



Kahramanmaraş Sütçü İmam University

Journal of Engineering Sciences



Geliş Tarihi : 24.05.2022
Kabul Tarihi : 30.05.2022

Received Date : 24.05.2022
Accepted Date : 30.05.2022

MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLERDE MULTİPL MİYELOM PLAZMA HÜCRELERİNİN TESPİTİ

DETECTION OF MULTIPLE MYELOMA PLASMA CELLS IN MICROSCOPIC IMAGES

Mücahid GÜNAY¹ (ORCID: 0000-0003-1190-4016)
Mehmet TAZE^{2*} (ORCID: 0000-0002-8458-7376)

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye
² Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Enformatik ABD, Kahramanmaraş, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Mücahid GÜNAY, gunay@ksu.edu.tr

ÖZET

Multipl Miyelom, dünyada kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %2'sine sebep olan bir hastalıktır. Bu hastalık nedeniyle normalde vücudun bağışıklık sistemi için antikor üreten plazma hücrelerinin sayısı kontrolsüz bir şekilde artmaktadır. Dolayısıyla plazma hücrelerinin tespiti hastalığın teşhisi için önemli bir faktördür. Hastalığın teşhisi için kemik iliğinden alınan örnekler öncelikle uzmanlar tarafından boyanmaktadır. Daha sonra boyanan örneklerdeki plazma hücreleri mikroskopla incelenmektedir. Bu inceleme işlemi insan hatalarına açık ve aynı zamanda da çok zaman alıcıdır. Bu çalışmada plazma hücrelerinin tespiti için yapay zekâ tekniklerine dayalı otomatik bir sınıflandırıcı geliştirilmiştir. Plazma hücrelerinin tespiti için hücre çekirdeği ve sitoplazması farklı yöntemlerle ayrı ayrı segmente edilmiştir. Hücre çekirdeğine ait bölgeler Çok Seviyeli Eşikleme yöntemiyle, sitoplazması ise U-net evrişimsel sinir ağı kullanılarak segmente edilmiştir. Segmente edilen bölgeler morfolojik işlemlerle iyileştirilmiştir. Segmente edilen çekirdek ve sitoplazma bölgelerinin birlikte değerlendirildiği görüntülerdeki her bir hücre için Çekirdek Hücre Oranı kriterine göre plazma hücreleri tespit edilmiştir. Veri setindeki 85 görüntü üzerinde yöntem uygulandığında, toplam 320 plazma hücresinden 279'u başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda %87,19 duyarlılık, %74,6 kesinlik ve %80,4 F1-skor değerleri elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Multipl Miyelom, Plazma Hücresi, Segmentasyon, U-net, Çok Seviyeli Eşikleme.

ABSTRACT

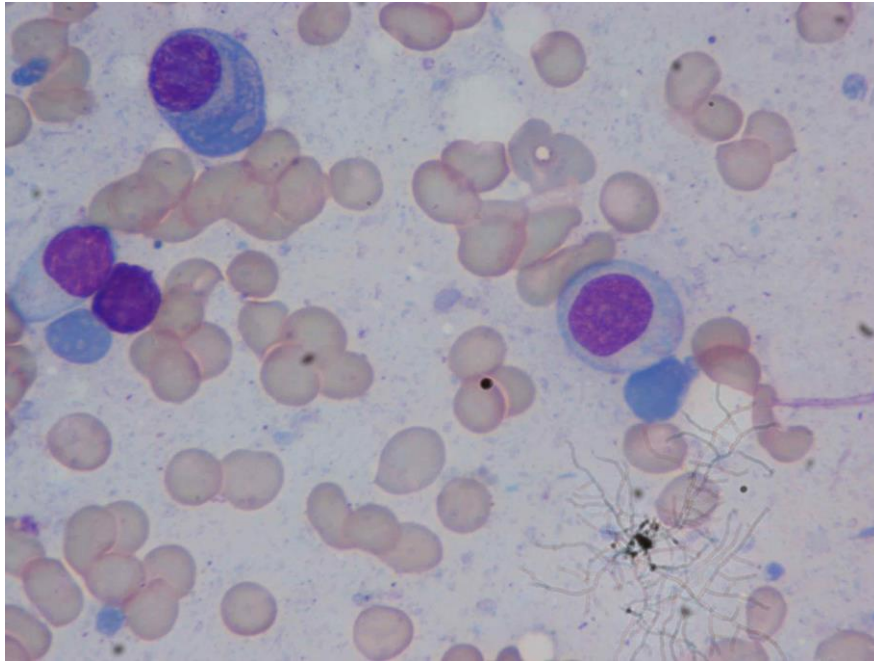
Multiple Myeloma is a disease that causes approximately 2% of cancer-related deaths in the world. Due to this disease, the number of plasma cells that normally produce antibodies for the body's immune system increases uncontrollably. Therefore, detection of plasma cells is an important factor for the diagnosis of the disease. Samples containing plasma cells are examined under a microscope. This examination is prone to human error and also takes a lot of time. In this study, an automatic system was developed for the detection of plasma cells. For the detection of plasma cells, the cell nucleus and cytoplasm were segmented separately by different methods. The regions of the cell nucleus were segmented by Multilevel Thresholding method and the cytoplasm was segmented using U-net convolutional neural network. The segmented regions were enhanced by applied morphological operations. Plasma cells were determined according to the Nuclear Cell Ratio criterion for each cell in the images in which the segmented nuclei and cytoplasm regions were evaluated together. When the proposed method was applied on 85 images of the data set, 279 of 320 plasma cells were successfully detected. As a result of the study, 87.19% sensitivity, 74.6% precision and 80.4% F1-score values were obtained.

Keywords: Multiple Myeloma, Plasma Cell, Segmentation, U-net, Multilevel thresholding

GİRİŞ

Plazma hücreleri, kemik iliğinde üretilen bir tür beyaz kan hücresidir. Multipl Miyelom ise, kemik iliğinde bulunan anormal plazma hücrelerinin oluşturduğu bir kanser türüdür (Saeedizadeh vd., 2016). Tüm kanser hastalıkları içinde Multipl Miyelomun görülme oranı yaklaşık %1'dir (Paing vd., 2022). Bununla beraber tüm kansere bağlı ölümler arasında Multipl Miyelom %2'lik bir orana sahiptir. Birçok kanser türünde olduğu gibi Multipl Miyelom kanserinin erken teşhisi ölüm oranını azaltmaktadır (Paing vd., 2022; Saeedizadeh vd., 2016).

Kemik iliği aspirasyonu yöntemiyle alınan örnekler kimyasal boyama (lekelendirme) işlemiyle renklendirilmektedir. Şekil 1'de görüldüğü gibi örnek mikroskopik görüntü üzerinde lekeli hücre çekirdekleri mor tonlarda ve sitoplazmaları ise mavi tonlardadır. Renklendirilen bu örnekler mikroskopla incelenmekte ve lekeli plazma hücreleri uzman tarafından incelenmektedir. Fakat bu işlem insan hatalarına açık, zaman alıcı ve yorucudur. Bu sebeplerle Multipl Miyelom plazma hücrelerinin yapay zekâ teknikleriyle tespiti oldukça önemlidir (Paing vd., 2022; Gupta vd., 2018; Saeedizadeh vd., 2016). Kan hücreleriyle ilgili literatürde çok sayıda çalışma olmasına rağmen Multipl Miyelomun görüntü işleme yöntemleriyle tespiti için yapılan segmentasyon çalışmaları 2015 yılından sonra başlamıştır (Saeedizadeh vd., 2016). Bunun sebebi plazma hücrelerinin (özellikle plazma hücresine ait sitoplazmanın) segmentasyonunun oldukça zor olmasından kaynaklanmaktadır. Literatürde ortaya konan az sayıdaki çalışma üç farklı veri seti üzerinden çalışılmıştır.



Şekil 1. Veri Setinin İlk Görüntüsü

İlk veri setinde 50 görüntü bulunmakta ve bu veri seti iki farklı çalışmada çalışılmıştır. Bunlar; Saeedizadeh vd., (2016) çalışmalarında, veri setine önişleme, renk uzayı dönüşümü, K-ortalama, Otsu eşikleme, Watershed, SVM sınıflandırıcıları barındıran çok aşamalı yöntemler uygulayarak Multipl Miyelom plazma hücrelerini %55,49 F1-score oranıyla bölütlemiştir (Gupta vd., 2018). Gupta vd., (2017) aynı veri setindeki görüntüler üzerinde sırasıyla renk normalizasyonu, renk uzayı dönüşümleri, morfolojik yöntemler ve level set yöntemleri kullanarak tek plazma hücrelerini 141/165 oranında ve küme plazma hücrelerini 16/21 doğrulukla segmente etmişlerdir.

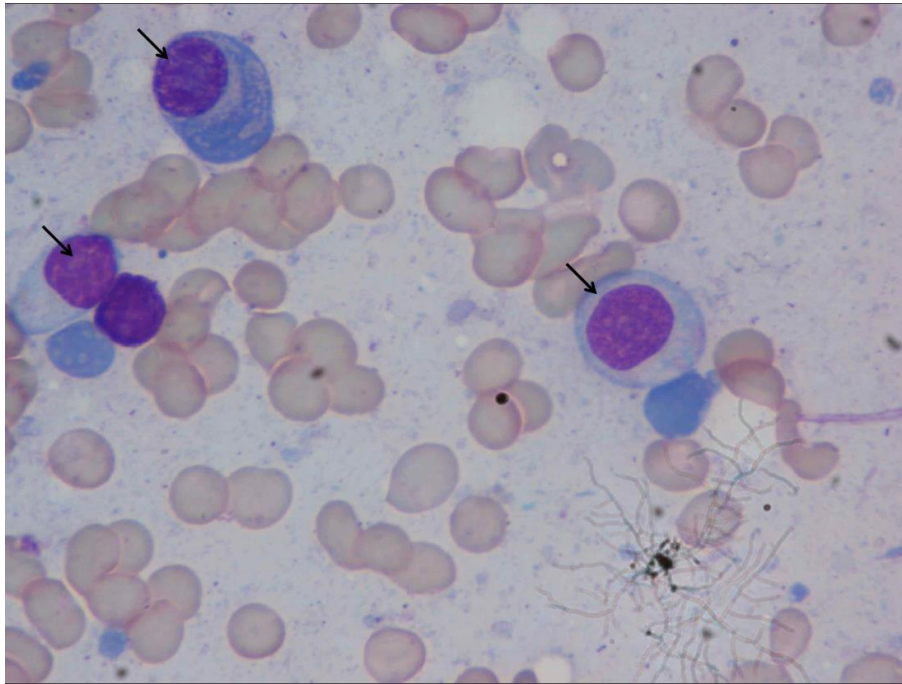
Diğer bir veri seti üzerinde yapılan çalışmalar (Gupta & Gupta, 2019) tarafından 85 görüntü üzerinde denenmiştir. Gupta vd., (2018) çalışmasında kontrast germe renk uzayı dönüşümleri yaparak lekelenmemiş hücreler görüntülerden ayıklanmış, çok fazlı level set ve morfolojik işlemler yardımıyla ilgili alanlar segmente edilmiştir. Bu çalışmanın başarımı Saeedizadeh vd., (2016) çalışması ile kıyaslanmış ve %81,66 Duyarlılık (Recall), %76,56 Kesinlik (Precision) ve %79,03'lük F1-score oranlarına ulaşıldığı vurgulanmıştır. Bu veri setiyle ilgili literatürde başka yayıma rastlanamamıştır.

Üçüncü veri seti SegPC-2021 isimli bir görüntü segmentasyon yarışmasında yayınlanan ve 775 adet Multipl Miyelom plazma hücresi içeren görüntülerden oluşan veri setidir. Yarışmaya konu bu veri seti üzerinde daha çok Mask R-CNN (Faura vd., 2022; Paing vd., 2022; Qiu vd., 2022; Vyshnav vd., 2020), U-Net (Afshin vd., 2021; Vyshnav vd., 2020), DeepLab3+ Modeli (Afshin vd., 2021), ResNet (Faura vd., 2022; Afshin vd., 2021) gibi yapay zekâ ve derin öğrenme temelli segmentasyon yöntemlerinin kullanıldığı uygulamalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, plazma hücrelerinin doğru tespit edilmesi oranı yerine; daha çok yapay zekâ temelli yöntemlerin başarımını ölçmek adına IoU (Intersection-over-Union) değeri gözetilmiş ve çoğu çalışmada %90'ın üzerinde başarımlar elde edilmiştir.

Önerilen bu çalışmada yukarıda bahsedilen ikinci veri seti kullanılmıştır. Önerilen bu çalışmada, çalışmanın esas hedefi Multipl Miyelom kanserinin teşhisi için plazma hücrelerinin doğru tespit edilmesi olduğundan bu doğrultuda açıklamalı görüntüleri de beraberinde sunan, yukarıda bahsedilen ikinci veri seti tercih edilmiştir. Ayrıca bu veri seti üzerinde kullanılacak yeni yöntemler sonucunda elde edilmiş olan Duyarlılık (Recall), Kesinlik (Precision) ve F1-score gibi başarımlar önceki çalışmalarla kıyaslanmıştır.

MATERYAL

Çalışmada kullanılan mikroskopik görüntülere ait veri seti TCIA (The Cancer Imaging Archive) (Clark vd., 2013) web kaynağı üzerinden elde edilmiştir. Multipl Miyelom hastalarından kemik iliği aspirasyonu ile alınan örnekler, Jenner-Giemsa boyasıyla lekelenmiş lamalara konulmuştur. Dijital kamerayla donatılmış Nikon Eclipse-200 mikroskop kullanılarak lamalar bin kat yakınlaştırılmış ve BMP (bitmap) formatında hücre görüntüleri kayıt edilmiştir. 85 adet farklı örnekten oluşan veri setindeki tüm görüntüler 2560x1920 piksel boyutlarındadır (Gupta & Gupta, 2019). Veri setinde bulunan görüntüler zaten normalize edilmiştir (Gupta vd., 2020). Bu görüntüler içerisinde, çalışmada kesin referans olarak kullanılacak ve plazma hücrelerinin işaretlendiği açıklama görüntülerini de içermektedir (Gupta vd., 2018). Yalnız burada ilgilenilen plazma hücrelerinin sınırları tam olarak belirten maskeler verilmemiş, sadece ilgili plazma hücreleri okla gösterilmiştir. Şekil 2'de plazma hücrelerini gösteren siyah oklara dair örnek görsel verilmiştir.

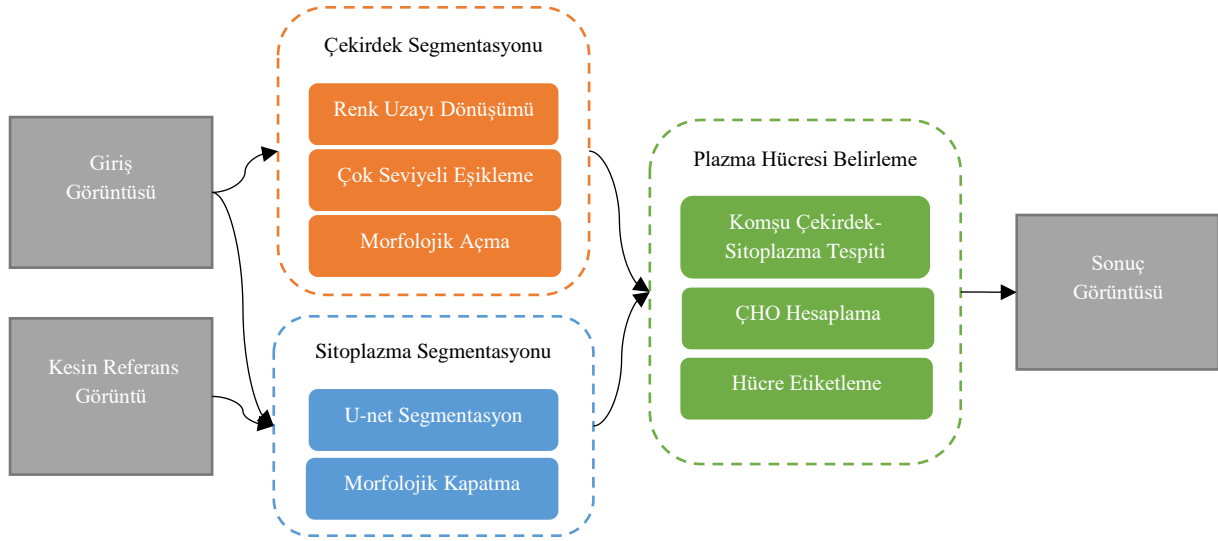


Şekil 2. Siyah Oklarla İlgilenilen Plazma Hücrelerini Gösterir Açıklama Görüntüsü

Veri setindeki görüntüler dört farklı sınıfa ayrılabilir. Bunlar, lekelenmiş hücrelerin çekirdeği, lekelenmiş hücrelerin sitoplazması, lekelenmemiş hücreler ve arka plandır. Lekelenmiş plazma hücrelerinde, hücre çekirdekleri, birbirine çok yakın mor tonlarda, sitoplazmaları ise koyu mavi ile açık mavi arasında değişen, hatta arka plana çok yakın tonlarda bulunabilmektedir. Lekelenmemiş hücreler ise genelde belirgin kenarlara sahip, sitoplazmaya ve arka plana yakın renk tonlarındadır. Arka plan ise genel olarak beyaza yakın, mavi-mor görüntülere sahip en açık renkli alan olarak tanımlanabilir.

YÖNTEM

Bu çalışmada, Multipl Miyelom plazma hücrelerinin tespiti için hücre çekirdeği ve sitoplazması ayrı ayrı segmente edilmiştir. Çünkü Multipl Miyelom plazma hücrelerinin tespiti için her bir lekelenmiş hücrenin, Çekirdek Hücre Oranı (ÇHO) yani; çekirdek alanı/toplam hücre alanı oranının 0,8'den küçük olması gerekmektedir. 0,8 veya daha büyük bir orana sahip hücreler çekirdek hücresi (sitoplazması yok veya çok az) olarak adlandırılmaktadır (Saeedizadeh vd., 2016).

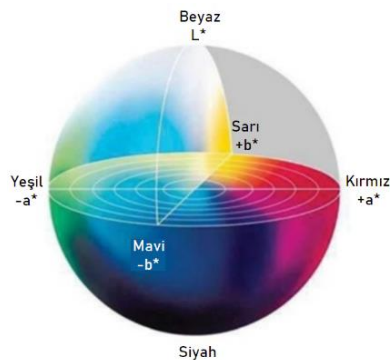


Şekil 3. Plazma Hücrelerinin Segmentasyonu için Önerilen Yöntemin Şematik Gösterimi

Birinci adımda, sitoplazma segmentasyonuna göre çok daha kolay olan hücre çekirdeğinin segmentasyonu için $L^*a^*b^*$ renk uzayı dönüşümü ve Çok seviyeli Otsu Eşikleme yöntemi kullanılmıştır. İkinci adımda ise sitoplazmanın segmente edilmesi için derin öğrenme temelli U-net mimarisinden faydalanılmıştır. Her iki adımdan elde edilen sonuçlar üzerinde görüntü açma, görüntü kapatma gibi temel morfolojik işlemler uygulanmıştır. Üçüncü adımda görüntülerde tespit edilen her bir hücre çekirdeği için, -varsa- komşu olan sitoplazmaları etiketleyerek Çekirdek Hücre Oranını hesaplanmıştır. Bu orana göre hücrenin ilgilenilen plazma hücresi olup olmadığına karar verilmiştir. Plazma hücrelerinin segmentasyonu için önerilen bu yöntemin şematik gösterimi Şekil 3'te verilmiştir.

$L^*a^*b^*$ Renk Uzayı

CIE 1976(L^* , a^* , b^*) veya CIE LAB adıyla da bilinen $L^*a^*b^*$ renk uzayı insan gözünün görebileceği tüm renkleri tanımlayan, cihaz bağımsız bir modeldir. Bu modelde L^* katmanını 0-100 arası koyudan açığa doğru aydınlığı temsil eder. a^* katmanını ve b^* katmanının teorik olarak limitleri olmasa da sayısallaştırılabilmesi adına genelde -128,+127 aralığında değer alırlar. a^* katmanını pozitif uçta kırmızı, negatif uçta yeşil renk tonlarını temsil ederken, b^* katmanını ise pozitif uçta sarı, negatif uçta mavi renk tonlarını ifade eder (Taşgetiren, 2019; Connolly & Fleiss, 1997).



Şekil 4. $L^*a^*b^*$ Renk Uzayı Gösterimi (Kuru, 2014)

Çok Seviyeli Eşikleme

Global (tekli) eşikleme yöntemleri, görüntüye ait renk dağılımı üzerinde en uygun eşik değerini belirlemeye çalışır. Bulunan eşik değeri ile ilgilenilen nesne ve arka plan segmente edilmiş olur. Fakat görüntüde ikiden çok bölge varsa global eşikleme yöntemi istenilen başarıyı sağlamayabilir. Böyle durumlarda çok seviyeli eşikleme yöntemleri görüntü histogramı üzerinde birden çok eşik değeri belirleyerek görüntünün ikiden fazla bölgeye segmente edilmesine olanak sağlar (Merzban & Elbayoumi, 2019; Senthilkumaran & Vaithegi, 2016).

En popüler eşikleme yöntemi olan Otsu Eşikleme yöntemi, sınıflar arası varyansın maksimize edilmesini amaçlamaktadır. Otsu eşikleme yöntemi, görüntü segmentasyonunda, yaygın olarak tek eşik değeri belirlemek için kullanılsa da aslında çok eşik belirleme yeteneğine de sahiptir. Kaynak görüntüde genel olarak k adet farklı ton varsa, k-1 adet eşik değeri Otsu yöntemiyle hesaplanarak bu eşik değerlere göre k-seviyeli görüntü elde edilir (Tuba, 2014).

İki seviyeli eşikleme, bir görüntünün t eşik değeriyle eşiklenmesiyle, I görüntüsünü t değerinden küçük olan gri seviyeleri (M_0) ve t'ye eşit veya daha büyük olan gri seviye değerleri (M_1) olmak üzere iki alt kümeye ayırır. Eşiklemenin sonucunda, iki grubu temsil eden mantıksal 0 ve mantıksal 1'lerden oluşan bir ikili görüntü elde edilir. L adet gri seviyeden oluşan bir görüntü için, iki seviyeli eşikleme Denklem (1)'deki gibi tanımlanabilir:

$$\begin{aligned} M_0 &= \{g(x, y) \in I \mid 0 \leq g(x, y) \leq t - 1\} \\ M_1 &= \{g(x, y) \in I \mid t \leq g(x, y) \leq L - 1\} \end{aligned} \quad (1)$$

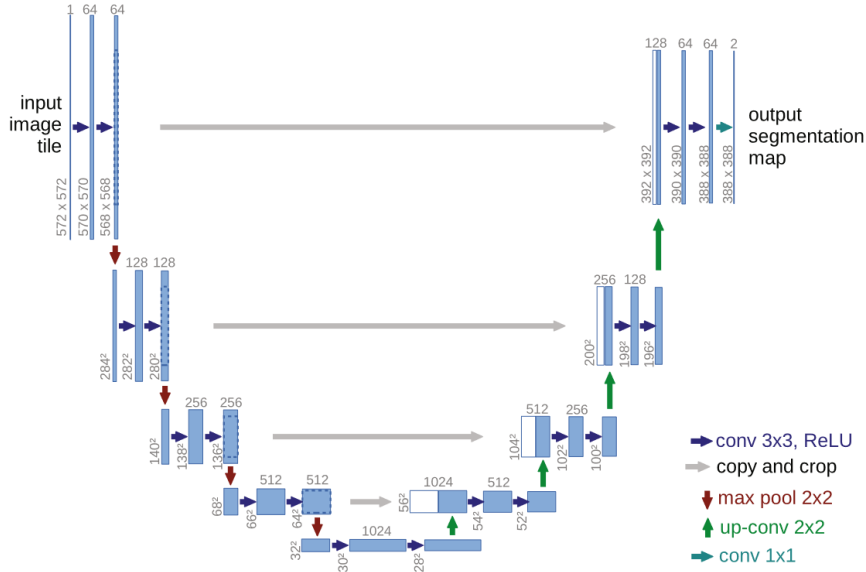
Çok seviyeli eşiklemede ise birden fazla eşik değeri için çok gruplu bir çıkış görüntüsü elde edilir. Bu durum Denklem (2)'de şu şekilde tanımlanmıştır:

$$\begin{aligned} M_0 &= \{g(x, y) \in I \mid 0 \leq g(x, y) \leq t_1 - 1\} \\ M_1 &= \{g(x, y) \in I \mid t_1 \leq g(x, y) \leq t_2 - 1\} \\ M_i &= \{g(x, y) \in I \mid t_i \leq g(x, y) \leq t_{i+1} - 1\} \\ M_m &= \{g(x, y) \in I \mid t_m \leq g(x, y) \leq L - 1\} \end{aligned} \quad (2)$$

Burada t_i ($i = 1, \dots, m$) i. Eşik değeri olmak üzere m adet eşik değeri bulunmaktadır (Akay, 2013).

U-net

Evrişimli sinir ağı olan U-net, görüntüleri hassas ve hızlı bir şekilde bölütlemeye yaygın olarak kullanılmaktadır. U-net, benzer algoritmalara göre daha basit yapıya sahiptir ve uygulamada daha az veriye ihtiyaç duyar (Koç & Akgün, 2021). U-net ortaya çıkış tarihinden(2015) itibaren tıbbi görüntüleme yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmacıların çalışmalarına özel bir şekilde geliştirilmesi nedeniyle zaman içinde U-net mimarisinde gelişmeler olmuştur (Siddique vd., 2021).

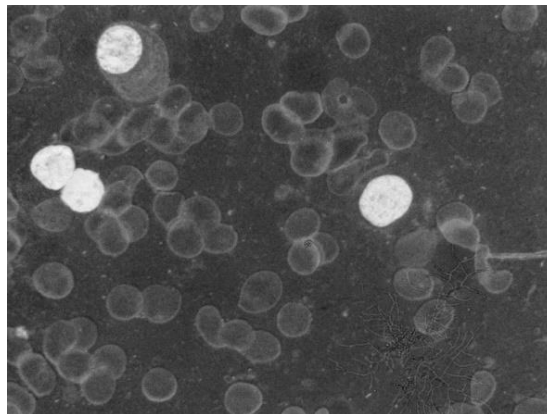


Şekil 5. U-net Mimarisi (Ronneberger vd., 2015)

Şekil 5'te verilen ve Ronneberger vd., (2015) tarafından geliştirilen U-net mimarisinde, ağ yapısı daralan ve genişleyen bir yoldan oluşmaktadır. Daralan yol evrişimli ağır tipik mimarisini izler. Her biri alt-örnekleme için adım 2 ile birlikte doğrultulmuş doğrusal birim (ReLU) ve 2x2 maksimum havuzlama katmanı tarafından takip edilen 3x3 evrişim katmanının tekrarlanan iki uygulamasından meydana gelmektedir. Her örnekleme adımında, özellik kanallarının sayısı 2 katına çıkarılmıştır. Genişletilmiş yoldaki her adım, özellik haritasının bir üst-örneklemesinin ardından özellik kanallarının sayısını yarıya indiren 2x2 evrişim katmanından, her biri ReLU tarafından takip edilen 2 adet 3x3 evrişim katmanı ve daralan yoldan gelen kırılmış özellik haritasıyla bir birleştirmeden meydana gelmektedir. Final katmanında 64 bileşenli her özellik vektörünü gerekli olan sınıf sayısına eşlemek için 1x1 evrişim katmanı kullanılmıştır. U-net ağında toplam 23 adet evrişim katmanı bulunmaktadır (Ronneberger vd., 2015).

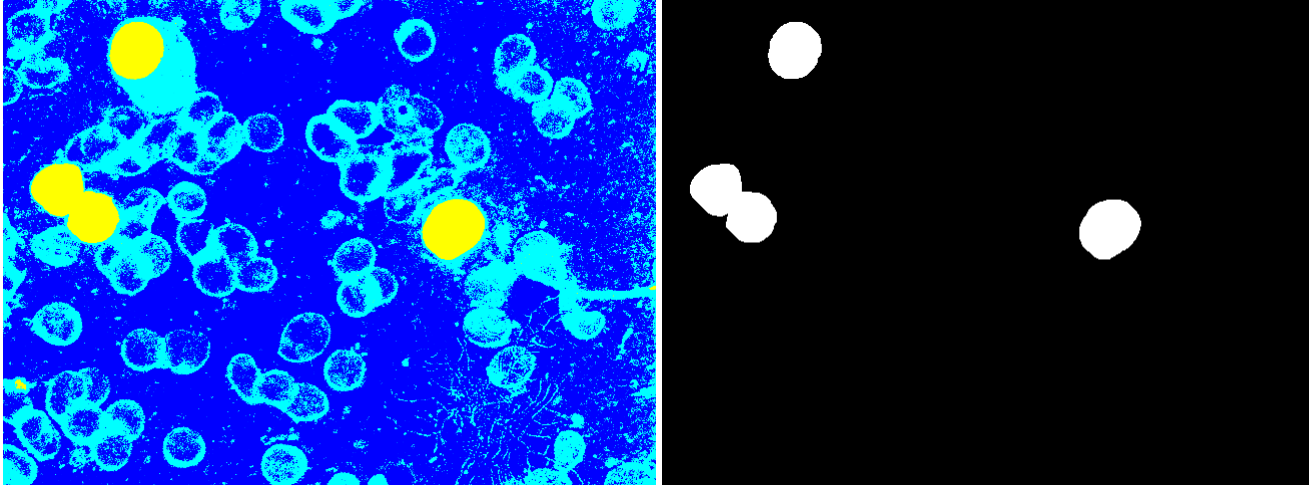
BULGULAR VE TARTIŞMA

Lekeli hücrelerdeki çekirdek segmentasyonu için, Çok Seviyeli Otsu Eşikleme yöntemi seçilmiştir. Bu seçimin sebebi hücre çekirdeklerinin çok yakın tonlarda ve genelde düz bir dokuya sahip olmasıdır. Bu tip bölgelerin segmentasyonu için eşikleme yöntemleri başarılı ve hızlı sonuçlar vermektedir. Çok Seviyeli Otsu Eşikleme yöntemi görüntüdeki piksellerin renk farklarından yararlanarak bölütleme yaptığından, bölütleme başarımını artırmak için görüntüler, bu renk farkının daha bariz olduğu $L^*a^*b^*$ renk uzayına dönüştürülmüştür. Bu uzaydaki a^* kanalı $-a^*$ 'dan $+a^*$ 'ya, sırasıyla yeşilden kırmızıya olan renk değerlerini temsil etmektedir. Çekirdekler ise görüntüdeki diğer alanlara göre en çok kırmızı renk değeri içeren alanlar olduğundan a^* katmanında diğer alanlardan kolayca ayrılmaktadır (Saadedzadeh vd., 2016). Şekil 6'da 0-1 aralığına normalize edilmiş a^* katmanı gösterilmektedir.



Şekil 6. Görüntüye ait a^* katmanı.

İlk olarak veri setindeki tüm görüntüler $L^*a^*b^*$ renk uzayına dönüştürülerek a^* katmanı üzerinde Çok Seviyeli Otsu Eşikleme yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde iki eşik değeri belirlenmiş ve görüntü üç seviyeye ayrılmıştır. Elde edilen görüntüler; çekirdeği oluşturan mor tonlar, sitoplazmayı ve bazen de lekelenmemiş hücreleri içeren mavi tonlar ve arka planı ve lekelenmemiş görüntüleri içeren gürültülü açık (beyaz) renk tonları içeren 3 ana seviyeden oluştuğundan yaygın olarak kullanılan iki seviyeli eşikleme yöntemi yerine üç seviyeli eşikleme yöntemi tercih edilerek segmentasyon kalitesi artırılmıştır. Bu görüntüler Şekil 7(a)'da gösterilmiştir. Her bir görüntü için ayrı ayrı belirlenen iki eşikten büyük olanının üstündeki değerlere sahip olan pikseller mantıksal 1, diğer pikseller mantıksal 0 olarak belirlenmiş ve böylece çekirdek alanlarını ifade eden ikili (binary) görüntüler oluşturulmuştur.

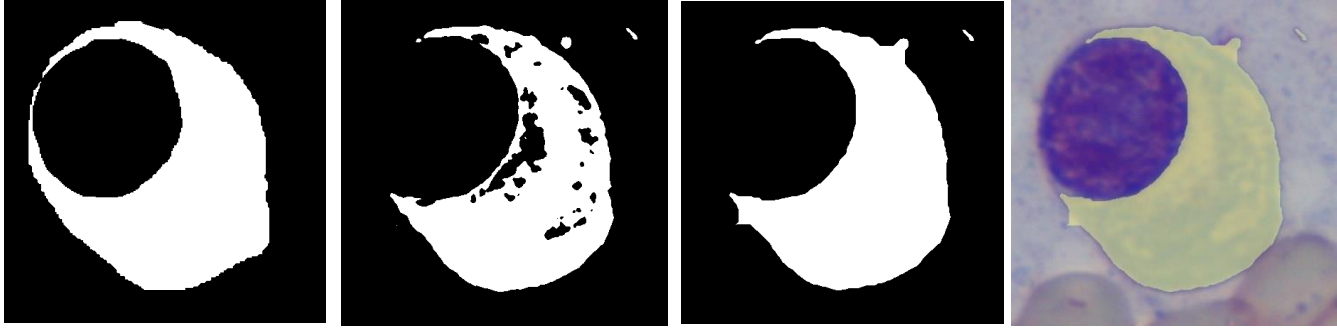


Şekil 7. a. 3-Seviyeli Eşikleme Sonucu (Solda) b. Hücre Çekirdeklerini Gösterir İkili Görüntü (Sağda)

Boyar maddeden kaynaklanan ve hücre çekirdeğinin renk tonlarına benzer tonlarda oluşan mor renkli gürültüler görüntünün geneline yayıldığından, bu gürültüleri temizlemek için alanı 10.000 pikselden küçük olan bağlı bileşenler ikili görüntülerden kaldırılmıştır. Bu işlemin sonucunda gürültüler azaltılmış olsa da hücre çekirdeği sınırlarındaki bazı istenmeyen kısımlar giderilememiştir. Bu sorunu çözmek için ikili görüntü üzerine morfolojik açma işlemi uygulanmıştır. Böylece daire şekline benzer çekirdek alanlarının şekli korunarak bu şekli bozan çıkıntılar yok edilmiştir. Şekil 7(b)'de segmente edilmiş hücre çekirdeklerini gösteren örnek bir ikili görüntü verilmiştir. Bu işlemler sonucu elde edilen ikili görüntüler segmente edilen sitoplazma görüntüleriyle beraber değerlendirilmiştir.

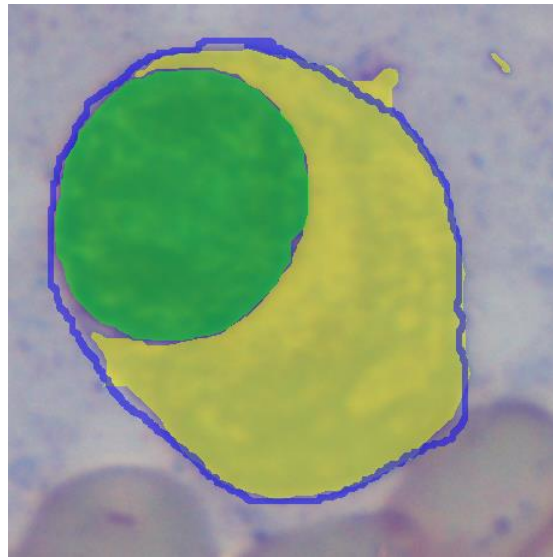
Sitoplazmanın segmentasyonunda ise klasik yöntemler başarılı sonuçlar vermediğinden (Saadedzadeh vd., 2016) derin öğrenme temelli U-net ağı kullanılarak segmentasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla veri setiyle birlikte sunulan, plazma hücrelerinin işaretlendiği açıklama görüntüleri esas alınarak, elle çizilen kesin referans görüntüleri, modeli eğitmek ve modelin kendi doğrulamasını yapması için ham görüntülerle beraber U-net ağına giriş olarak uygulanmıştır. 85 görüntüye ait başarımlar bu veri setiyle yapılmış önceki çalışmayla (Gupta vd., 2018) kıyaslanacağından, test edilecek görüntü sayısını azaltmamak için 85 adet görüntü eğitim doğrulama ve test alt kümelerine sabit olarak ayrılmamıştır. Bunun yerine görüntüler; rasgele 17'şer adet görüntü içeren 5 alt kümeye ayrılarak her bir alt küme, test verisi olarak kullanılmıştır. Kalan 68 adet görüntünün kendi içerisinde %75'i (51 adedi) eğitim, %25'i (17 adedi) doğrulama için kullanılmıştır. Her bir alt küme U-net ağına ayrı ayrı test edilmiştir. Bu işlemlerin uygulaması için MATLAB üzerinde çalışan Microscopy Image Browser (Belevich vd., 2016) yazılım paketinin, derin öğrenme aracı olan DeepMIB (Belevich & Jokitalo, 2021) kullanılmıştır.

Bu işlemler sonucunda elde edilen sitoplazma alanlarının belirlendiği ikili görüntülerin içerdiği gürültüler için de morfolojik yöntemler kullanılmıştır. İlk olarak morfolojik kapatma işlemi uygulanarak ikili görüntüde sitoplazmaya ait bağlantısız yakın bölgeler birleştirilerek sitoplazma alanını daha iyi temsil etmesi sağlanmıştır. İyileştirilmiş bu görüntü sitoplazmanın nihai segmentasyonunu ifade eden ikili bir görüntüdür. Şekil 8'de örnek bir hücreye ait sitoplazma segmentasyonu adımları gösterilmiştir.



Şekil 8. İlgilenilen Örnek Bir Hücre Sitoplazması İçin: **A.** Elle Çizilen Kesin Referans Maskesi **B.** 2D U-net Segmentasyonu Sonucu **C.** Morfolojik Kapatma Sonucu **D.** Orijinal Görüntü Üzerinde Nihai Sitoplazma Segmentasyonu Gösterimi

Hücre çekirdekleri üzerine uygulanan Çok Seviyeli Otsu Eşikleme yöntemi herhangi bir eğitime tabi tutulmadığından görüntüdeki tüm lekelenmiş çekirdekleri segmente etmek için kullanılmıştır. Buna karşın sitoplazma segmentasyonunda eğitim verisi kullanıldığından genellikle Multipl Miyelom plazma hücreleri segmente edilmiştir Plazma hücrelerinin mutlaka lekeli bir çekirdek ve lekeli sitoplazmadan oluşması gerektiği için çekirdeklere ait ikili görüntüler ve sitoplazmalara ait ikili görüntüler beraber değerlendirilerek birbiriyle komşu olan çekirdek ve sitoplazmaların birleşim alanları olan hücre alanları, CHO (Çekirdek Hücre Oranı) kriterine göre değerlendirilmiştir. CHO'su 0,8 değerinin altındaki hücreler (komşu çekirdek ve sitoplazmalar) ilgilenilen plazma hücresi olarak etiketlenmiştir.



Şekil 9. Örnek Hücre için CHO:0,38. Mavi Çizgi: Kesin Referans Sınırları, Yeşil Bölge: Hücre Çekirdeği Segmentasyonu Sonucu, Sarı Bölge: Sitoplazma Segmentasyonu Sonucu

Şekil 9'da başarılı olarak segmente edildiği değerlendirilen bir örnek hücrenin, ayrı ayrı segmente edilen çekirdek ve sitoplazma alanları sırasıyla yeşil ve sarı renklerde gösterilmiştir. Görsel başarımın değerlendirilebilmesi için kesin referans için elle oluşturulan hücreye ait sınırlar ise mavi çizgiyle çizilmiştir. Fakat çalışmada önerilen yöntemin amacı ilgilenilen plazma hücrelerini tespit etmek olduğundan her bir hücreye ait piksel bazlı başarım değerlendirmeleri yerine ilgilenilen plazma hücrelerinin ne kadar doğru bulunabildiğine dair istatistiksel başarım değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Önerilen yöntem tarafından tespit edilen hücreler, açıklamalı görüntülerle karşılaştırılarak başarım hesaplanmıştır. 85 görüntü için açıklamalı görüntülerde belirtilen 320 Multipl Miyelom plazma hücresinin 279 adedi doğru (TP: True Positive) tespit edilmiştir. 41 adedi ise tespit edilememiştir (FN: False Negative). 95 adet lekeli hücre ise ilgilenilen plazma hücresi olmamasına rağmen yanlış etiketlenmiştir (FP: False Positive). İlgilenilmeyen hücre sayısı veri seti içerisinde çok fazla olduğundan (TN: True Negative) sayısı literatürdeki aynı veri setiyle çalışan

diğer yayındaki (Gupta vd., 2018) gibi hesaplanamamıştır. TN değeri, ilgilenilen plazma hücreleri dışında kalan hücrelerin hangilerinin olduğu açıklanmalı görüntülerde verilmediğinden net olarak hesaplanamamıştır.

Hesaplanabilen TP, FN ve FP sayıları ile Duyarlılık ($Recall = TP / (TP + FN)$), Kesinlik ($Precision = TP / (TP + FP)$) ve F1-skorumları ($F1-Score = 2 * Precision * Recall / (Precision + Recall)$) Tablo 1’de aynı veri setiyle çalışan diğer yayındaki değerlerle karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Özellikle Duyarlılık oranını, yani ilgilenilen tüm plazma hücreleri içerisinde doğru etiketlenen plazma hücrelerinin oranı önceki çalışmaya kıyasla oldukça başarılıdır.

Tablo 1. Plazma Hücresi Tespitinin İstatistiksel Sonuçları

	Duyarlılık (%) (Recall)	Kesinlik (%) (Precision)	F1-Skor (%) (F1-Score)
Önerilen Yöntem	87,19	74,6	80,4
Gupta vd., (2018)	81,66	76,56	79,03
Saeedizadeh vd., (2016)	58,88	52,47	55,49

SONUÇLAR

Multipl Miyelom plazma hücrelerinin tespitinde, sitoplazma segmentasyonu kritik önemdedir. Fakat sitoplazma çok farklı şekillerde ve tonlarda olabileceğinden segmente edilmesi oldukça zorlu olabilmektedir. Çalışmamızın sonucunda, derin öğrenme temelli segmentasyon algoritmalarının, bu zorlu konuda klasik yöntemlere göre daha başarılı olduğu değerlendirilmiştir. Bu konuda gelecekteki çalışmalarımızda, kısıtlı sayıda olan Multipl Miyelom kanserine ait mikroskopik görüntülerin artması durumunda derin öğrenme temelli algoritmaların daha çok eğitim verisine sahip olacağı, dolayısıyla da daha başarılı sonuçlar elde edileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

Afshin, B., Reza, A., Eman, S., & Alaa, S. (2021, September). Multi-scale Regional Attention Deeplab3+: Multiple Myeloma Plasma Cells Segmentation in Microscopic Images. In MICCAI Workshop on Computational Pathology (pp. 47-56). PMLR.

Akay, B. (2013). A study on particle swarm optimization and artificial bee colony algorithms for multilevel thresholding. *Applied Soft Computing*, 13(6), 3066-3091.

Belevich, I., Joensuu, M., Kumar, D., Vihinen, H., & Jokitalo, E. (2016). Microscopy image browser: a platform for segmentation and analysis of multidimensional datasets. *PLoS biology*, 14(1), e1002340.

Belevich, I., & Jokitalo, E. (2021). DeepMIB: user-friendly and open-source software for training of deep learning network for biological image segmentation. *PLoS computational biology*, 17(3), e1008374.

Clark, K., Vendt, B., Smith, K., Freymann, J., Kirby, J., Koppel, P., Moore, S., Phillips, S., Maffitt, D., Pringle, M., Tarbox, L., & Prior, F. (2013). The Cancer Imaging Archive (TCIA): Maintaining and Operating a Public Information Repository. *Journal of Digital Imaging*, 26(6), 1045–1057.

Connolly, C., & Fleiss, T. (1997). A study of efficiency and accuracy in the transformation from RGB to CIELAB color space. *IEEE transactions on image processing*, 6(7), 1046-1048.

Faura, Á. G., Štepec, D., Martinčič, T., & Skočaj, D. (2022, April). Segmentation of multiple myeloma plasma cells in microscopy images with noisy labels. In *Medical Imaging 2022: Computer-Aided Diagnosis* (Vol. 12033, pp. 160-167). SPIE.

Gupta, R., Mallick, P., Duggal, R., Gupta, A., & Sharma, O. (2017). Stain color normalization and segmentation of plasma cells in microscopic images as a prelude to development of computer assisted automated disease diagnostic tool in multiple myeloma. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 17(1), e99.

Gupta, A., Mallick, P., Sharma, O., Gupta, R., & Duggal, R. (2018). PCSeg: Color model driven probabilistic multiphase level set based tool for plasma cell segmentation in multiple myeloma. *PloS one*, 13(12), e0207908.

- Gupta, R., & Gupta, A. (2019). MiMM_SBI Lab Dataset: Microscopic Images of Multiple Myeloma [Data set]. The Cancer Imaging Archive.
- Gupta, A., Duggal, R., Gehlot, S., Gupta, R., Mangal, A., Kumar, L., Thakkar, N., & Satpathy, D. (2020). GCTI-SN: Geometry-inspired chemical and tissue invariant stain normalization of microscopic medical images. *Medical Image Analysis*, 65, 101788.
- Koç, A. B., & Akgün, D. (2021). U-net Mimarıleri ile Glioma Tümör Segmentasyonu Üzerine Bir Literatür Çalışması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (26), 407-414.
- Kuru, K. (2014). Optimization and enhancement of H&E stained microscopical images by applying bilinear interpolation method on lab color mode. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 11(1), 1-22.
- Merzban, M. H., & Elbayoumi, M. (2019). Efficient solution of Otsu multilevel image thresholding: A comparative study. *Expert Systems with Applications*, 116, 299-309.
- Paing, M. P., Sento, A., Bui, T. H., & Pintavirooj, C. (2022). Instance Segmentation of Multiple Myeloma Cells Using Deep-Wise Data Augmentation and Mask R-CNN. *Entropy*, 24(1), 134.
- Qiu, X., Lei, H., Xie, H., & Lei, B. (2022, March). Segmentation of Multiple Myeloma Cells Using Feature Selection Pyramid Network and Semantic Cascade Mask RCNN. In *2022 IEEE 19th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)* (pp. 1-4). IEEE.
- Ronneberger, O., Fischer, P., & Brox, T. (2015, October). U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. In *International Conference on Medical image computing and computer-assisted intervention* (pp. 234-241). Springer, Cham.
- Saeedizadeh, Z., Mehri Dehnavi, A., Talebi, A., Rabbani, H., Sarrafzadeh, O., & Vard, A. (2016). Automatic recognition of myeloma cells in microscopic images using bottleneck algorithm, modified watershed and SVM classifier. *Journal of microscopy*, 261(1), 46-56.
- Senthilkumaran, N., & Vaithegi, S. (2016). Image segmentation by using thresholding techniques for medical images. *Computer Science & Engineering: An International Journal*, 6(1), 1-13.
- Siddique, N., Paheding, S., Elkin, C. P., & Devabhaktuni, V. (2021). U-net and its variants for medical image segmentation: A review of theory and applications. *IEEE Access*.
- Taşgetiren, N. (2019). Renkli histopatolojik görüntüde meme kanseri hücre çekirdeği segmentasyonu (Master's thesis, KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Tuba, M. (2014). Multilevel image thresholding by nature-inspired algorithms: A short review. *Computer Science Journal of Moldova*, 66(3), 318-338.
- Vyshnav, M. T., Sowmya, V., Gopalakrishnan, E. A., & Menon, V. K. (2020, July). Deep learning based approach for multiple myeloma detection. In *2020 11th International Conference on Computing, Communication and Networking Technologies (ICCCNT)* (pp. 1-7). IEEE.