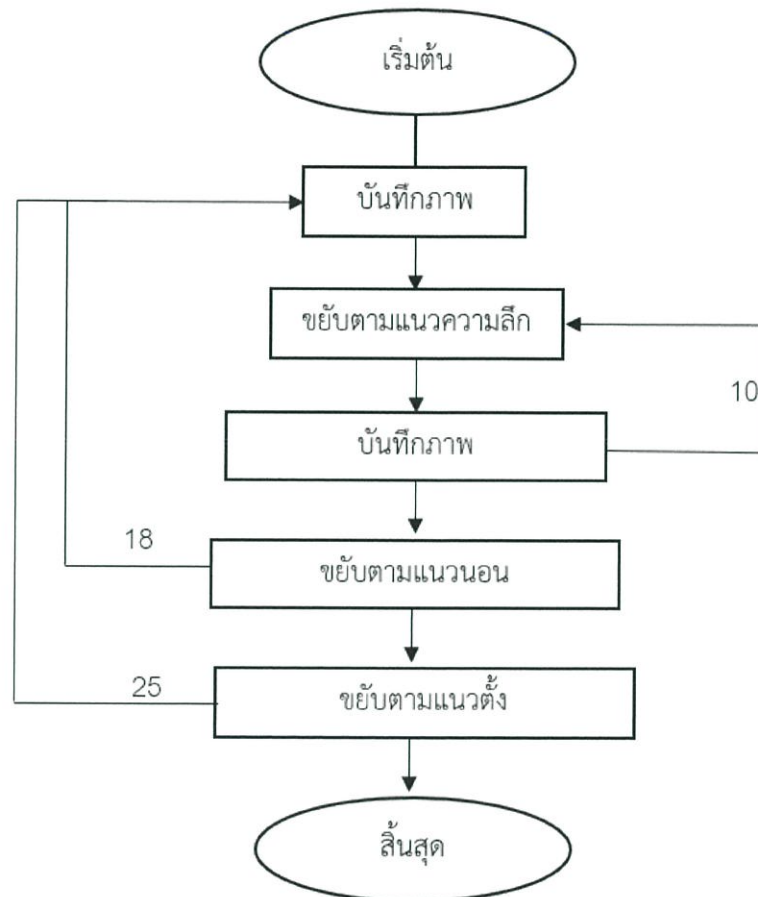


รูปที่ 3.47 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ในแกนตั้งผ่านรีเลย์และ
อาร์ดูโนตัวที่ 1



รูปที่ 3.48 แสดงวงจรควบคุมการทำงานของสเต็ปเปอร์ควบคุมการเคลื่อนที่ในแกนตั้ง แกนนอนและ แกนความลึกอาร์ดูโน้ตตัวที่ 1 และอาร์ดูโน้ตตัวที่ 2

การเขียนโปรแกรมควบคุมการทำงานการเคลื่อนที่ในแต่ละแกน



รูปที่ 3.49 แผนผังการสั่งงานของอุปกรณ์

3.1.3. การตั้งค่าเครื่อง

การคำนวณระยะในการขยับของแท่นยึด

ระยะที่ขยับในแนวความลึก ขยับครั้งละ 0.0139 มิลลิเมตร ผ่านการหมุนสเต็ปเปอร์มอเตอร์ และไมโครมิเตอร์ ครั้งละ 10 องศา เพื่อหาตำแหน่งที่ทำให้ภาพชัดเจนที่สุด ส่วนระยะขยับในแนวตั้ง และแนวนอนต้องยึดตามขนาดของขอบเขตการมองเห็นและขนาดของเซนเซอร์รับภาพ โดยเลนส์ใกล้วัตถุขอบเขตการมองเห็นของภาพเท่ากับ 0.55 มิลลิเมตร เซนเซอร์รับภาพมีขนาด 22.3×14.9 มิลลิเมตร ดังนั้นแนวนอนขยับครั้งละ 0.55 มิลลิเมตร สเต็ปเปอร์มอเตอร์หมุน 99 องศา แนวนอนขยับครั้งละ 0.39 มิลลิเมตร สเต็ปเปอร์มอเตอร์หมุน 70 องศา

การทดลองหาช่วงระยะที่ทำให้เกิดภาพบนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ

ในการส่องดูเซลล์ต่าง ๆ ผ่านกล้องจุลทรรศน์ สิ่งที่สำคัญคือการปรับแท่นยึดสไลด์โดยป้อนปรับภาพหยาบและป้อนปรับภาพละเอียด เพื่อหาตำแหน่งที่ทำให้เกิดภาพชัดเจนนั่นก็คือการหาระยะที่ทำให้เกิดภาพบนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ ตัวอุปกรณ์ชิ้นนี้ก็เช่นกัน การหาช่วงระยะดังกล่าวได้ทำให้เราหาตำแหน่งที่ทำให้เกิดภาพที่มีความชัดได้ง่ายขึ้น ทดลองโดยการเขียนโปรแกรมให้สแต็ปเปอร์มอเตอร์หมุนไมโครมิเตอร์หมุนในองศาต่าง ๆ แล้วหาตำแหน่งที่เกิดภาพชัด แล้วค่อยๆ ลดระยะให้แคบลง

ตารางที่ 3.4 แสดงผลการหาระยะที่ทำให้เกิดภาพบนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ

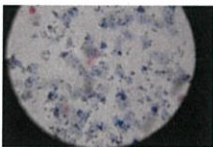
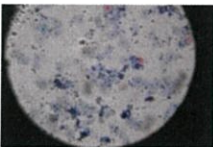
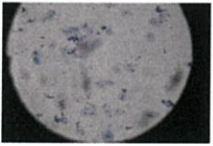
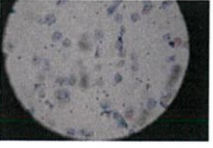
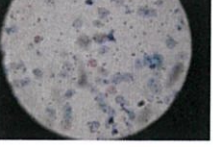
องศาเริ่มต้น	องศาสิ้นสุด	จำนวนองศาที่ สแต็ปเปอร์ มอเตอร์หมุน ต่อครั้ง	ลำดับภาพที่ชัดที่สุด		
			สไลด์ที่ 1	สไลด์ที่ 2	สไลด์ที่ 3
0	600	30	13	13	14
ระยะ (มิลลิเมตร)			0.541	0.541	0.583
300	600	20	6	5	9
ระยะ (มิลลิเมตร)			0.583	0.556	0.667
360	480	15	2	2	2
ระยะ (มิลลิเมตร)			0.542	0.542	0.542
360	480	10	9	9	7
ระยะ (มิลลิเมตร)			0.611	0.611	0.583
360	480	5	23	19	17
ระยะ (มิลลิเมตร)			0.660	0.632	0.618

จากการทดลองพบว่าระยะที่ทำให้พบภาพที่ชัดที่สุด หรือเป็นระยะที่ทำให้เกิดภาพบนระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ ได้แก่ ช่วง 360 ถึง 480 องศาของการหมุนสแต็ปเปอร์มอเตอร์ เป็นระยะ 0.167 มิลลิเมตร

การทดสอบความละเอียดของระยะในการขยับการหาระยะที่ทำให้เกิดภาพที่ระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุมีผลต่อความคมชัดของภาพที่ได้

ระยะที่ขยับต่อครั้งในระยะการหาระยะที่ทำให้เกิดภาพที่ระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุ มีผลต่อจำนวนภาพที่ได้จากการถ่ายภาพซึ่งจะมีผลต่อพื้นที่ในการเก็บข้อมูล การหาระยะที่เหมาะสมในการเคลื่อนที่แต่ละครั้งสามารถทำให้ประหยัดพื้นที่ในการเก็บข้อมูลของภาพได้ ทดลองโดยการขยับในระยะต่าง ๆ ต่อครั้งเป็นครั้งละ 5 10 15 20 และ 30 องศาแล้วเปรียบเทียบความชัดของภาพที่เพื่อหาว่าระยะใดได้ภาพชัดที่สุด

ตารางที่ 3.5 ผลการถ่ายภาพและเปรียบเทียบความความกว้างของพลัสจากฟูเรียร์ของภาพที่ชัดที่สุดในการขยับในระยะต่าง ๆ ต่อครั้ง

ระยะที่ขยับต่อครั้ง	ภาพที่บันทึกได้	ความกว้างของพลัสจากฟูเรียร์ของภาพ
5		29.89
10		30.20
15		28.76
20		28.69
30		28.89

จากการทดลอง โดยดูจากกระจายตัวของข้อมูลค่าระดับสีเทาของภาพซึ่งก็คือความกว้างของพล็อตจากฟูเรียร์ของภาพ ถ้าเป็นภาพที่มีความชัดจะมีการกระจายตัวของข้อมูลสูงที่สุดคือความกว้างของพล็อตจากฟูเรียร์มีค่ามากที่สุด แต่เนื่องจากภาพในการเปลี่ยนแปลงครั้งละ 5 และ 10 องศา นั้นให้ความชัดของภาพที่ไม่แตกต่างกันมาก (ความกว้างของพล็อตไม่ต่างกันมาก) ทำให้สรุปว่าขยับครั้งละ 10 องศาเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดเพราะทำให้สามารถประหยัดเนื้อที่ในการเก็บข้อมูลได้เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า

3.2. ทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ถ่ายภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ

3.2.1. ความสม่ำเสมอของแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีผลต่อความคมชัดของภาพที่ได้ของอุปกรณ์

- เตรียมสไลด์เปล่า นำสไลด์เปล่า ใส่บนแท่นยึดให้เรียบร้อย
- เชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ กับคอมพิวเตอร์ ได้แก่ กล้อง บอร์ดอาร์ดูโน้ และเปิดไฟแอลอีดีของแหล่งกำเนิดแสง
- ถ่ายภาพสไลด์เปล่า จำนวน 3 จุดในบริเวณต่าง ๆ
- นำภาพที่ได้มาผ่านกระบวนการประมวลผลภาพ เพื่อดูความสม่ำเสมอของแสงที่ตกบนสไลด์
- สังเกตผลที่ได้

3.2.2. ความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับแต่ละแกน

1. แนวแกนนอน

- เตรียมสไลด์เปล่า ชิดเส้นตรงในแนวนอนลงบนกึ่งกลางสไลด์ นำสไลด์ดังกล่าวในบนแท่นยึดให้เรียบร้อย
- เชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ กับคอมพิวเตอร์ ได้แก่ กล้อง บอร์ดอาร์ดูโน้ และเปิดไฟแอลอีดีของแหล่งกำเนิดแสง
- ถ่ายภาพเส้นตรงบนสไลด์ จำนวน 10 ครั้ง โดยทุก ๆ ครั้งจะทำการขยับสไลด์ในแนวแกนนอนครั้งละ 0.55 มิลลิเมตร
- นำภาพที่ได้มาหาจุดกึ่งกลางของเส้นตรงที่ถ่ายได้
- เปรียบเทียบตำแหน่งจุดกึ่งกลางของแต่ละภาพกับภาพแรกซึ่งกำหนดเป็นภาพอ้างอิง
- สังเกตผลการเปรียบเทียบในแต่ละภาพ

2. แนวแกนตั้ง

- เตรียมสไลด์เปล่า ชิดเส้นตรงในแนวตั้งลงบนกึ่งกลางสไลด์ นำสไลด์ดังกล่าวในบนแท่นยึดให้เรียบร้อย
- เชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ กับคอมพิวเตอร์ ได้แก่ กล้อง บอร์ดอาร์ดูโน้ และเปิดไฟแอลอีดีของแหล่งกำเนิดแสง
- ถ่ายภาพเส้นตรงบนสไลด์ จำนวน 10 ครั้ง โดยทุก ๆ ครั้งจะทำการขยับสไลด์ในแนวแกนตั้งครั้งละ 0.39 มิลลิเมตร
- นำภาพที่ได้มาหาจุดกึ่งกลางของเส้นตรงที่ถ่ายได้
- เปรียบเทียบตำแหน่งจุดกึ่งกลางของแต่ละภาพกับภาพแรกซึ่งกำหนดเป็นภาพอ้างอิง
- สังเกตผลการเปรียบเทียบในแต่ละภาพ

3. แนวแกนลึกลับ

- เตรียมสไลด์เปล่า ชิดเส้นตรงในแนวตั้งลงบนกึ่งกลางสไลด์ นำสไลด์ดังกล่าวในบนแท่นยึดให้เรียบร้อย
- เชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ กับคอมพิวเตอร์ ได้แก่ กล้อง บอร์ดอาร์ดูโน้ และเปิดไฟแอลอีดีของแหล่งกำเนิดแสง
- ถ่ายภาพเส้นตรงบนสไลด์ จำนวน 10 ครั้ง โดยทุก ๆ ครั้งจะทำการขยับสไลด์ในแนวแกนตั้งครั้งละ 0.014 มิลลิเมตร
- นำภาพที่ได้มาหาจุดกึ่งกลางของเส้นตรงที่ถ่ายได้
- เปรียบเทียบตำแหน่งจุดกึ่งกลางของแต่ละภาพกับภาพแรกซึ่งกำหนดเป็นภาพอ้างอิง
- สังเกตผลการเปรียบเทียบในแต่ละภาพ
- ทำซ้ำอีกครั้ง โดยเปลี่ยนเส้นตรงเป็นแนวนอน

3.3. การออกแบบอัลกอริทึมและโปรแกรมประมวลผลภาพ

เลือกใช้โปรแกรม MATLAB ในการวิเคราะห์และประเมินผล ผ่านทางคอมพิวเตอร์เพื่อความสะดวกต่อการใช้งาน การติดตั้งโปรแกรม รวมถึงลดข้อจำกัดในการทำงานในเรื่องของระยะเวลาการวิเคราะห์ ประสิทธิภาพและเสถียรภาพการทำงาน โดยความสามารถเหล่านี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของคอมพิวเตอร์ที่ใช้ อีกทั้งโปรแกรมนี้อย่างสามารถติดตั้งได้บน ระบบปฏิบัติการ Windows ของ

คอมพิวเตอร์แต่ละเครื่อง ทำให้อุปกรณ์ชิ้นนี้เป็นอุปกรณ์ที่ไม่จำเพาะกับเครื่องใดเครื่องหนึ่งสามารถใช้ร่วมกับคอมพิวเตอร์ได้หลากหลาย

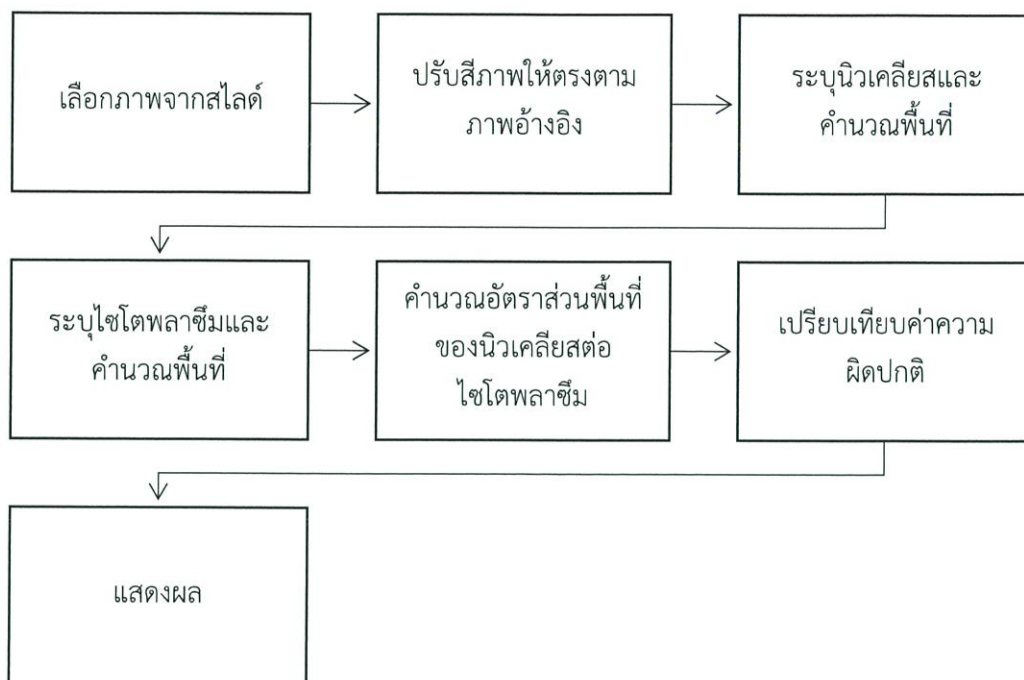
เนื่องจากอุปกรณ์ชิ้นนี้ทำงานโดยอัตโนมัติ ในส่วนของทางด้านโปรแกรมการวิเคราะห์ เลือกใช้โปรแกรม MATLAB (Matrix Laboratory) เป็นซอฟต์แวร์ในการคำนวณและการเขียนโปรแกรม ซึ่งมีความครอบคลุมตั้งแต่ การพัฒนาอัลกอริทึม การจำลองการทำงาน การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยเฉพาะเรื่องกระบวนการประมวลผลภาพ ซึ่งโปรแกรมนี้ใช้สำหรับการประมวลผลภาพ เพื่อวิเคราะห์เซลล์มะเร็งปากมดลูก จึงมีความเหมาะสมในการเลือกใช้งานจากจุดเด่นของโปรแกรม อีกทั้ง MATLAB เป็นโปรแกรมที่สามารถนำมาพัฒนาต่อได้ง่ายและกว้างขวางเนื่องจาก

1. โปรแกรม MATLAB ใช้ภาษาระดับสูงในการเขียน ซึ่งง่ายต่อการศึกษาและทำความเข้าใจ
2. ส่วนของฟังก์ชันที่ใช้หรือนำมาพัฒนา ข้อมูลสามารถสืบค้นได้โดยง่าย
3. ฟังก์ชันที่สามารถเลือกประยุกต์ใช้มีมากมายหลากหลายด้าน ง่ายต่อการพัฒนาโปรแกรมต่อไป
4. MATLAB Central เป็นศูนย์กลางในการปรึกษาปัญหา ให้คำแนะนำ รวมถึงการแลกเปลี่ยนนำเสนอผลงานอีกด้วย
5. มีผู้ใช้โปรแกรม MATLAB ศึกษาและพัฒนาเป็นจำนวนมากจึงมีบุคคลสามารถช่วยเหลือได้อย่างกว้างขวาง เมื่อเกิดปัญหาขึ้นกับโปรแกรม
6. โปรแกรม MATLAB มีส่วนรองรับในการทำงานร่วมกับโปรแกรมอื่นได้อย่างหลากหลาย เช่น Arduino โปรแกรมภาษา C/C++ เป็นต้น

สำหรับโปรแกรม MATLAB ที่ใช้ในการเขียนโปรแกรมประมวลผลและวิเคราะห์ภาพ นั้นเป็นรุ่นปี 2017 (MATLAB 2017a) เนื่องจากมีความรวดเร็วในการประมวลผลการทำงาน มีฟังก์ชันหลากหลายง่ายพร้อมต่อการใช้งาน และมีความเสถียรของโปรแกรมเพิ่มมากขึ้น

3.3.1. การประมวลผลภาพ

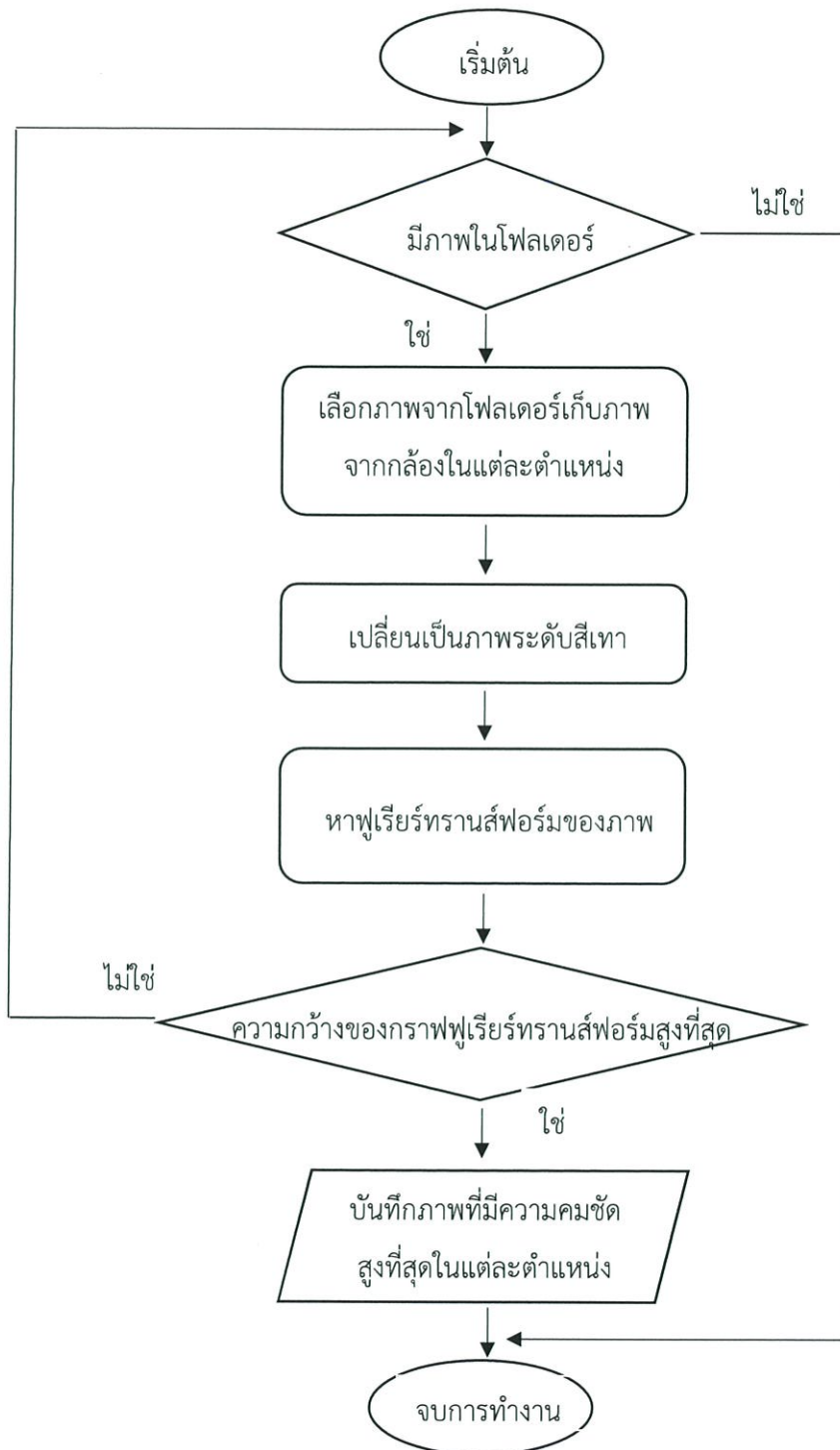
การประมวลผลภาพมีจุดมุ่งหมายในการประเมินความเสี่ยง แยกเซลล์ที่มีความผิดปกติมีโอกาสเกิดมะเร็งปากมดลูก โดยการวิเคราะห์จากภาพที่ได้จากการถ่ายภาพสไลด์แปสเมียร์ การวิเคราะห์ประมวลผลภาพใช้วิธีการวิเคราะห์อัตราส่วนพื้นที่ของนิวเคลียสต่อพื้นที่ของไซโตพลาซึม เพื่อแยกเซลล์ที่มีความเสี่ยงหรือเซลล์ที่มีลักษณะความผิดปกติของมะเร็งปากมดลูก โดยใช้โปรแกรม MATLAB R2017a วิเคราะห์และแสดงผลภาพ การเขียนคำสั่งเพื่อวิเคราะห์ภาพในโปรแกรมทำได้โดยการเขียนโปรแกรมในภาษา MATLAB ซึ่งสามารถเรียกใช้ฟังก์ชันที่มีอยู่ในโปรแกรม MATLAB R2017a ได้ โดยมีลำดับขั้นตอนการเลือกประมวลผลภาพดังนี้



รูปที่ 3.50 แผนภาพแสดงกระบวนการประมวลผลภาพ

3.3.1.1. การเลือกภาพจากสไลด์ แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ

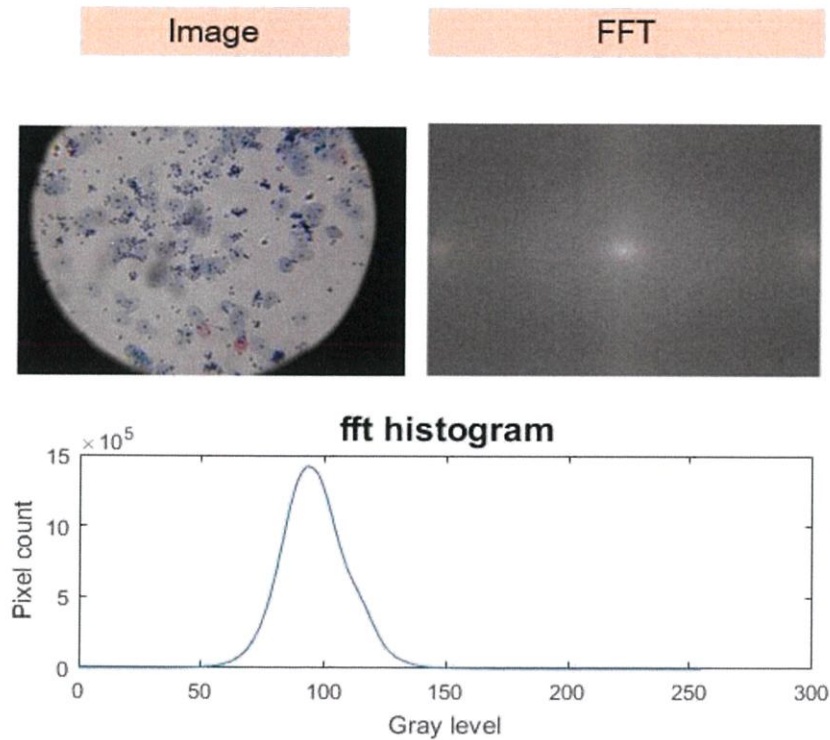
1. การเลือกภาพคมชัดในแต่ละตำแหน่งบนสไลด์แปปสเมียร์ เลือกภาพคมชัดในแต่ละตำแหน่งจากการถ่ายภาพโดยการเปรียบเทียบค่าความคมชัด ซึ่งได้จากผลต่างระหว่างค่าสูงสุดและต่ำสุดของภาพระดับสีเทาในตำแหน่งนั้น ๆ เพื่อเลือกภาพที่มีความคมชัดสูงสุด



รูปที่ 3.51 แผนภาพขั้นตอนการเลือกภาพคมชัดในแต่ละตำแหน่งบนสไลด์แปปสเมียร์

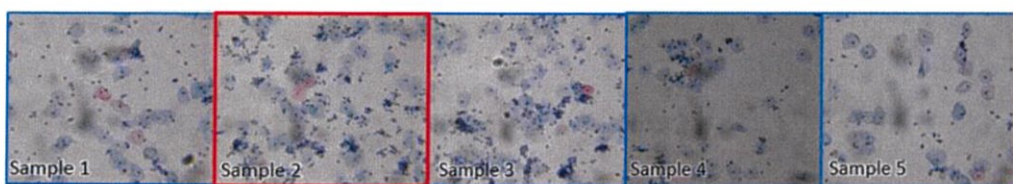
จากภาพที่ 3.51 โปรแกรมจะอ่านภาพในโฟลเดอร์เก็บภาพจากกล้องในแต่ละตำแหน่ง หาความคมชัดของภาพในแต่ละตำแหน่งโดยการปรับภาพสีให้เป็นภาพระดับสีเทาและการใช้ฟูเรียร์

ทรานฟอร์มในการเปลี่ยนเป็นภาพในเชิงความถี่ จากนั้นนำมาพล็อตฮิสโตแกรมภาพระดับสีเทาของภาพฟูเรียร์ทรานฟอร์ม ดังรูปที่ 3.52



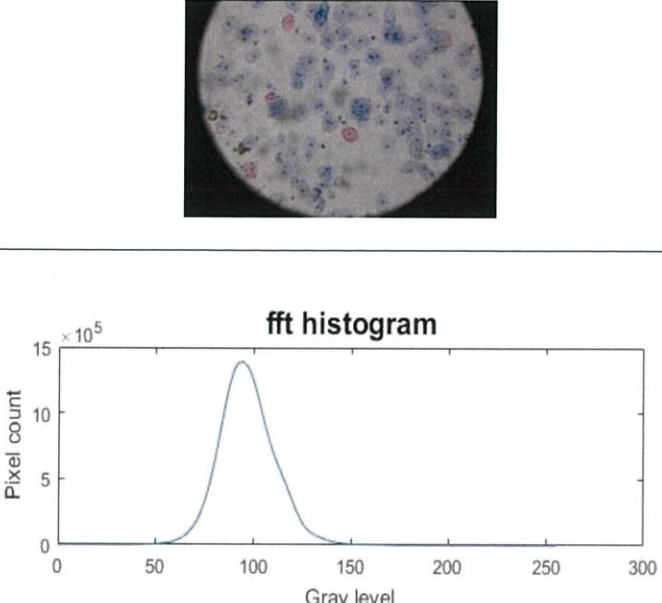
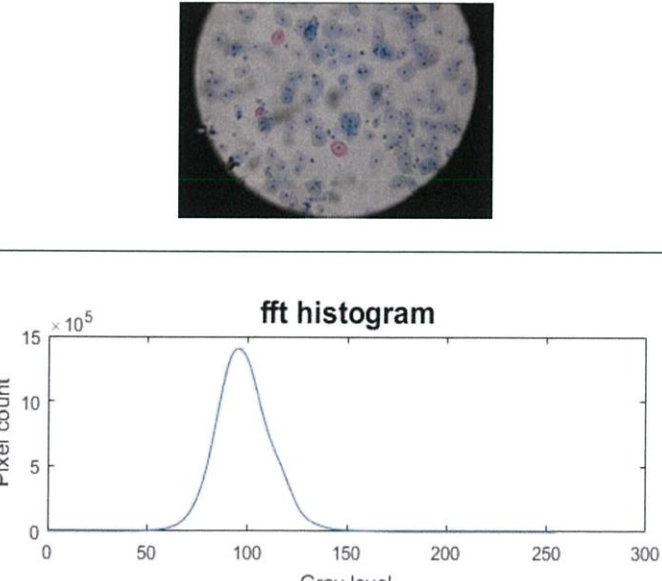
รูปที่ 3.52 แสดงกราฟฮิสโตแกรมจากการทำฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ

พิจารณาค่าความคมชัดจากการกระจายตัวของข้อมูลหรือความกว้างของกราฟ ภาพที่มีความคมชัดจะมีความกว้างของกราฟสูงที่สุดและจะเก็บภาพในแต่ละตำแหน่งเพื่อทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป

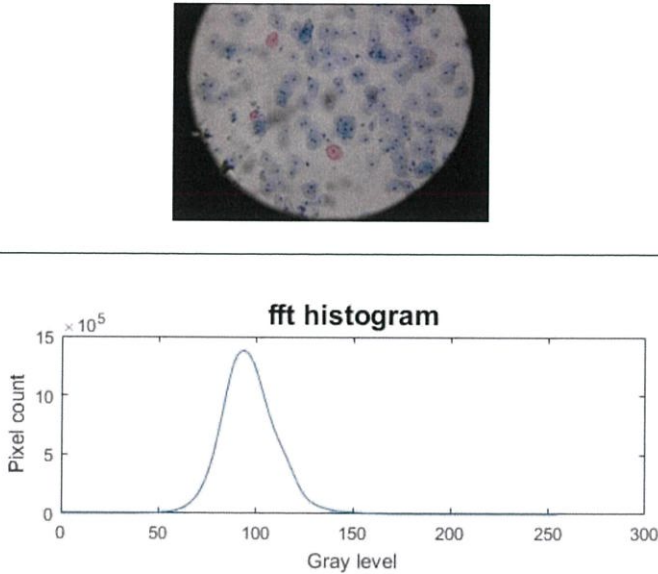
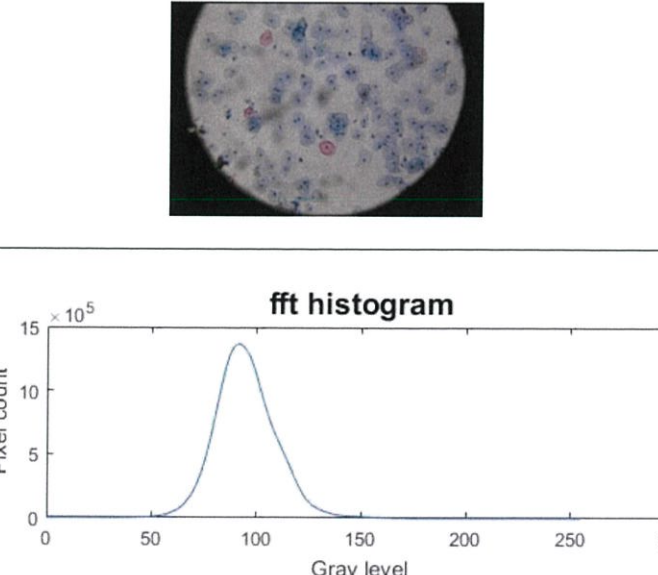


รูปที่ 3.53 ภาพเปรียบเทียบค่าความคมชัดของภาพตัวอย่าง

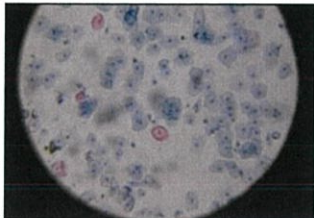
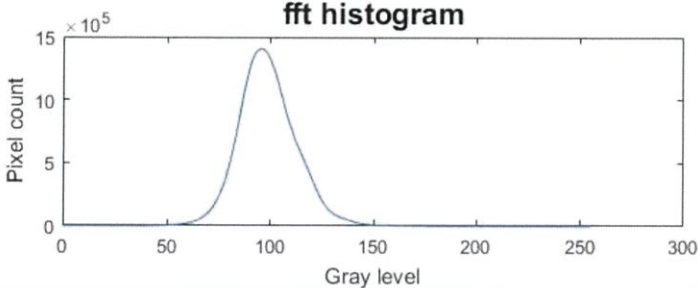
ตารางที่ 3.6 แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ

ลำดับ	ภาพต้นฉบับและ กราฟฮิสโตแกรมของภาพฟูเรียร์	ความกว้าง ฮิสโตแกรม
1		27.55
2		28.21

ตารางที่ 3.6 (ต่อ) แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ

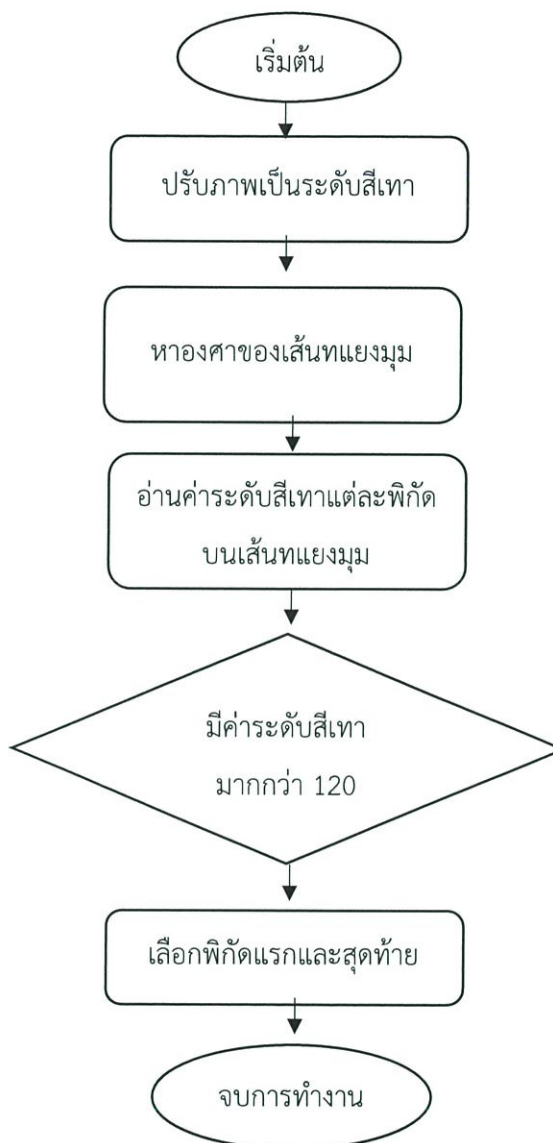
ลำดับ	ภาพต้นฉบับ กราฟฮิสโตแกรมของภาพฟูเรียร์	ความกว้าง
3		28.72
4		27.80

ตารางที่ 3.6 (ต่อ) แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ

ลำดับ	ภาพต้นฉบับ กราฟฮิสโตแกรมของภาพฟูเรียร์	ความกว้าง
5	 	27.79

จากตารางที่ 3.6 แสดงการเลือกภาพคมชัด โดยความกว้างของกราฟฮิสโตแกรมของฟูเรียร์ทรานฟอร์มของภาพ จากผลการทดลองภาพที่มีความคมชัดสูงที่สุดจะมีความกว้างของกราฟมากที่สุด เนื่องจากมีการกระจายตัวของข้อมูลสูง ดังนั้น ภาพที่ 3 จะเป็นภาพที่มีความชัดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับภาพอื่นในตำแหน่งเดียวกัน

2. การตัดขอบภาพ คือตัดขอบบริเวณขอบสีดำซึ่งไม่มีภาพของเซลล์สไลด์ มีผลต่อการวิเคราะห์ภาพในกระบวนการแยกนิวเคลียสโดยการแยกสี เพื่อให้ได้ภาพที่มีขนาดใหญ่ที่สุดจึงทำการระบุขอบภาพตามแนวเส้นทแยงมุมของภาพ



รูปที่ 3.54 แผนภาพขั้นตอนการตัดขอบภาพที่มีผลต่อการประมวลผลภาพ

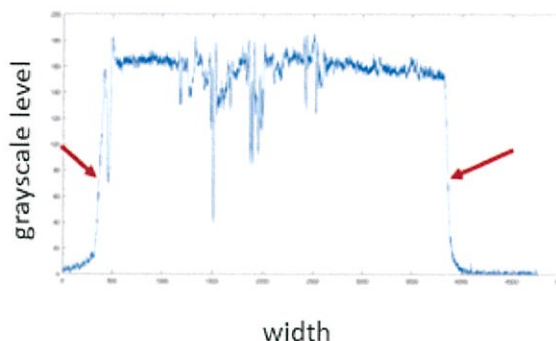


รูปที่ 3.55 แสดงแนวเส้นทแยงมุมเพื่อทำการระบุขอบภาพ

จากรูป 3.55 สามารถหาแนวเส้นทแยงมุมจากการหาค่าของเส้นทแยงมุม

$$\theta = \frac{\tan^{-1} \text{height}}{\text{width}}$$

สมการ 3.3

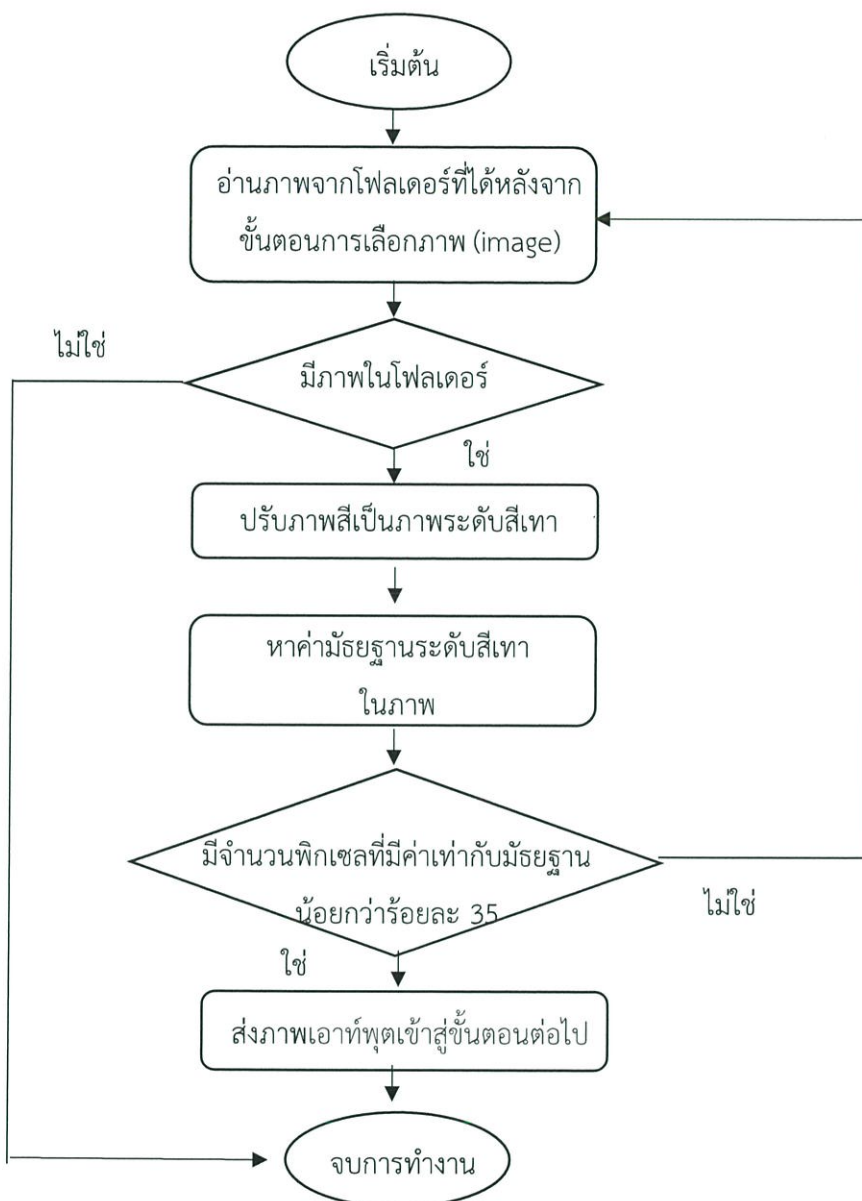


รูปที่ 3.56 กราฟระดับสีเทาตลอดเส้นทแยงมุม

จากภาพระดับสีเทาเมื่อพล็อตค่าสีในพิกัดตลอดเส้นทแยงมุม ระดับสีบริเวณภาพเซลล์สไลด์ จะมีความสว่างแตกต่างชัดเจนกับบริเวณขอบภาพสีดำ

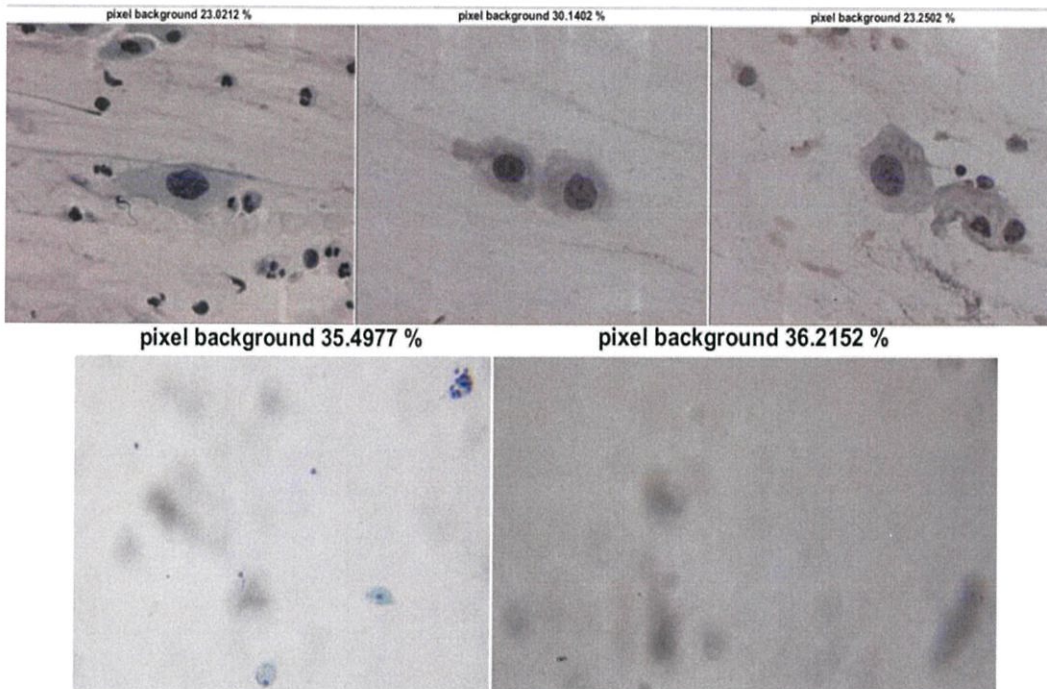
จากรูปที่ 3.55 สามารถระบุพิกัดของขอบภาพได้เนื่องจากต้องการภาพเป็นสี่เหลี่ยมมุมฉาก จึงต้องทำการเปรียบเทียบค่าที่ได้ในแต่ละมุมให้ครอบคลุมภาพ โดยไม่ติดขอบภาพสีดำในมุมอื่นจากรูป 3.56 จะได้ว่าเปรียบเทียบระยะทางด้านความกว้างของภาพระหว่างจุด 1-4 และ 2-3 เพื่อเลือกค่าที่ใกล้จุดศูนย์กลางภาพมากที่สุด และเปรียบเทียบระยะทางด้านความสูงของภาพระหว่างจุด 1-2 และ 3-4 เพื่อเลือกค่าที่ใกล้จุดศูนย์กลางภาพมากที่สุด จะได้พื้นที่ของภาพสูงที่สุดและได้พิกัดใหม่ ของลักษณะภาพสี่เหลี่ยมมุมฉาก

1.3. การแยกภาพเซลล์จากภาพสไลด์เปล่า ทำได้โดยการนับจำนวนพิกเซลพื้นหลัง เนื่องจากภาพเปล่าจะมีค่าสีสว่างอยู่เป็นจำนวนมากทำให้พิกเซลระดับสีพื้นหลังมีเพิ่มขึ้น ในที่นี้ใช้สีภาพระดับสีเทาในการวิเคราะห์ เนื่องจากใช้ข้อมูลความเข้มสีของภาพเพียง 1 มิติ



รูปที่ 3.57 แผนภาพขั้นตอนการแยกภาพเซลล์จากภาพสไลด์เปล่า

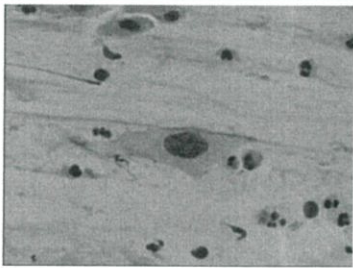
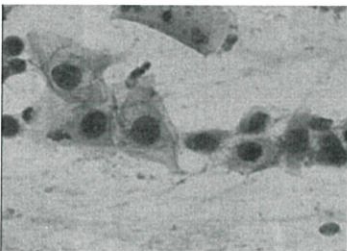
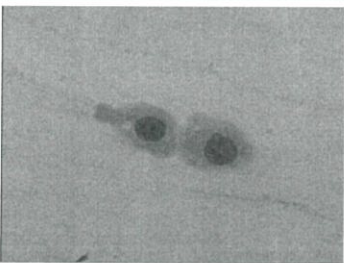
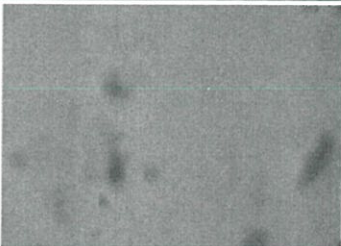
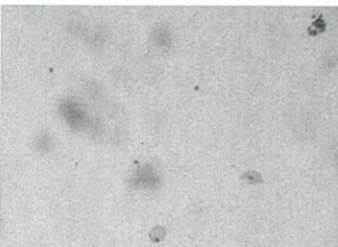
ดังนั้น จึงใช้จำนวนของพิกเซลที่มีระดับสีเป็นสีพื้นหลังแยกภาพสไลด์เปล่าออกจากภาพที่มีเซลล์ เนื่องจากในจำนวนภาพทั้งหมดประกอบด้วยภาพเซลล์และสไลด์เปล่า ทำการคัดเลือกภาพที่มีเฉพาะเซลล์เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 3.58 ภาพเปรียบเทียบจำนวนฟิกลเซลล์ของพื้นหลัง

ขั้นตอนนี้เริ่มจากอ่านภาพที่ได้จากการเลือกภาพที่มีความคมชัดสูงสุดของแต่ละตำแหน่ง มีจำนวนภาพเท่ากับขนาด 1 สไลด์ คัดแยกภาพสไลด์เปล่าทำได้โดยตรวจสอบภาพในโฟลเดอร์ ปรับสีภาพจากภาพสีเป็นภาพระดับสีเทา คำนวณหาค่ามัธยฐานของระดับสีเทาในภาพ เนื่องจากค่านี้คือระดับสีที่มีมากที่สุด ดังนั้นค่ามัธยฐานที่ได้จึงเป็นระดับสีพื้นหลัง หากมีมากกว่า 35% ดังตารางที่ 3.7 จัดว่าเป็นภาพที่ไม่มีเซลล์จึงกลับไปเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ใหม่ ถ้าหากไม่มีภาพเหลือแล้วจึงจบการทำงาน ภาพที่เลือกหรือภาพที่มีเซลล์จะถูกส่งกลับฟังก์ชันหลักเพื่อเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์หาเซลล์ผิดปกติ

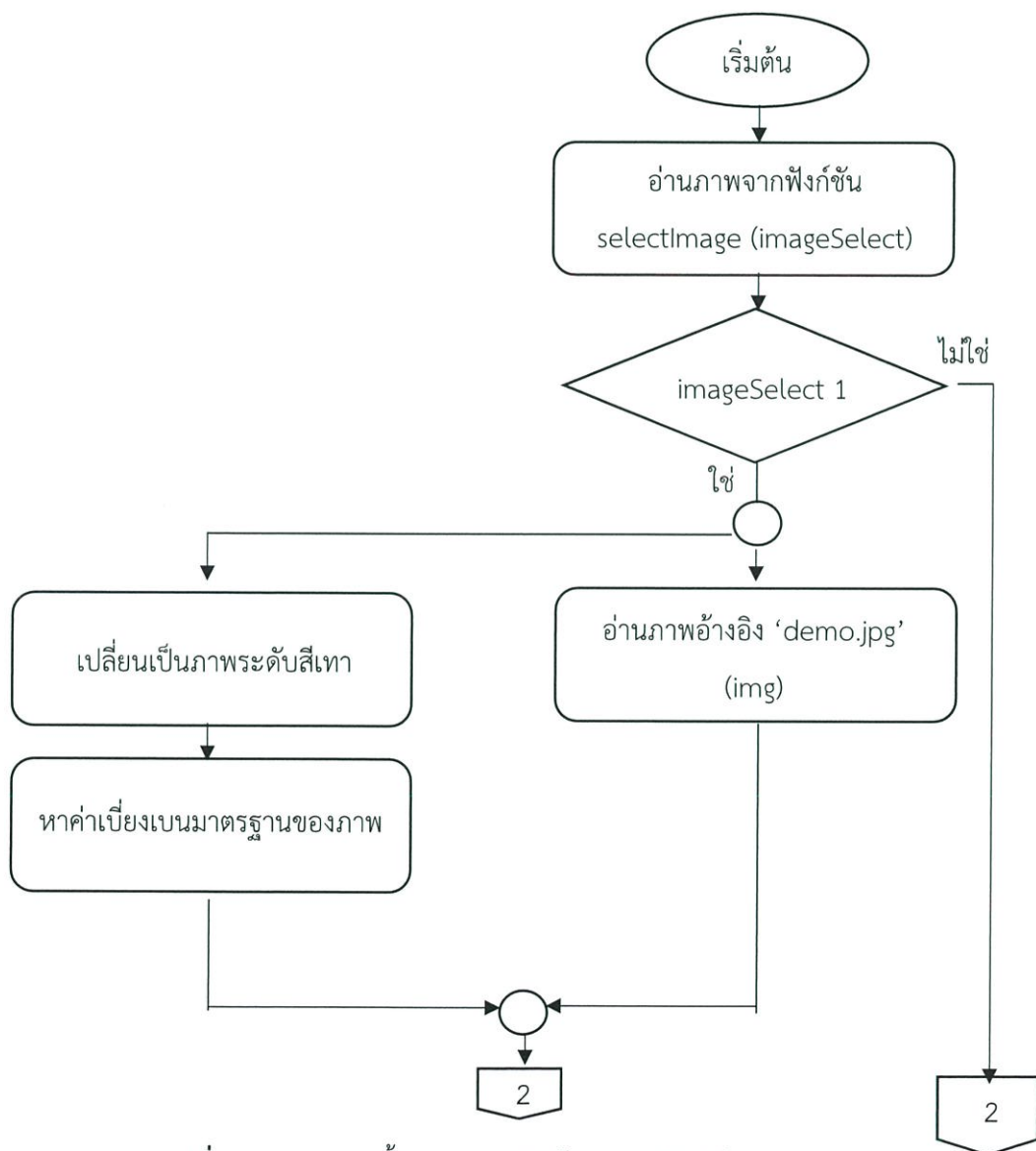
ตารางที่ 3.7 แสดงค่าปริมาณพิกเซลที่มีฐานของระดับสีเทาของภาพเซลล์ต่าง ๆ

ลำดับ	ภาพระดับสีเทา	ค่ามัธยฐาน	จำนวน	เปอร์เซ็นต์ต่อพื้นที่ทั้งหมด
1		166	100424	23.02%
2		184	77860	17.85%
3		164	131479	30.14%
4		161	78364	36.21%
5		198	63597	35.49%

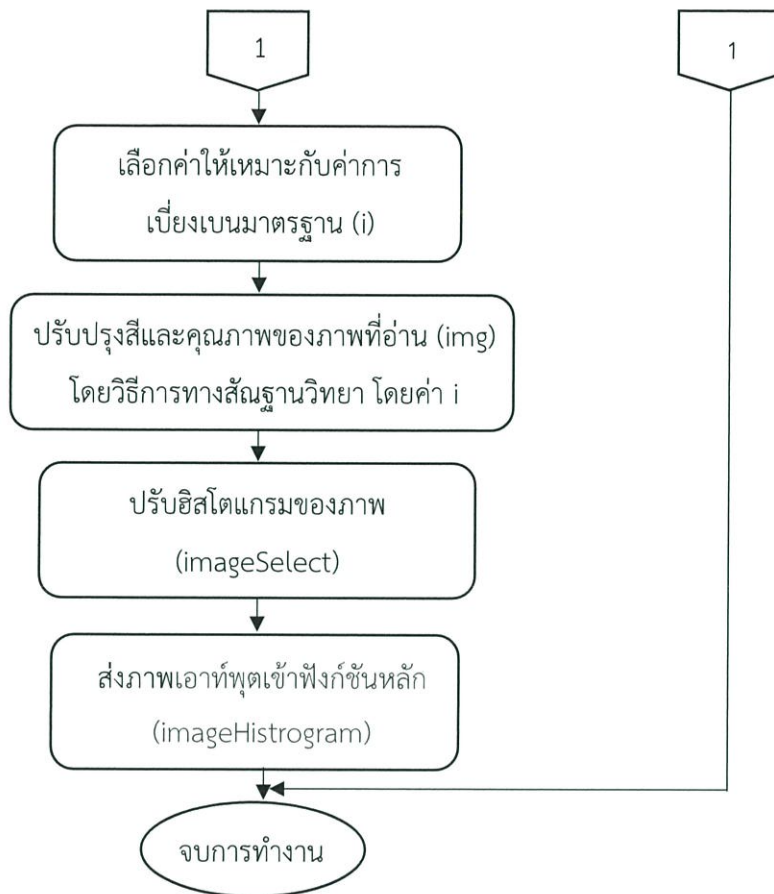
จากตารางที่ 3.7 แสดงค่าปริมาณพิกเซลที่มีฐานของระดับสีเทาของภาพเซลล์ต่าง ๆ พบว่าภาพสไลด์เปล่าจะมีปริมาณพิกเซลที่มีฐานของระดับสีเทามากกว่าร้อยละ 35

3.3.1.2. การปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ

ปรับฮิสโตแกรมของภาพโดยใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับรูปแบบและโครงสร้าง ซึ่งมีค่าความเหมาะสมพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละภาพ เพื่อให้สีนิวเคลียสและไซโตพลาซึมแยกออกจากกันอย่างชัดเจน ง่ายต่อการระบุตำแหน่งนิวเคลียส

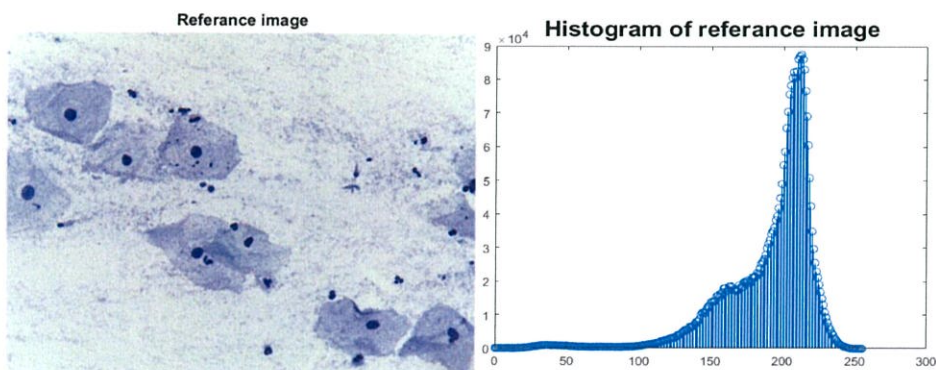


รูปที่ 3.59 แผนภาพขั้นตอนการปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ



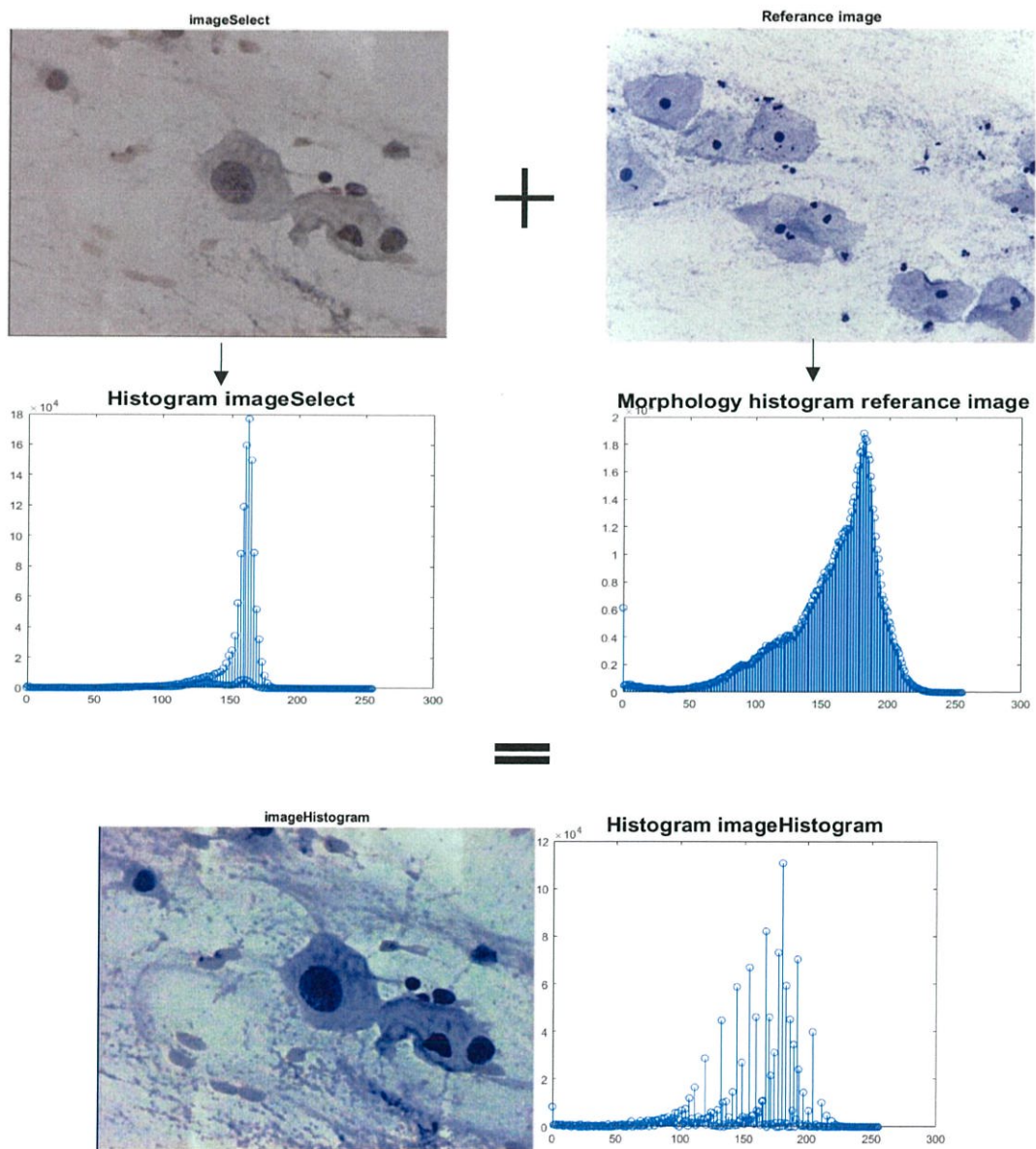
รูปที่ 3.59 (ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการปรับสีโดยการปรับฮิสโตแกรมของภาพ

การปรับฮิสโตแกรมของภาพขั้นตอนนี้ใช้ในการปรับรูปแบบฮิสโตแกรมของแต่ละภาพให้มีรูปแบบตรงตามภาพอ้างอิง เนื่องจากองค์ประกอบสีของภาพแต่ละภาพมีความแตกต่างกันและภาพอ้างอิงเน้นสีบริเวณนิวเคลียสแยกออกจากไซโตพลาซึมรวมถึงพื้นหลังได้ดี



รูปที่ 3.60 ภาพอ้างอิงและฮิสโตแกรมของภาพ

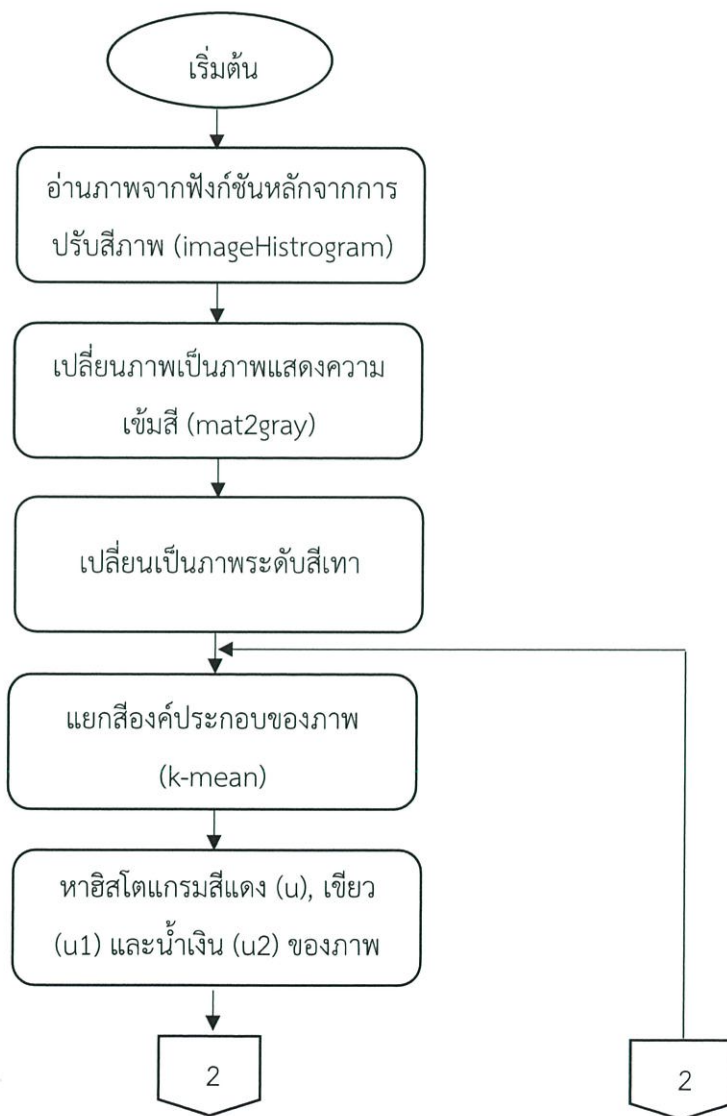
จากรูปที่ 3.60 ค่าระดับสีที่มีจำนวนมากที่สุดคือบริเวณพื้นหลัง ซึ่งภาพที่นำมาวิเคราะห์มีค่าระดับสีไม่เกินภาพอ้างอิง ดังนั้นจึงทำการปรับปรุงสีและคุณภาพของภาพด้วยวิธีการทางสัญญาณวิทยา ให้ค่าการปรับขึ้นอยู่กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของภาพ เพื่อให้พื้นหลังมีระดับสีใกล้เคียงกับภาพที่นำมาวิเคราะห์ (imageSelect) โดยลักษณะฮิสโตแกรมของภาพอ้างอิงยังคงเดิม ส่งภาพที่ผ่านการปรับสีไปยังฟังก์ชันหลัก



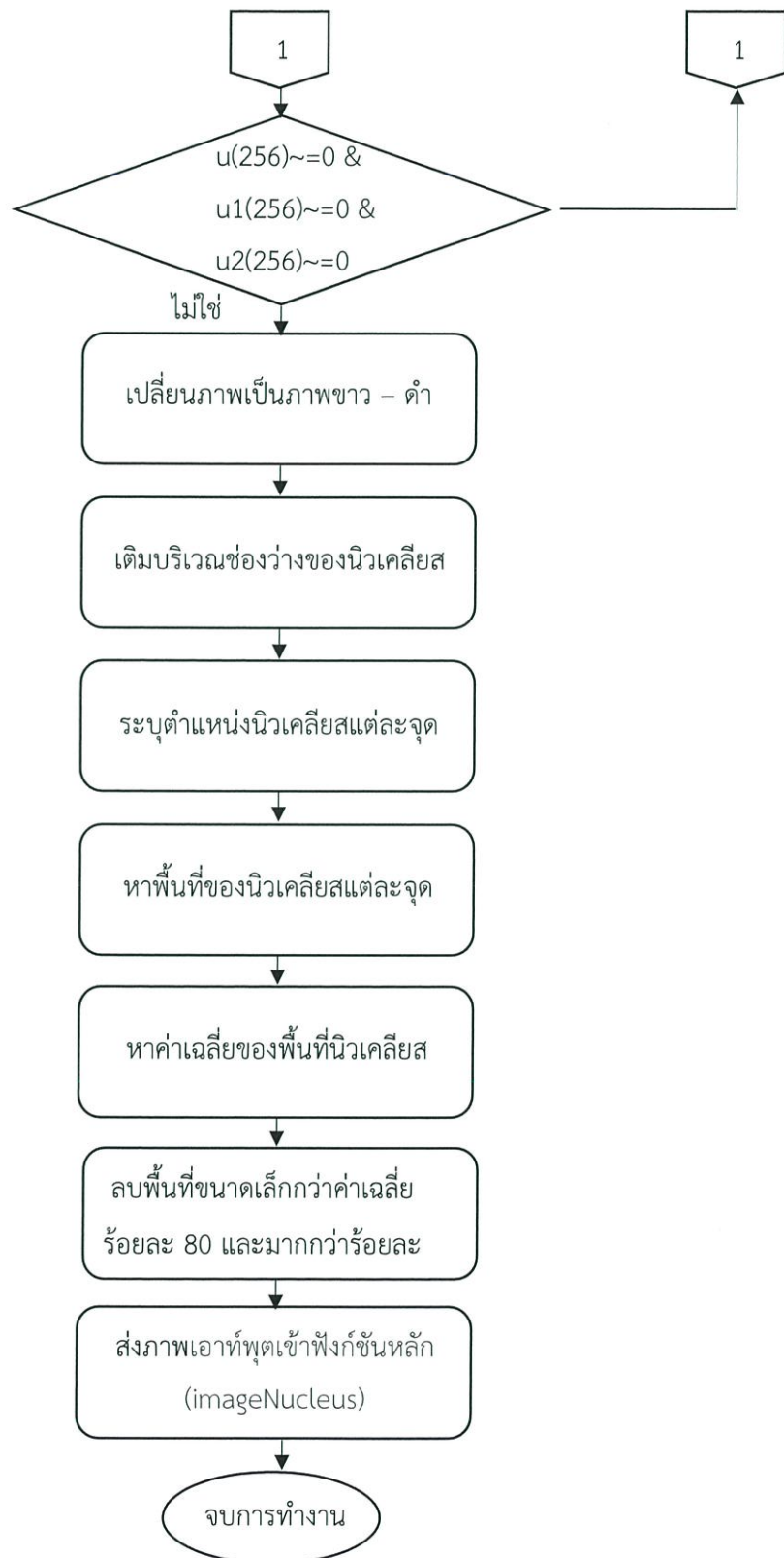
รูปที่ 3.61 แสดงการปรับฮิสโตแกรมของภาพ

3.3.1.3. ระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส

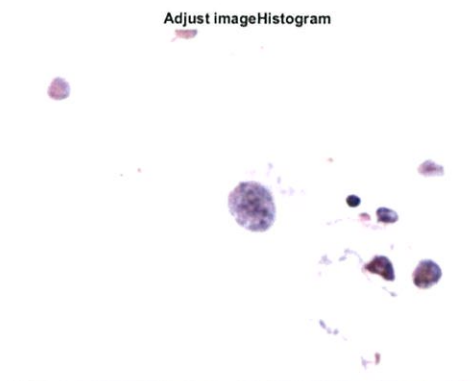
จากขั้นตอนการปรับสีภาพให้ง่ายต่อการระบุตำแหน่งของนิวเคลียส สามารถแยกนิวเคลียสออกจากส่วนประกอบอื่นของภาพได้จากการแยกสีและระบุตำแหน่งของนิวเคลียส ซึ่งนิวเคลียสที่นำไปใช้จะต้องมีขนาดอยู่ระหว่างค่ามากและน้อยกว่าร้อยละ 20 ของค่าเฉลี่ย เพื่อจัดสิ่งรบกวนที่มีขนาดเล็กหรือพื้นที่ขนาดใหญ่ที่เซลล์ทับซ้อนกันจึงมีความเข้มสีใกล้เคียงกับนิวเคลียส



รูปที่ 3.62 แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส



รูปที่ 3.62 (ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่นิวเคลียส



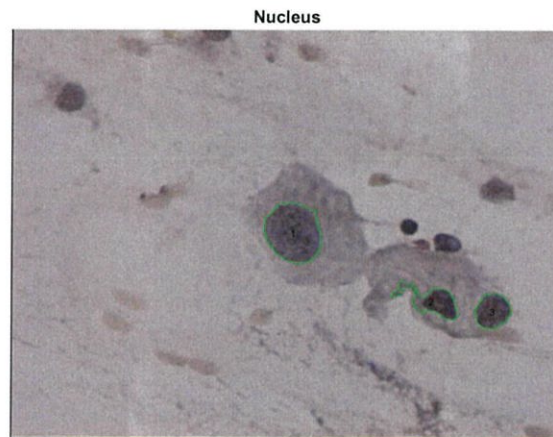
รูปที่ 3.63 ภาพหลังการปรับสีภาพ imageHistogram จากฟังก์ชันหลัก

จากขั้นตอนการปรับสีภาพด้วยวิธีปรับฮิสโตแกรมให้สีบริเวณนิวเคลียสแตกต่างอย่างชัดเจนจากพื้นหลังและไซโตพลาซึม อ่านภาพ (imageHistogram) เปลี่ยนเป็นภาพความเข้มสีโดยเน้นค่าสีอยู่ในช่วง 40 – 140 สีนิวเคลียสจะโดดเด่นขึ้นง่ายต่อการแยกองค์ประกอบภาพด้วยสีจากวิธีการแยกสี k-mean clustering ในที่นี้ใช้การแยกสีจำนวน 2 ครั้ง เนื่องจากต้องการแยกสีเป็น 2 ส่วน แบ่งเป็นบริเวณนิวเคลียสและพื้นหลังรวมไซโตพลาซึม และวิธีการแยกสีแบบ Squared Euclidean distance รูปที่ 3.62 ภาพการแยกสีโดยวิธี k-mean clustering จำนวน 2 ครั้ง



รูปที่ 3.64 ภาพการแยกสีโดยวิธี k-mean clustering จำนวน 1 ครั้งและ 2 ครั้ง

จากการแยกสีจำนวน 2 ครั้งภาพที่เป็นพื้นหลังจะมีจำนวนพิกเซลที่มีค่าสี 256 ในสีแดง, สีเขียว และสีน้ำเงิน มากกว่า 0 จึงใช้เป็นเงื่อนไขในการเลือกภาพนิวเคลียส เปลี่ยนภาพที่ได้เป็นภาพขาว - ดำเพื่อระบุตำแหน่งนิวเคลียสแต่ละจุดและคำนวณหาพื้นที่ โดยผ่านการเติมพื้นที่ว่างของสีที่หายไปจากการแยกสีบางส่วน เนื่องจากในภาพอาจมีสิ่งรบกวนซึ่งไม่ใช่ นิวเคลียสมีขนาดเล็กจึงหาค่าเฉลี่ยพื้นที่ของนิวเคลียส เพื่อเป็นตัวกรองสิ่งรบกวนขนาดเล็กและพื้นที่จากการซ้อนทับของเซลล์ขนาดใหญ่ให้เงื่อนไขนิวเคลียสมีขนาดไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ของค่าเฉลี่ยและไม่มากกว่าร้อยละ 120 ของค่าเฉลี่ย จะได้ภาพนิวเคลียสส่งไปยังฟังก์ชันหลัก (imageNucleus)


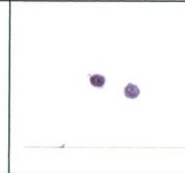

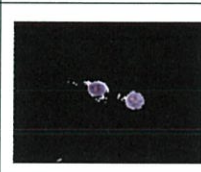
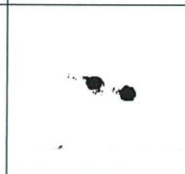
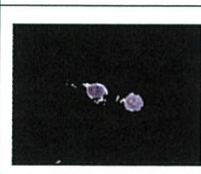

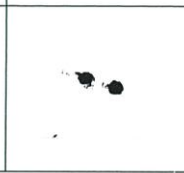
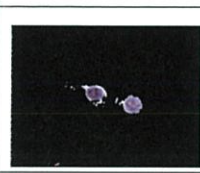




รูปที่ 3.65 การระบุขอบนิวเคลียส

ตารางที่ 3.8 แสดงผลการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean ในจำนวนครั้งต่าง ๆ เพื่อหาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้ k-mean

ลำดับ	ภาพจากการปรับสี	จำนวนสี	การแยกสีวิธี k-mean ครั้งที่			
			1	2	3	4
1		1				
		2				
		3				
		4				

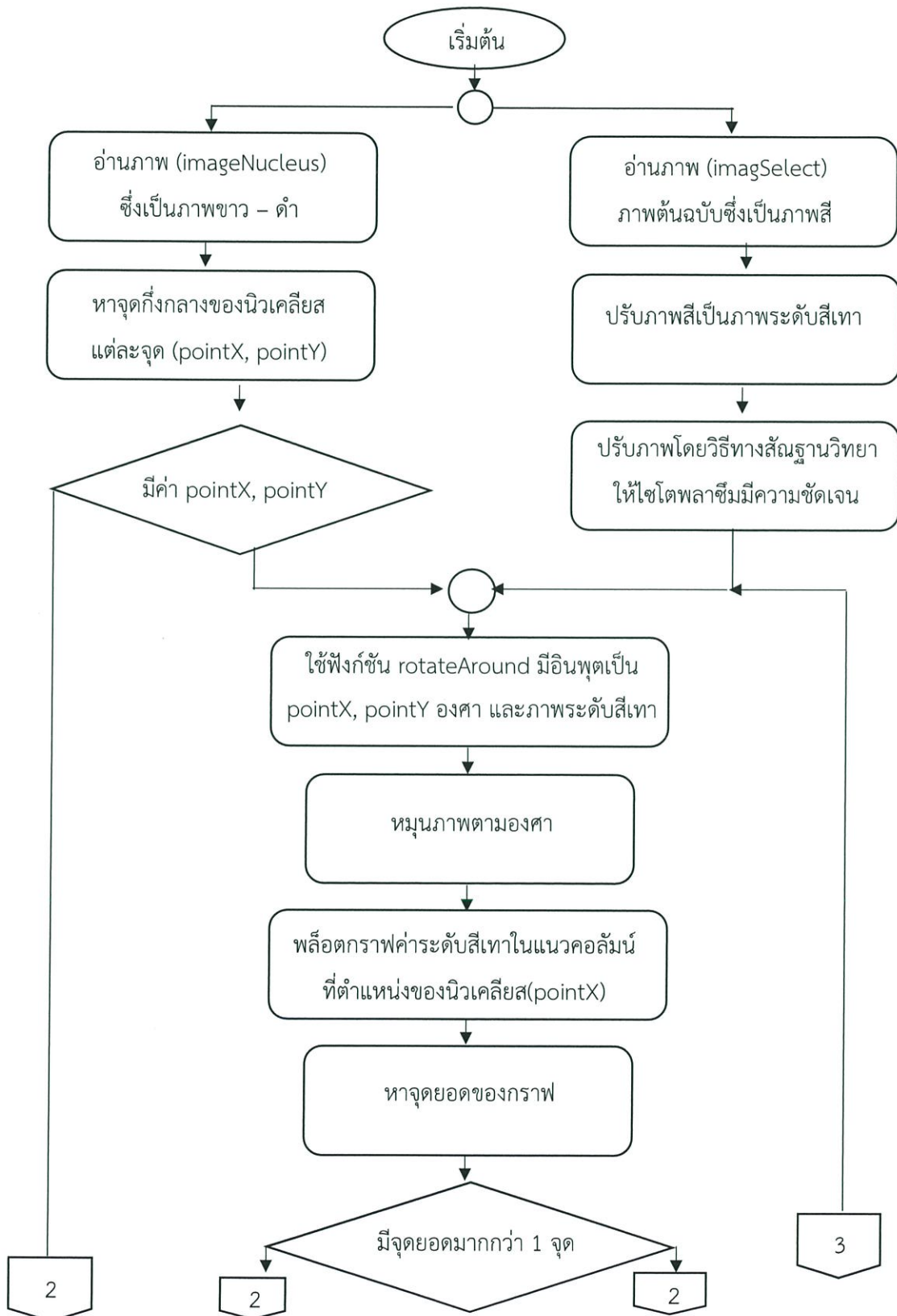
ตารางที่ 3.78 (ต่อ) แสดงผลการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean ในจำนวนครั้งต่าง ๆ เพื่อหาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้ k-mean

ลำดับ	ภาพจากการปรับสี	จำนวนสี	การแยกสีวิธี k-mean ครั้งที่			
			1	2	3	4
2		1				
		2				
		3				
		4				

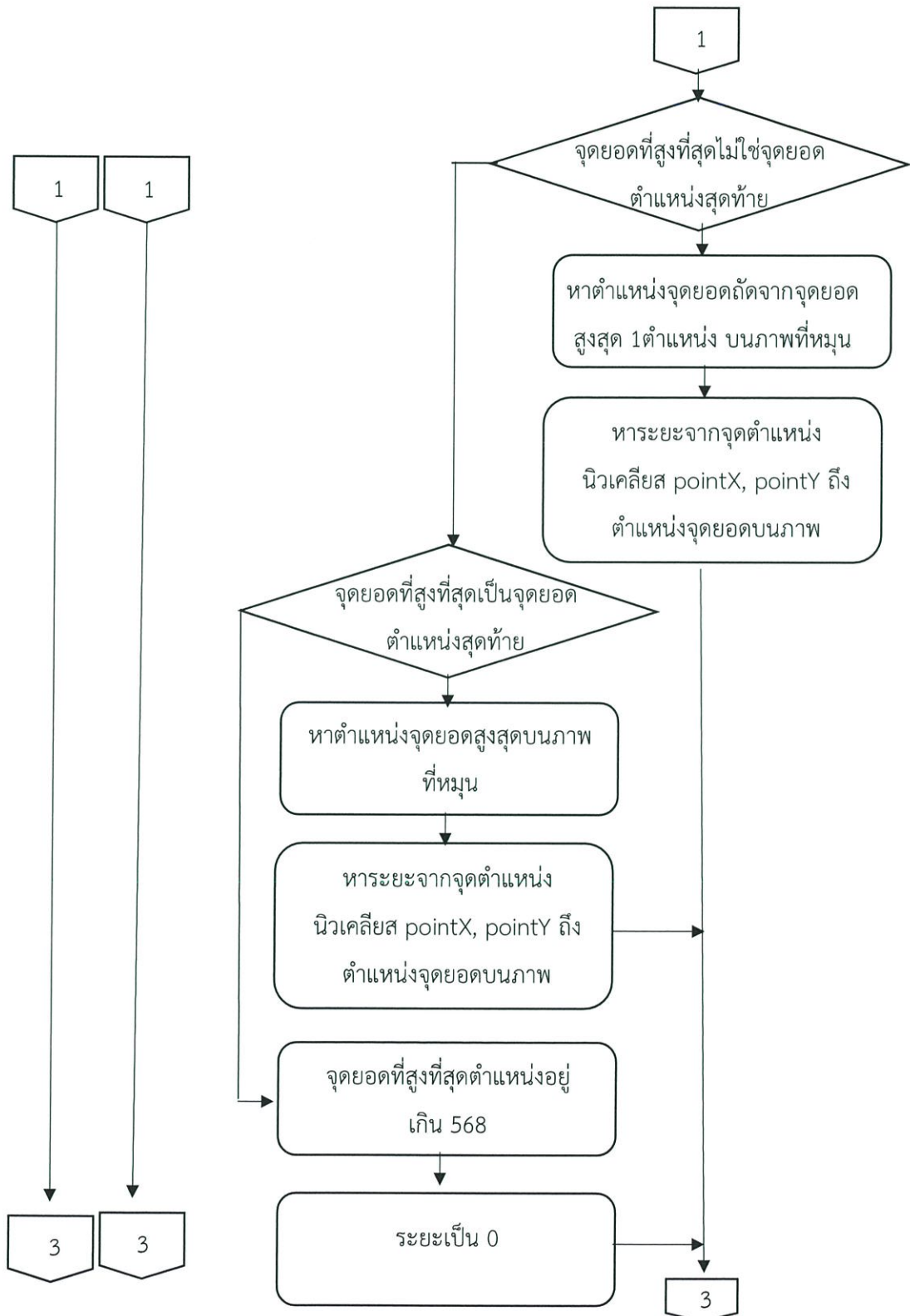
จากตารางที่ 3.8 แสดงผลการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean จำนวนครั้งต่าง ๆ พบว่า 2 ครั้งเหมาะสมที่สุด

3.3.1.4 ระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม

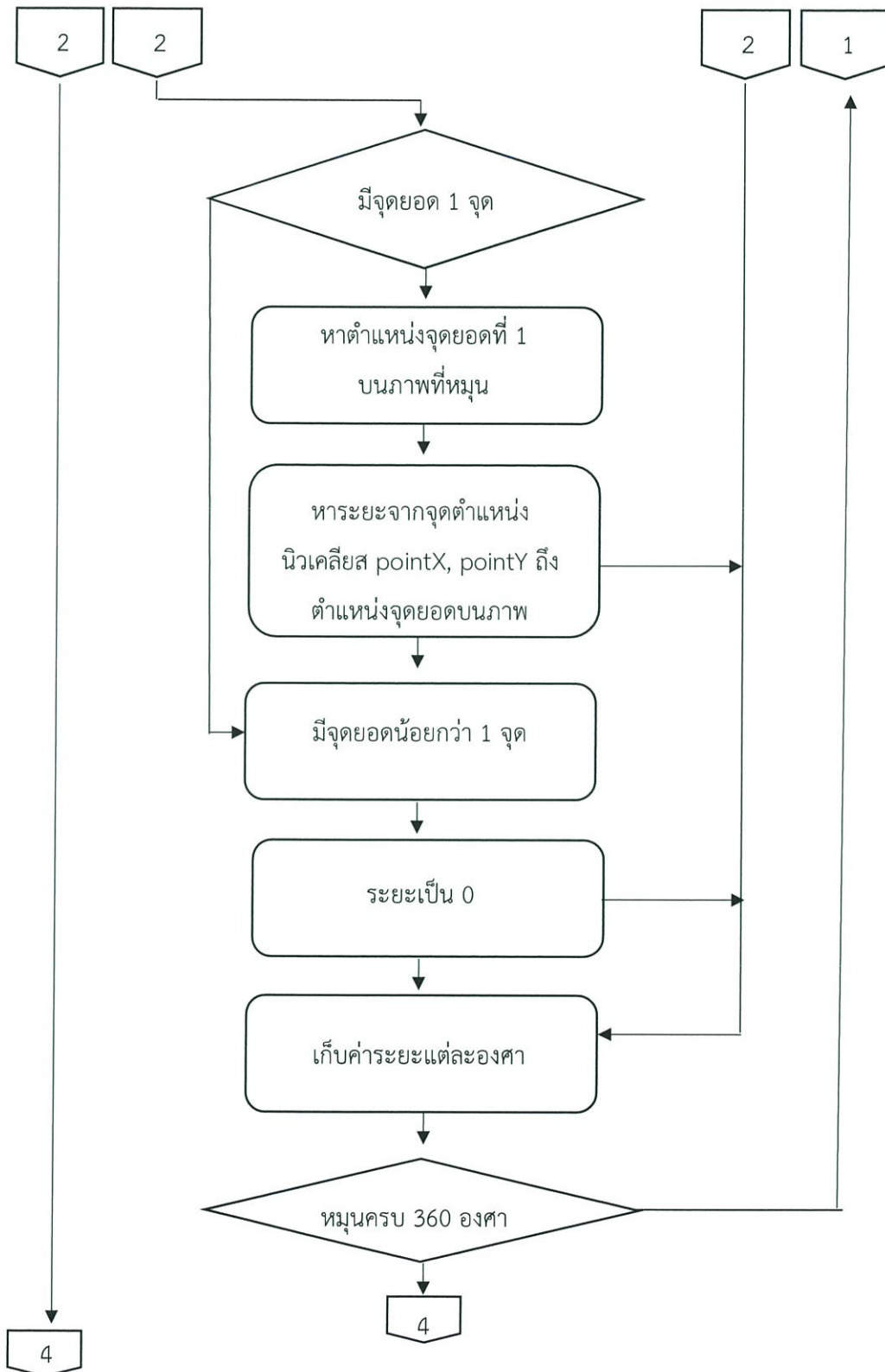
สามารถหาของเขตไซโตพลาซึมโดยอ้างอิงจากตำแหน่งนิวเคลียสแต่ละจุด ใช้หลักการหาอัตราการเปลี่ยนแปลงของสีในภาพระดับสีเทา



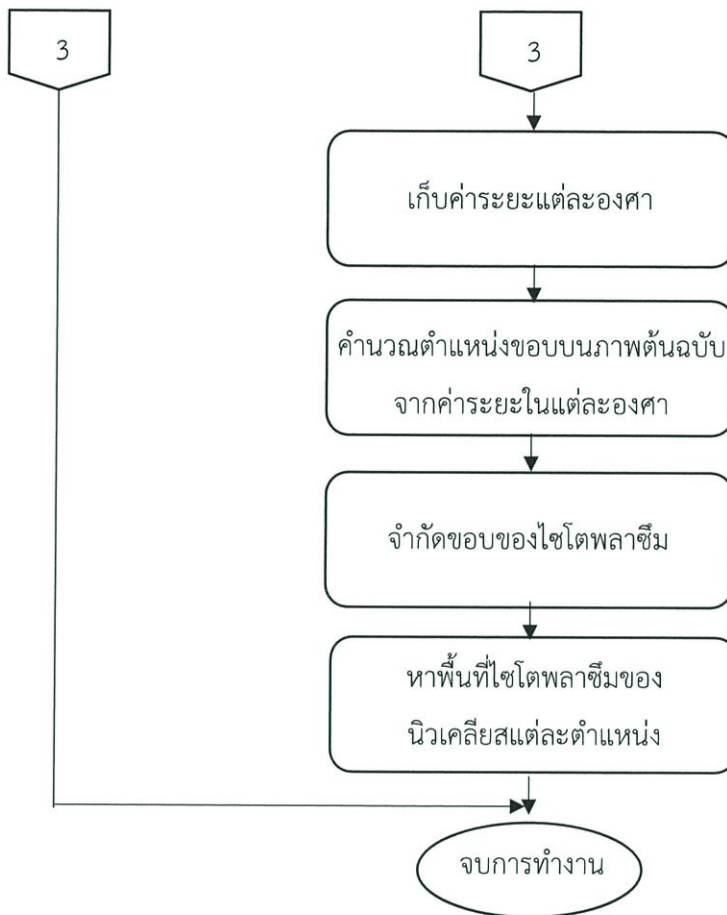
รูปที่ 3.66 แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไฮโดพลาซึม



รูปที่ 3.66 (ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไฮโดพลาซิม

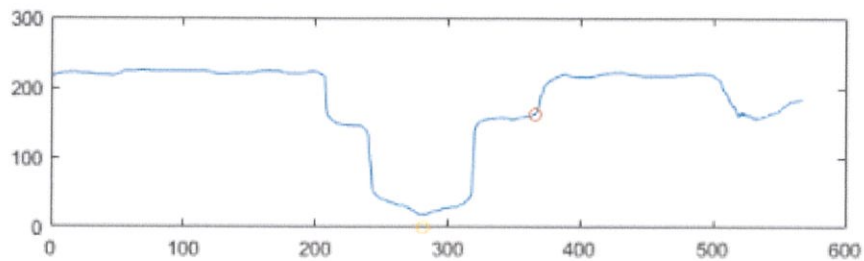


รูปที่ 3.66 (ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไฮโดพลาซิม



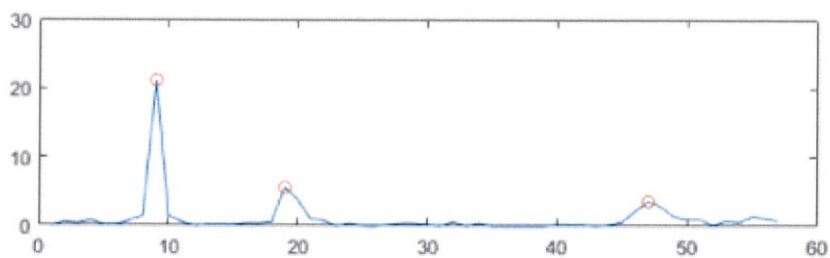
รูปที่ 3.66 (ต่อ) แผนภาพขั้นตอนการระบุตำแหน่งและคำนวณพื้นที่ไฮโดพลาซิม

นำตำแหน่งนิวเคลียสใช้เป็นจุดอ้างอิงในการจำกัดขอบไฮโดพลาซิมของแต่ละจุด โดยเริ่มจากอ่านภาพที่นำมาวิเคราะห์ (imageSelect) เปลี่ยนภาพสีเป็นภาพระดับสีเทา ปรับภาพด้วยวิธีการทางสัญญาณวิทยาเพื่อแยกองค์ประกอบของภาพได้ชัดเจน แบ่งเป็นส่วนนิวเคลียส ไฮโดพลาซิม และพื้นที่หลัง ขจัดสิ่งรบกวนด้วยตัวกรองค่ามัธยฐานให้ภาพเรียบเหมาะแก่วิธีการวิเคราะห์ความแตกต่างของช่วงค่าสีใน 1 แถวพิกเซล เพื่อระบุตำแหน่งขอบของไฮโดพลาซิมทำได้โดยการหมุนภาพทีละ 1 องศา พล็อตค่าระดับสีเทาใน 1 แถวยึดจากตำแหน่งค่า pointX ของนิวเคลียสนั้น ๆ จากรูปที่ 3.65 ลักษณะกราฟบอกระดับสี พบว่าแบ่งออกเป็น 3 ระดับ



รูปที่ 3.67 ภาพแสดงระดับสีเทาตามแนวแกน y ที่ตำแหน่งจุดศูนย์กลางนิวเคลียส

จากรูปที่ 3.65 ในช่วงที่มีค่าต่ำคือบริเวณนิวเคลียสที่มีระดับสีเทาเข้มถึงดำ ช่วงกลางมีระดับสีเทาอ่อนกว่าช่วงแรกเป็นสีของไซโตพลาซึม และส่วนค่าระดับสีเทาสูงคือส่วนพื้นหลังมีสีเทาอ่อนถึงขาว รูปแบบกราฟสามารถนำคำนวณค่าความชันที่เปลี่ยนแปลง เพื่อระบุบริเวณรอยต่อของสีที่เปลี่ยนอย่างชัดเจน คือช่วงแยกส่วนของนิวเคลียส ไซโตพลาซึม และพื้นหลัง ค่าความชันคำนวณจากข้อมูลจำนวน 10 จุด จากกราฟค่าระดับสีเทา



รูปที่ 3.68 ภาพกราฟแสดงความชันของกราฟระดับสีเทาตามแนวแกน y ที่ตำแหน่งจุดศูนย์กลางนิวเคลียสทุก 10 จุด

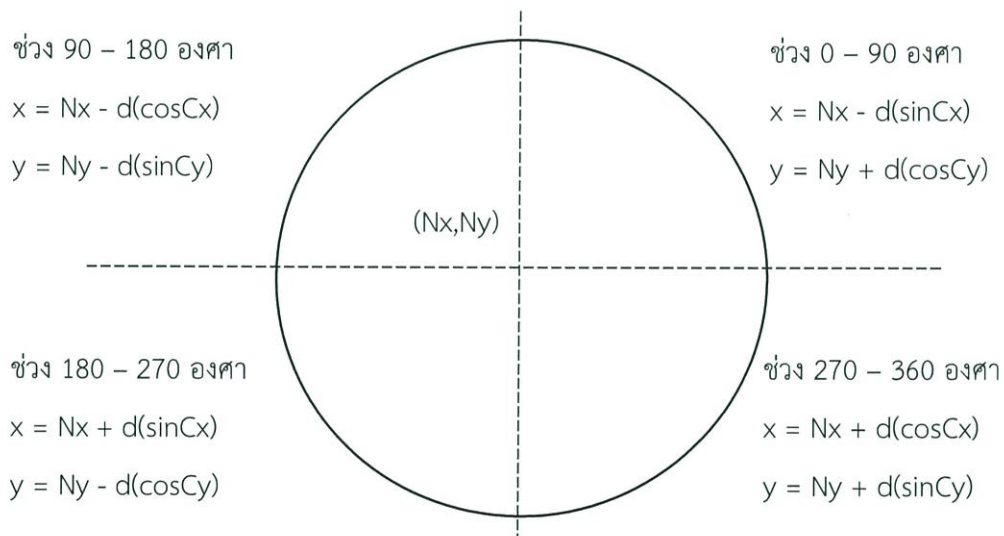
ดังนั้นข้อมูลช่วงที่ค่าระดับสีเปลี่ยนแปลงอย่างทันทีจะมีค่าความชันสูงมาก จึงเกิดจุดยอดบนกราฟแสดงผลค่าความชันดังรูปที่ 3. โดยค่าความชันที่สูงสุดคือรอยต่อระหว่างนิวเคลียสกับไซโตพลาซึมมีลักษณะเป็นจุดยอดบนกราฟ แบ่งเป็น 3 กรณี 1.คือมีจุดยอดมากกว่า 1 จุด 2.มีจุดยอด 1 จุด 3. มีจุดยอดน้อยกว่า 1 จุด

กรณี มีจุดยอดมากกว่า 1 จุด จุดยอดสูงสุดคือขอบนิวเคลียส จุดยอดลำดับต่อมาจึงเป็นขอบของไซโตพลาซึม ระบุตำแหน่งเพื่อหาระยะระหว่างตำแหน่งนิวเคลียสอ้างอิงกับขอบของไซโตพลาซึม

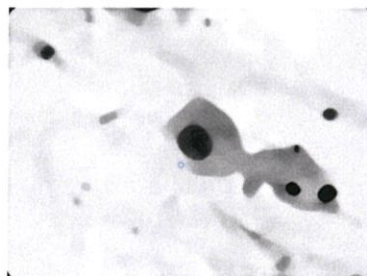
กรณี มีจุดยอดเท่ากับ 1 จุด อาจมาจากภาพมูที่ตัดเพียงนิวเคลียส จุดยอดที่ได้จึงเป็นขอบของนิวเคลียส จึงใช้ระยะระหว่างตำแหน่งนิวเคลียสอ้างอิงกับขอบนิวเคลียส

กรณี มีจุดยอดน้อยกว่า 1 จุด อาจเกิดได้จากภาพที่นำมาวิเคราะห์ในองค์านั้นมีการกระจายตัวของค่าสีใกล้เคียงกัน จึงทำให้ความชันจากกราฟค่าสีเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจึงไม่เกิดมุมหรือช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน จึงไม่ใช้ระยะในตำแหน่งนี้มาวิเคราะห์ จากระยะที่ได้สามารถคำนวณตำแหน่งขอบของไซโตพลาซึมในแต่ละองศาจากภาพ (imageSelect) ที่ไม่ผ่านการหมุนได้จากความสัมพันธ์ระหว่างมุมที่ภาพหมุนกับระยะขอบที่ใช้ แบ่งออกเป็น 4 ส่วนของวงกลม คือช่วง 0 – 90, 90 – 180, 180 – 270 และ 270 – 360 องศา

ให้ ตำแหน่ง X ของขอบเป็น C_x ตำแหน่ง pointX นิวเคลียสอ้างอิงเป็น N_x
ตำแหน่ง Y ของขอบเป็น C_y ตำแหน่ง pointY นิวเคลียสอ้างอิงเป็น N_y
ระยะในแต่ละองศาเป็น d



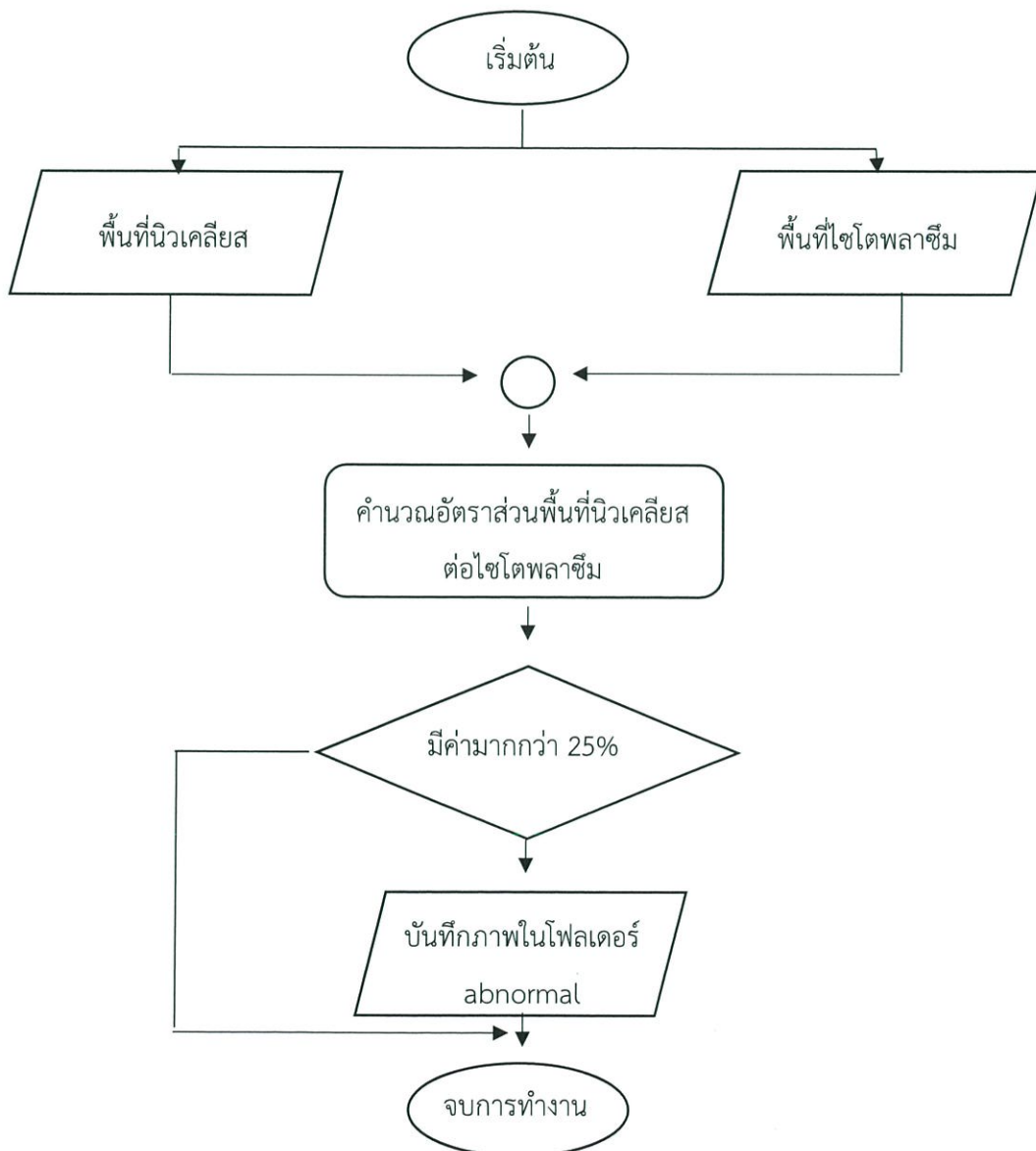
รูปที่ 3.69 แสดงการแบ่งกลมที่ใช้ในการหมุนภาพ



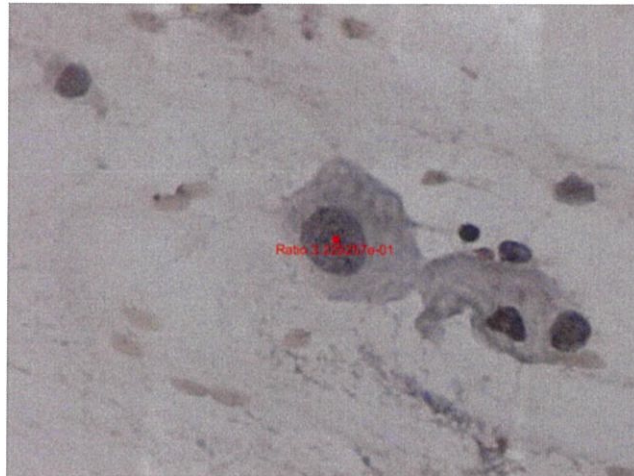
รูปที่ 3.70 ภาพแสดงการระบุตำแหน่งของขอบไซโตพลาซึมในแต่ละองศา

ขั้นตอนที่ 5 คำนวณอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม

คำนวณจากพื้นที่นิวเคลียสในแต่ละตำแหน่งต่อพื้นที่ของไซโตพลาซึมตำแหน่งนั้น ๆ หากเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติขนาดของนิวเคลียสและไซโตพลาซึมจะใกล้เคียงกัน โดยอัตราส่วนที่ได้นั้นจะต้องน้อยกว่าร้อยละ 25



รูปที่ 3.71 แผนภาพขั้นตอนการคำนวณอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม



รูปที่ 3.72 ภาพแสดงการระบุเซลล์ผิดปกติ

บันทึกภาพเซลล์ที่มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสกับไซโตพลาซึมมากกว่าร้อยละ 25 ลงโพลเดอร์เซลล์ผิดปกติเพื่อคัดกรองในเซลล์ที่มีแนวโน้มผิดปกติ

3.4. การทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมประมวลผลภาพ

3.4.1. การตรวจสอบความถูกต้องตำแหน่งพิกัดของมุมในการตัดภาพ

- สังเกตตำแหน่งพิกัดของมุมในการตัดภาพ
- หาดำแหน่งพิกัดของมุมในการตัดภาพ ด้วยการใช้โปรแกรม ImageJ
- เปรียบเทียบพื้นที่ได้ คำนวณความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์จากโปรแกรมทดสอบ

3.4.2. การตรวจสอบพื้นที่ของนิวเคลียส

- คำนวณพื้นที่ของนิวเคลียสจากโปรแกรมที่ทำการทดสอบ
- หาพื้นที่ด้วยการใช้โปรแกรม ImageJ
- เปรียบเทียบพื้นที่ได้ คำนวณความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์จากโปรแกรมทดสอบ

3.4.3. การตรวจสอบพื้นที่ของไซโตพลาซึม

- คำนวณพื้นที่ของไซโตพลาซึม จากโปรแกรมที่ทำการทดสอบ
- หาดำแหน่งพิกัดของมุมในการตัดภาพ ด้วยการใช้โปรแกรม ImageJ
- เปรียบเทียบพื้นที่ได้ คำนวณความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์จากโปรแกรมทดสอบ

3.4.4. ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์

- จำนวนพื้นที่นิวเคลียสและไซโตพลาซึมจากโปรแกรมที่ทำการทดสอบ
- จำนวนอัตราส่วนพื้นที่
- ประเมินผลความถูกต้องของการตรวจจับและคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ของเซลล์ปกติ

โดยมีค่ากำหนดต้องมีอัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึมน้อยกว่า 20%

- จำนวนความไวและความจำเพาะ ซึ่งเป็นค่าวัดทางสถิติที่ใช้ประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบที่ให้ผลเป็นสองส่วน

ความไว คือ สัดส่วนของผลบวกที่เป็นจริงสำหรับภาวะนั้น

ความจำเพาะ คือ สัดส่วนของผลลบที่เป็นจริงสำหรับภาวะนั้น ๆ

ภาพอ้างอิง

ผลการทดสอบ		True	False
	Positive	True positive	False positive
	Negative	True negative	False negative

รูปที่ 3.73 แสดงการประเมินความไวและความจำเพาะของการทดสอบ

ดังนั้น
 จริงและเป็นบวก (True positive) คือ เป็นไปตามสมมุติฐานนั้น และผลที่ได้ถูกต้อง
 จริงและเป็นลบ (True negative) คือ เป็นไปตามสมมุติฐานนั้น และผลที่ได้ไม่ถูกต้อง
 ไม่จริงและเป็นบวก (False positive) คือ ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานนั้น และผลที่ได้ถูกต้อง
 ไม่จริงและเป็นลบ (False negative) คือ ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานนั้น และผลที่ไม่ได้ถูกต้อง

บทที่ 4

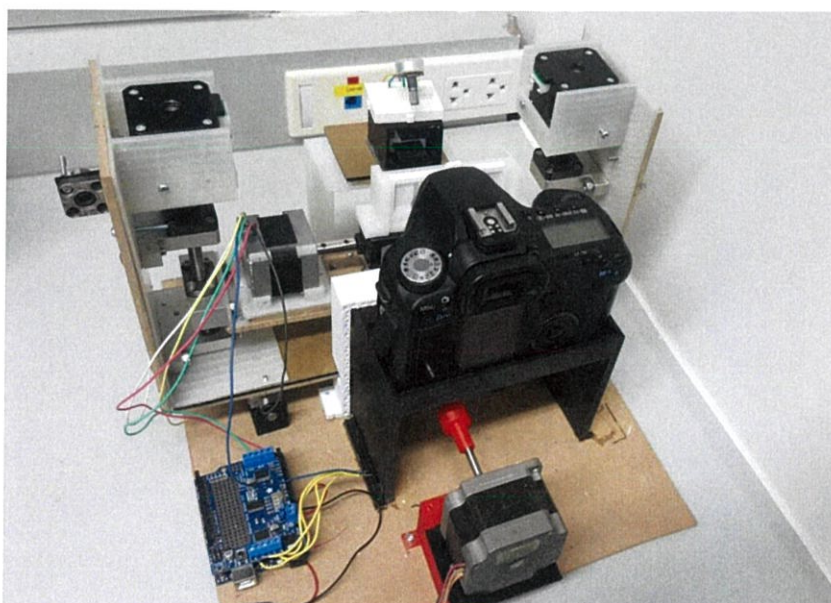
ผลการทดลองและอภิปรายผล

อุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสงสำหรับวิเคราะห์ภาพสไลด์แปปสเมียร์นั้นเป็นอุปกรณ์ในการช่วยตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกโดยการบันทึกภาพเซลล์จากปากมดลูกและทำการวิเคราะห์ประมวลผลภาพ เพื่อวิเคราะห์ลักษณะและรูปร่างของเซลล์ ต้องทดสอบความสามารถของอุปกรณ์ในส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ภาพรวมของอุปกรณ์ทั้งหมด ทดสอบคุณภาพของแหล่งกำเนิดแสงและคอนเดนเซอร์จากการวัดความสม่ำเสมอบนจุดต่าง ๆ ของสไลด์ของแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่ตกลงบนสไลด์เปล่า ทดสอบความเสถียรภาพของระบบมอเตอร์ไรซ์สแตจและทดสอบวัดความละเอียดของภาพที่ถ่ายได้จากตัวอุปกรณ์

4.1 ภาพรวมของอุปกรณ์

โดยรวมแล้วอุปกรณ์แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ตัวอุปกรณ์ถ่ายและบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์ตัวอย่าง และโปรแกรมประมวลผลวิเคราะห์เซลล์ชนิดปกติบนรูปภาพ

1. ตัวอุปกรณ์ถ่ายและบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์ตัวอย่าง



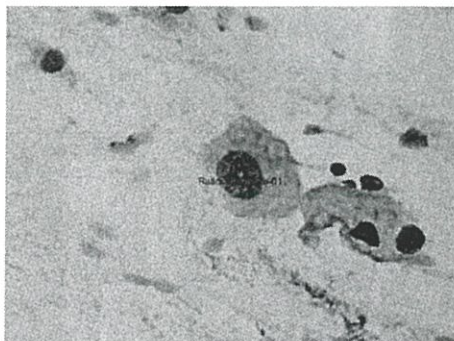
รูปที่ 4.1 อุปกรณ์เซนเซอร์เชิงแสงสำหรับวิเคราะห์ภาพสไลด์ Pap smear

อุปกรณ์มีขนาดกว้าง 30 เซนติเมตร ยาว 32 เซนติเมตรและมีความสูง 23 เซนติเมตร ในส่วนการเรียงแสงแหล่งกำเนิดแสงสามารถปรับความเข้มแสงได้ในช่วง โดยภาพที่ได้จะมีกำลังขยาย 40 เท่า และเซนเซอร์ขนาดกว้าง 23 มิลลิเมตรและยาว 14.9 มิลลิเมตรเป็นตัวรับภาพจากเลนส์ใกล้วัตถุ และเนื่องจากขนาดภาพที่ได้จากเลนส์ใกล้วัตถุ มีขนาดกว้าง 22 มิลลิเมตรและยาว 22 มิลลิเมตร ทำให้ไม่สามารถเก็บภาพทั้งหมดจากเลนส์ใกล้วัตถุได้ ในส่วนมอเตอร์โรตารีสเตจ สามารถเลื่อนแท่นยึดสไลด์ใน 3 แนวแกน ได้แก่ แนวแกนนอน แนวแกนตั้งและแนวแกนความลึก

แนวแกนนอนและแนวแกนตั้งจะเป็นการขยับแท่นยึดสไลด์แปสเมียร์เพื่อให้เกิดการบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์ตัวอย่างที่อยู่ตรงบริเวณต่าง ๆ ได้ขนาดกว้างสุด 1 เซนติเมตรและยาว 4 เซนติเมตร โดยใช้สเต็ปเปอร์มอเตอร์เป็นตัวขับเคลื่อนของบอลกรูในแนวแกนนอนและตั้ง ส่วนในแนวแกนความลึกเป็นการขยับหาระยะโฟกัสของเลนส์ใกล้วัตถุเพื่อให้ได้ภาพที่คมชัดโดยใช้สเต็ปเปอร์มอเตอร์เป็นตัวหมุนไมโครมิเตอร์

2. โปรแกรมประมวลผลวิเคราะห์เซลล์ผิดปกติบนรูปภาพ

กระบวนการประมวลผลภาพเพื่อวิเคราะห์ภาพเซลล์ผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกโดยวิเคราะห์จากการคำนวณอัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม ซึ่งมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ไซโตพลาซึมจัดว่าเป็นเซลล์ปกติ และมากกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ไซโตพลาซึมจัดว่าเป็นเซลล์ผิดปกติ เนื่องจากมีความคลาดเคลื่อนจากการหาพื้นที่นิวเคลียสและไซโตพลาซึม จึงกำหนดค่าความผิดพลาดไว้ที่ $\pm 5\%$ ดังนั้น ค่าที่กำหนดแยกเซลล์ผิดปกติคือเซลล์ที่มีค่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึมมากกว่าร้อยละ 20 จัดเป็นเซลล์ผิดปกติ โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ภาพเริ่มจากการปรับภาพให้เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ระบุและคำนวณหาพื้นที่นิวเคลียส ระบุและคำนวณหาพื้นที่ไซโตพลาซึมและหาอัตราส่วนระหว่างพื้นที่นิวเคลียสและพื้นที่ไซโตพลาซึม หลังจากระบุเซลล์ที่มีความผิดปกติ ภาพเซลล์ดังกล่าวจะถูกแยกออกมาบันทึกไว้เพื่อการตรวจสอบและวินิจฉัยต่อไป





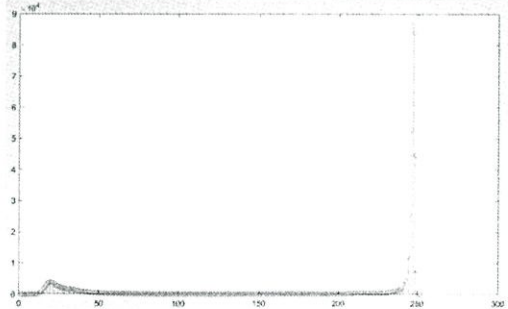
รูปที่ 4.2 ภาพเซลล์บนสไลด์แปสเมียร์ที่ผ่านการประมวลผลโดยโปรแกรม

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์บันทึกภาพและแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ

4.2.1 ความสม่ำเสมอของแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีผลต่อความคมชัดของภาพที่ได้ของอุปกรณ์

ทดลองโดยการถ่ายภาพสไลด์เปล่า นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้ฟังก์ชันจากฮิสโตแกรมของภาพ ผ่านโปรแกรม MATLAB เพื่อวิเคราะห์ดูความสม่ำเสมอของแสงที่ตกลงบนสไลด์เปล่า ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.1 บันทึกผลการทดสอบความสม่ำเสมอของแหล่งกำเนิดแสง

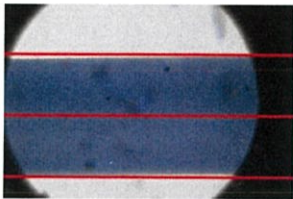
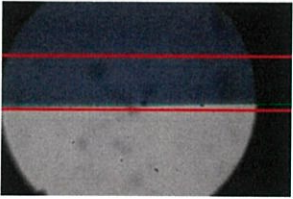

ภาพที่ได้จากการถ่ายสไลด์เปล่า	
ภาพขาวดำของภาพสไลด์เปล่า	
ฮิสโตแกรมของภาพสไลด์เปล่า	

จากตารางที่ 4.1 บันทึกผลการทดสอบความสม่ำเสมอของแหล่งกำเนิดแสง โดยการบันทึกภาพแสงที่ตกลงบนสไลด์เปล่าพบว่าแสงที่ตกลงมาบนสไลด์มีความสม่ำเสมอจากฮิสโตแกรมของภาพขาวดำที่มีภาพที่มีสีดำจากขอบและมีสีขาวจากบนสไลด์ ไม่มีสีเทาที่แสดงถึงความไม่สม่ำเสมอของแสงปรากฏอยู่บนฮิสโตแกรมภาพ

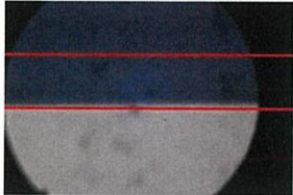

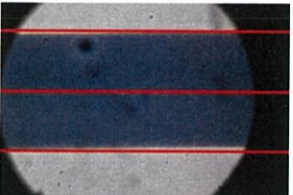

4.2.2 ความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับแต่ละแกน

ในแนวแกนนอน (ตามแนวแกน X) ทดสอบโดยการบันทึกภาพเส้นตรงบนสไลด์แล้วขยับตามแนวแกนนอน บันทึกภาพที่ได้จากการขยับที่ละสเต็ป สเต็ปละ 98 องศาของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ หรือระยะ 0.55 มิลลิเมตร จำนวน 10 ครั้ง จากนั้นค่าภาพที่ได้ต่อเรียงกันแล้วหาดำแหน่งเส้นกลางของเส้นตรง กำหนดเส้นกลางภาพแรกเป็นภาพอ้างอิงแล้วเปรียบเทียบตำแหน่งกลางเส้นตรงในภาพแต่ละภาพ ในการวัดดูความเที่ยงตรงในการเคลื่อนที่ของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ


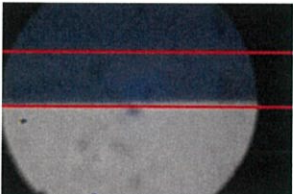

ตารางที่ 4.2 บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนนอน

แกนแนวนอน (แกน X)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
 ภาพอ้างอิง	19.30	-
	9.31	51.76165803
	22.545	16.8134715

ตารางที่ 4.2(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนนอน

แกนแนวนอน (แกน X)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	9.23	52.1761658
	19.05	-1.295336788
	15.28	20.82901554
	12.235	36.60621762

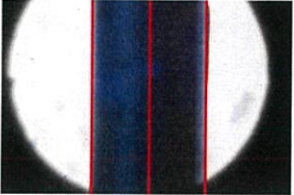
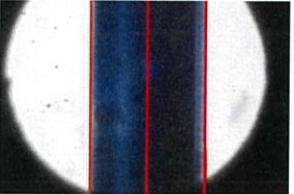
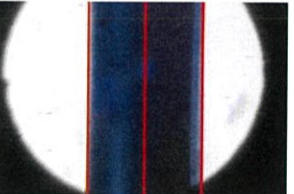
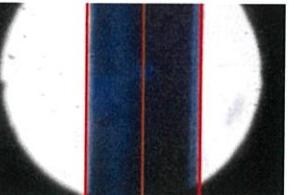
ตารางที่ 4.2(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนนอน

แกนแนวนอน (แกน X)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	21.465	11.21761658
	8.955	53.60103627
	22.65	17.35751295





จากตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนนอนจากการเปรียบเทียบตำแหน่งจุดกลางของเส้นตรงกับภาพอ้างอิงพบว่าอุปกรณ์มีความคลาดเคลื่อนของความเสถียรภาพในการเคลื่อนที่ในแนวแกนนอนเท่ากับร้อยละ 29.07311

ในแนวแกนตั้ง (ตามแนวแกน Y) ทดสอบโดยการบันทึกภาพเส้นตรงบนสไลด์แล้วขยับตามแนวแกนตั้ง บันทึกภาพที่ได้จากการขยับทีละสเต็ป สเต็ปละ 72 องศาของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ หรือระยะ 0.39 มิลลิเมตร จำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำภาพที่ได้ต่อเรียงกันแล้วหาตำแหน่งเส้นกลางของเส้นตรง กำหนดเส้นกลางภาพแรกเป็นภาพอ้างอิง แล้วเปรียบเทียบตำแหน่งกลางเส้นตรงในแต่ละภาพ ในการวัดดูความเที่ยงตรงในการเคลื่อนที่ของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ

ตารางที่ 4.3 บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนตั้ง

แกนแนวตั้ง(แกน Y)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
 ภาพอ้างอิง	25.74	-
	25.865	0.485625486
	25.865	0.485625486
	25.950	0.815850816

ตารางที่ 4.3(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนตั้ง

แกนแนวตั้ง(แกน Y)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	26.80	4.118104118
	27.475	6.74048174
	27.790	7.964257964
	28.170	9.440559441

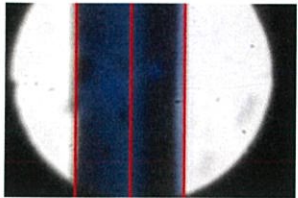
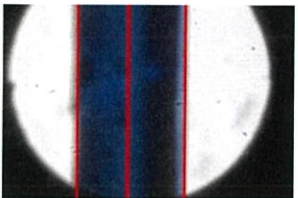
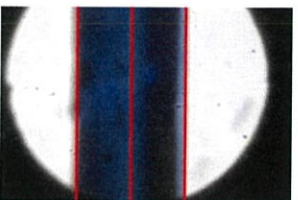
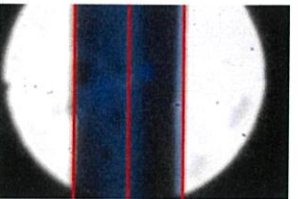
ตารางที่ 4.3(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนตั้ง

แกนแนวตั้ง(แกน Y)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	28.365	10.1981352
	28.30	9.945609946

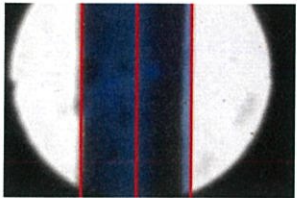
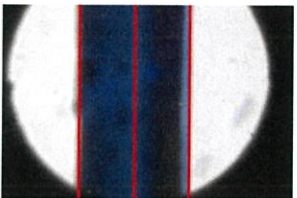
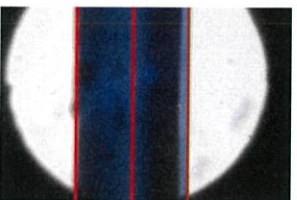
จากตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนตั้ง จากการเปรียบเทียบตำแหน่งจุดกลางของเส้นตรงกับภาพอ้างอิงพบว่าอุปกรณ์มีความเสถียรภาพของการเคลื่อนที่ในแนวแกนนอนเท่ากับร้อยละ 5.577139

ในแนวแกนลึก (ตามแนวแกน Z) ทดสอบโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวตั้ง และแนวนอนบนสไลด์แล้วขยับตามแนวแกนลึก บันทึกภาพที่ได้จากการขยับทีละสเต็ป สเต็ปละ 15 องศาของสเต็ปเปอร์มอเตอร์ หรือระยะ มิลลิเมตร อย่างละจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาดำแหน่งเส้นกลางของเส้นตรงแนวตั้งและแนวนอน กำหนดเส้นกลางภาพแรกเป็นภาพอ้างอิง แล้วเปรียบเทียบตำแหน่งกลางเส้นตรงในภาพแต่ละภาพ ในการวัดดูความเที่ยงตรงในการเคลื่อนที่ของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติ

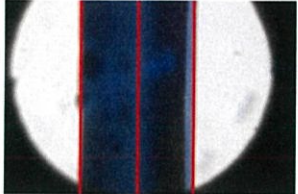

ตารางที่ 4.4 บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวตั้ง

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
 ภาพอ้างอิง	21.67	
	22.015	1.59206276
	22.56	4.107060452
	22.67	4.614674665

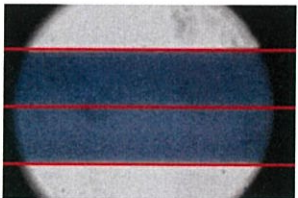
ตารางที่ 4.4(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวตั้ง

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	22.86	5.491462852
	22.84	5.399169359
	22.925	5.791416705
	23.01	6.183664052

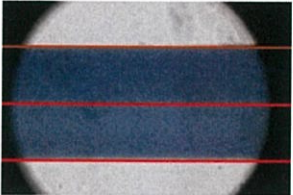
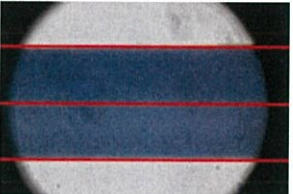
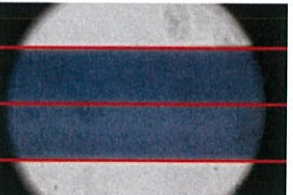
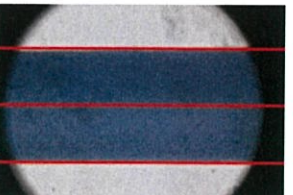
ตารางที่ 4.4(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวตั้ง

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	22.945	5.883710198
	22.99	6.091370558

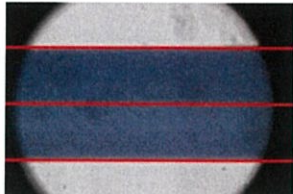

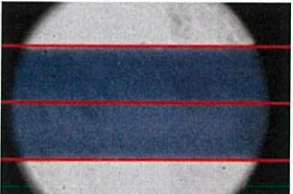
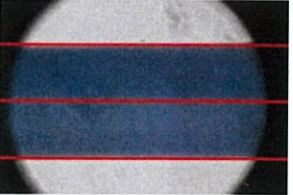
ตารางที่ 4.5 บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวนอน

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
 ภาพอ้างอิง	17.695	-


ตารางที่ 4.5(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวนอน

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	17.695	0
	17.610	0.480362
	17.525	0.960723
	17.420	1.554111

ตารางที่ 4.5(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวนอน

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	17.525	0.960723
	17.570	0.706414
	17.420	1.554111
	17.525	0.960723

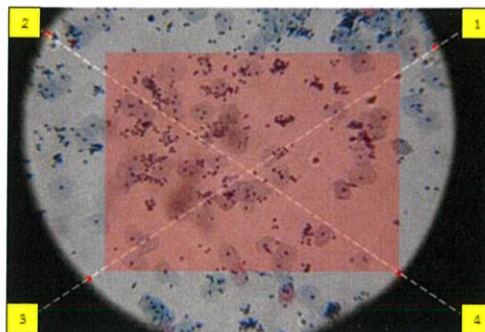
ตารางที่ 4.5(ต่อ) บันทึกผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึกโดยการบันทึกภาพเส้นตรงแนวนอน

แกนแนวลึก (แกน Z)		
ภาพที่บันทึกได้	ตำแหน่งกลางเส้นตรง (เซนติเมตร)	ค่าความผิดพลาดเทียบกับ ภาพอ้างอิง
	17.525	0.960723

จากตารางที่ 4.4 และ 4.5 ผลการทดสอบความเสถียรภาพของแท่นยึดเคลื่อนที่อัตโนมัติในการขยับตามแนวแกนลึก ว่าเมื่อขยับแกนดังกล่าวจะมีผลไปยังแกนอื่น ๆ หรือไม่ พบว่าจากการเปรียบเทียบตำแหน่งจุดกลางของเส้นตรงกับภาพอ้างอิงพบว่าอุปกรณ์มีความคลาดเคลื่อนในความเสถียรภาพของการเคลื่อนที่ในแนวแกนลึกที่ส่งผลไปยังแนวตั้ง เท่ากับร้อยละ 5.017177 และส่งผลไปยังแกนนอน ร้อยละ 0.90421

4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมวิเคราะห์และประมวลผล

4.3.1 การตัดขอบภาพ ทดสอบโดยการเปรียบเทียบภาพ ตรวจสอบโดยการเปรียบเทียบพิกัดที่ได้จากวิธีการระบุพิกัดโดยเปรียบเทียบค่าระดับสีเทา กับพิกัดที่สามารถระบุได้โดยโปรแกรมสำเร็จรูป



รูปที่ 4.3 ภาพแสดงจุดเปรียบเทียบเพื่อเลือกตัดภาพ

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนของตำแหน่งตัดภาพจากขอบจริง

ลำดับ	ด้าน	ตำแหน่งขอบจริง		ตำแหน่งที่ได้	ความคลาดเคลื่อน	
1	1	X	4221	4204	17	
		y	357	366	9	
	2	X	392	402	10	
		Y	269	268	1	
	3	X	849	872	23	
		Y	2589	2587	2	
	4	X	3783	3782	1	
		Y	2529	2521	8	
	เฉลี่ย					8.87
	2	1	X	4250	4238	12
y			320	343	23	
2		X	405	407	2	
		Y	273	271	2	
3		X	884	905	21	
		Y	2574	2565	9	
4		X	3778	3767	21	
		Y	2517	2511	6	
เฉลี่ย					12	

ตารางที่ 4.6(ต่อ) แสดงค่าความคลาดเคลื่อนของตำแหน่งตัดภาพจากขอบจริง

ลำดับ	ด้าน	ตำแหน่งขอบจริง		ตำแหน่งที่ได้	ความคลาดเคลื่อน	
3	1	X	4235	4238	3	
		y	333	343	10	
	2	X	412	415	3	
		Y	265	276	11	
	3	X	887	896	9	
		Y	2565	2571	6	
	4	X	3772	3763	9	
		Y	2514	2508	6	
	เฉลี่ย					7.13
	4	1	X	4231	4234	3
Y			341	346	5	
2		X	412	414	2	
		Y	273	276	3	
3		X	870	887	3	
		Y	2573	2577	4	
4		X	3789	3775	14	
		Y	2522	2516	6	
เฉลี่ย					5	

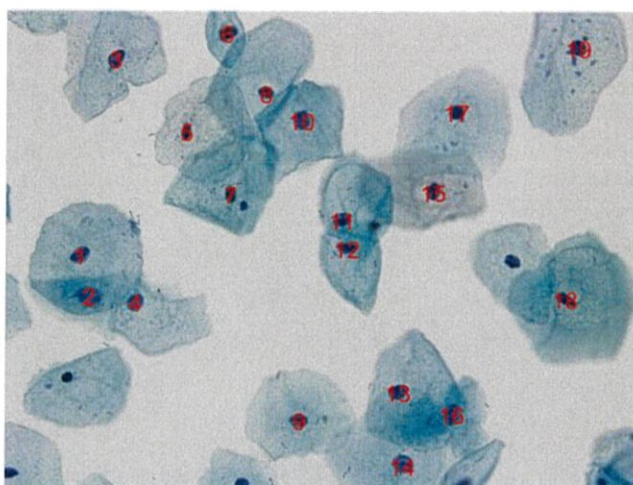
จากตารางที่ ตำแหน่งมุมการตัดภาพในแต่ละด้านของคู่อันดับ x, y (Quadrant) โดยมีจุดเริ่มต้นตรงกลางภาพ ให้ Q แทน Quadrant จะได้ว่า

ตำแหน่ง Q1 คลาดเคลื่อนเฉลี่ย 8.87 พิกเซล ตำแหน่ง Q2 คลาดเคลื่อนเฉลี่ย 12 พิกเซล

ตำแหน่ง Q1 คลาดเคลื่อนเฉลี่ย 7.13 พิกเซล ตำแหน่ง Q1 คลาดเคลื่อนเฉลี่ย 5 พิกเซล

การใช้วิธีการกำหนดค่าระดับสีเทาเพื่อทำการระบุขอบภาพตามแนวเส้นทแยงมุมของภาพสามารถใช้ได้โดยมีความคลาดเคลื่อนเล็กน้อย พิกัดที่นำมาตัดภาพคลาดเคลื่อนร้อยละไม่เกิน 10 เมื่อเปรียบเทียบกับโปรแกรมสำเร็จรูป ImageJ

4.3.2 การหาพื้นที่นิวเคลียสของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์ ทดสอบโดยการเปรียบเทียบความแม่นยำของโปรแกรมในการคำนวณหาพื้นที่นิวเคลียสโดยใช้วิธีการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean เปรียบเทียบกับขนาดพื้นที่ที่หาได้จากโปรแกรม ImageJ



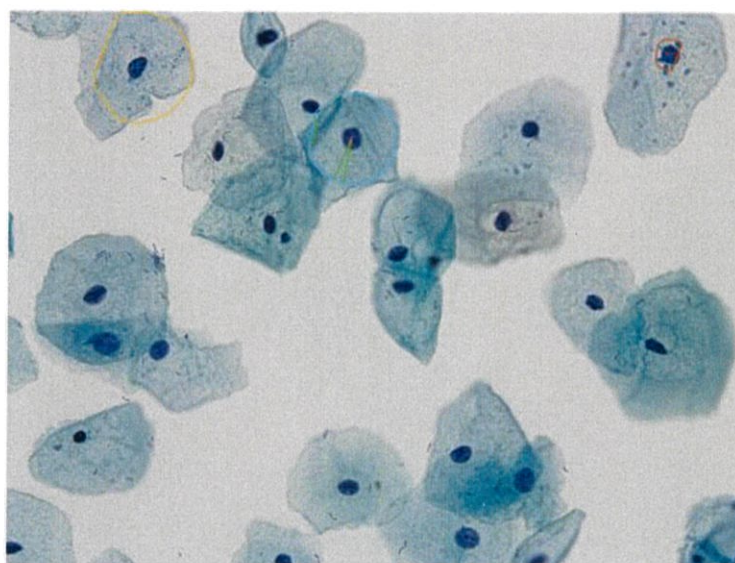
รูปที่ 4.4 ภาพแสดงนิวเคลียสที่กระจายอยู่บนสไลด์แปปสเมียร์

ตารางที่ 4.7 ผลการหาพื้นที่นิวเคลียสจากการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean

ลำดับ	พื้นที่จริง (ตารางพิกเซล)	พื้นที่ได้ (ตารางพิกเซล)	ค่าความคลาดเคลื่อน (ตารางพิกเซล)
1	1237	1039	144
2	1754	1021	733
3	1334	1179	155
4	968	897	71
5	747	629	118
6	978	1043	65
7	605	716	111
8	717	664	53
9	1077	777	300

จากตารางที่ 4.6 ผลการหาพื้นที่นิวเคลียสของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์ จากการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean เมื่อเทียบกับพื้นที่ของนิวเคลียสที่คำนวณได้จากโปรแกรม ImageJ พบว่าการคำนวณหาพื้นที่จากการแยกสีภาพด้วยวิธี k-mean พื้นที่นิวเคลียสมีความคลาดเคลื่อนร้อยละ 16.49

4.3.3 การหาพื้นที่ไซโตพลาสซึมของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์ ทดสอบโดยการเปรียบเทียบความแม่นยำของโปรแกรมในการคำนวณหาพื้นที่ไซโตพลาสซึมเปรียบเทียบกับขนาดพื้นที่ที่หาได้จากโปรแกรม ImageJ



รูปที่ 4.5 แสดงพื้นที่ไซโตพลาสซึม

ตารางที่ 4.8 ผลการหาพื้นที่ไซโตพลาสซึมของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์

ลำดับ	พื้นที่จริง (ตารางพิกเซล)	พื้นที่ได้ (ตารางพิกเซล)	ค่าความแตกต่าง (ตารางพิกเซล)
1	44523	17993	26530
2	34098	21183	12915

จากตารางที่ 4.7 ผลการหาพื้นที่ไซโตพลาสซึมของเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์ จากนำตำแหน่งนิวเคลียสใช้เป็นจุดอ้างอิงในการจำกัดขอบไซโตพลาสซึมของแต่ละจุด ระดับสีเทาและการหมุนภาพทีละ 1 องศา เมื่อเทียบกับพื้นที่ของไซโตพลาสซึมที่คำนวณได้จากโปรแกรม ImageJ พบว่าการคำนวณหาพื้นที่ไซโตพลาสซึมมีความคลาดเคลื่อนร้อยละ 48.72

4.3.4 ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์ ทดสอบโดยนำภาพเซลล์ที่มีความปกติและผิดปกติมาผ่านโปรแกรมประมวลผลภาพ แล้วนำผลมาสรุปเป็นความถูกต้องในการวินิจฉัยของโปรแกรม

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์เซลล์ปกติของโปรแกรม

ลำดับ	พื้นที่นิวเคลียส	พื้นที่ไซโตพลาซึม	อัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม	ผลที่ได้
1	1299	27450	0.0473	True positive
2	1563	24886	0.0492	True positive
3	1337	21058	0.0635	Error
4	2421	65148	0.0372	True positive
5	1848	54483	0.0339	True positive
6	2082	41555	0.0501	True positive
7	1491	40109	0.0372	True positive
8	2005	58087	0.0345	True positive
9	1331	63237	0.0210	True positive
10	1322	45244	0.0292	True positive
11	2837	81033	0.3501	Error
12	983	57288	0.0172	Error
13	2119	23556	0.0900	Error
14	1205	30850	0.0391	Error
15	1046	72.7256	14.3828	Error
16	1743	16.1251	108.0923	Error

True positive คือ เซลล์ปกติ และ โปรแกรมวิเคราะห์ว่าเป็นเซลล์ปกติ

True negative คือ เซลล์ปกติ และ โปรแกรมวิเคราะห์ว่าไม่เป็นเซลล์ปกติ

Error คือ ตรวจจับบริเวณที่ไม่ใช่เซลล์

จากตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์เซลล์ปกติของโปรแกรม โดยการนำภาพเซลล์ปกติมาผ่านโปรแกรมประมวลผลภาพ พบว่าโปรแกรมสามารถวิเคราะห์ภาพเซลล์ที่มีความปกติได้ถูกต้อง (True positive) ร้อยละ 56.25 และไม่มีการวินิจฉัยที่ผิด แต่ไม่สามารถตรวจจับเซลล์ถึงได้ร้อยละ 43.75

ตารางที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์ภาพเซลล์ที่มีความผิดปกติของโปรแกรม

ลำดับ	พื้นที่นิวเคลียส	พื้นที่ไซโตพลาซึม	อัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสต่อไซโตพลาซึม	ผลที่ได้
1	5196	27502	0.1889	True negative
2	5338	15846	0.3369	True positive
3	2422	19648	0.1233	True negative
4	5728	94069	0.6089	True positive
5	6966	31899	0.2184	True positive
6	3105	14745	0.2106	True positive
7	4935	13766	0.3585	True positive
8	5336	12138	0.4396	True positive
9	3153	22219	0.1419	True negative
10	3523	23986	0.1469	True negative

True positive คือ เซลล์ผิดปกติ และ โปรแกรมวิเคราะห์ว่าเป็นเซลล์ผิดปกติ

True negative คือ เซลล์ผิดปกติ และ โปรแกรมวิเคราะห์ว่าเซลล์ปกติ

Error คือ ตรวจจับบริเวณที่ไม่ใช่เซลล์

จากตารางที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์เซลล์ปกติของโปรแกรม โดยการนำภาพเซลล์ที่มีความผิดปกติมาผ่านโปรแกรมประมวลผลภาพ พบว่าโปรแกรมสามารถวิเคราะห์ภาพเซลล์ที่มีความผิดปกติได้ถูกต้องร้อยละ 60 แต่ยังไม่วินิจฉัยไม่ถูกต้อง ร้อยละ 40 แต่โปรแกรมสามารถจับตำแหน่งเซลล์ที่มีความผิดปกติได้ทั้งหมด

ตารางที่ 4.11 ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์โปรแกรมประมวลผลภาพ

True positive	56.25%
True negative	0
False positive	40%
False negative	60%

จากตารางที่ 4.11 ความสามารถในการวินิจฉัยความผิดปกติของเซลล์ของโปรแกรมประมวลผลภาพพบว่า วิเคราะห์ภาพเซลล์มี True positive, False positive, True negative และ False negative เป็น 56.25%, 40%, 0% และ 18.72% ตามลำดับ

บทที่ 5

บทสรุป

มะเร็งปากมดมีสาเหตุหลักมาจากการได้รับเชื้อไวรัสเอชพีวี โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ 16 และ 18 เชื้อไวรัสเอชพีวีทำให้เกิดการผิดปกติของเซลล์บริเวณปากมดลูกและพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกโดยใช้ระยะเวลาประมาณ 10 ปี มะเร็งปากมดลูกสามารถป้องกันได้ ถ้าหากว่ามีการตรวจพบและรักษาความผิดปกติของเซลล์บริเวณปากมดลูกในระยะแรก ซึ่งเราสามารถทราบได้ด้วยการเข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก วิธีที่มีความนิยมในปัจจุบันคือ การตรวจแปปสเมียร์ เป็นการตรวจดูความผิดปกติของลักษณะเซลล์ของปากมดลูกที่ผ่านการตรึงเซลล์และย้อมสีผ่านการมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงผ่านคณะผู้จัดทำออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่สามารถตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกอัตโนมัติ เป็นอุปกรณ์สำหรับช่วยตรวจหาเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติบนสไลด์แปปสเมียร์ มีประโยชน์สำหรับนักเซลล์วิทยาและโรงพยาบาลท้องถิ่นเพื่อช่วยลดภาระ ความผิดพลาดของนักเซลล์วิทยา และเพิ่มอัตราการเข้ารับการตรวจคัดกรองของผู้หญิงในท้องถิ่นต่าง ๆ หลักการทำงานของอุปกรณ์เซ็นเซอร์เชิงแสงและโปรแกรมประมวลผลภาพ คือ การบันทึกภาพเซลล์บนสไลด์แปปสเมียร์โดยใช้เทคนิคการมองภาพผ่านสายตาของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงส่องผ่านของเซนเซอร์รับภาพ บันทึกภาพเซลล์ในบริเวณต่าง ๆ ทั่วทั้งสไลด์โดยการแทนวางสไลด์เครื่องที่อัตโนมัติ หลังจากนั้นนำภาพที่ได้มาผ่านโปรแกรมประมวลผลภาพตรวจหาเซลล์ที่มีแนวโน้มความผิดปกติและระบุเซลล์ผิดปกติดังกล่าวโดยพิจารณาจากขนาดพื้นที่นิวเคลียสและขนาดไซโตพลาสซึมของเซลล์ เซลล์ที่แนวโน้มความผิดปกติจะมีอัตราส่วนพื้นที่นิวเคลียสต่อพื้นที่ไซโตพลาสซึมมากกว่าร้อยละ 25

ผู้จัดทำได้มีการทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์เซ็นเซอร์เชิงแสงและโปรแกรมประมวลผลภาพ ในการทดสอบอุปกรณ์เซ็นเซอร์เชิงแสงได้มีการทดสอบประสิทธิภาพของระบบแสงและแทนวางสไลด์เคลื่อนที่อัตโนมัติ โดยการทดสอบความสม่ำเสมอของแสงที่ตกลงบนสไลด์และความเสถียรภาพในการเคลื่อนที่ของแทนวางสไลด์ในแนวแกนนอน แนวแกนตั้งและแนวแกนลึก ผลการทดสอบความเสถียรภาพในการเคลื่อนที่ของแทนวางสไลด์ พบว่าการเคลื่อนที่ของแทนวางสไลด์ในแนวแกนตั้ง และแนวแกนความลึก มีความเสถียรภาพร้อยละ 95 ซึ่งถือว่ามีความเสถียรภาพค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับแกนนอนที่มีความเสถียรภาพเพียงร้อยละ 70 โปรแกรมประมวลผลภาพมีการทดสอบความแม่นยำ

ของตัวโปรแกรมในการประมวลผลภาพในขั้นตอนต่าง ๆ ซึ่งประกอบไปด้วย ขั้นตอนการเลือกภาพ เซลล์ที่มีความคมชัด การตัดภาพและระบุขอบ การคัดแยกภาพสไลด์เปล่า การระบุตำแหน่งและ คำนวณพื้นที่นิวเคลียส และระบุขอบเขตและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึม ผลการทดสอบความแม่นยำ ในการเลือกภาพเซลล์ที่มีความคมชัดมีความแม่นยำ 100 เปอร์เซ็นต์ การระบุตำแหน่งและคำนวณ พื้นที่นิวเคลียสและการระบุขอบเขตและคำนวณพื้นที่ไซโตพลาซึมมีความแม่นยำร้อยละ 83.51 และ 51.28 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการคำนวณพื้นที่ของนิวเคลียสและไซโตพลาซึมของโปรแกรมสำเร็จรูป โปรแกรมประมวลผลสามารถวินิจฉัยภาพเซลล์บนสไลด์แปสเมียร์ที่ปกติและมีความผิดปกติได้ มากกว่าร้อยละ 55 ข้อจำกัดของอุปกรณ์เซนเซอร์วิเคราะห์เชิงแสงและโปรแกรมประมวลผลภาพคือ อุปกรณ์ที่ใช้เลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยาย 40 เท่าทำให้ภาพเซลล์ที่ได้มีขนาดค่อนข้างเล็กและขอบภาพ เบลอเพราะแหล่งกำเนิดแสงให้แสงไม่เพียงพอต่อความต้องการของเลนส์ใกล้วัตถุ รวมถึงตำแหน่งสไลด์เคลื่อนที่อัตโนมัติที่อัตโนมัติในแกนนอนที่ยังขาดความเสถียรภาพในการเคลื่อนที่ ในส่วนของ โปรแกรมประมวลผลภาพโปรแกรมสามารถประมวลผลได้ดีในภาพเซลล์บนสไลด์แปสเมียร์ที่เซลล์ไม่เป็นเกาะกลุ่มเป็นก้อน เซลล์มีการทับหรือทับกันไม่มาก และมีจำนวนเซลล์ที่พอเหมาะ

ข้อเสนอแนะ

1. พัฒนาแท่นวางสไลด์เคลื่อนที่อัตโนมัติที่มีความเสถียรมากยิ่งขึ้น
2. ออกแบบและพัฒนาแหล่งจ่ายไฟให้กับอุปกรณ์
3. ออกแบบอุปกรณ์ให้สามารถเปลี่ยนเลนส์ใกล้วัตถุเพื่อเปลี่ยนกำลังขยายของภาพได้
4. พัฒนาโปรแกรมประมวลผลภาพเซลล์และเพิ่มอัลกอริทึมในการบ่งชี้ความผิดปกติของเซลล์
5. พัฒนาโปรแกรมประมวลผลภาพเซลล์ที่จับตัวกันเป็นกลุ่มเซลล์และทับซ้อนกัน
6. พัฒนาอุปกรณ์และโปรแกรมเพื่อให้ได้อุปกรณ์ที่มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้นเพื่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการวินิจฉัยภาพ