

Çekişmeli Üretici Ağlar Kullanılarak Medikal Görüntülerin Sanal Hematoksilen ve Eozin (H&E) Boyanması

Virtual Hematoxylin and Eosin (H&E) Staining of Medical Images using Generative Adversarial Networks

Musa AYDIN¹

¹Fatih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Öz

Tıbbi görüntülerin sanal boyanması işlemi dijital patolojide önemli bir yaklaşım olarak görülmektedir. Geleneksel doku boyama zaman alan, uzmanlık gerektiren, boyamanın uzmandan uzmana değişkenlik gösterdiği yoğun bir süreçtir. Derin öğrenme yaklaşımı kullanılarak sanal boyama ile görüntü kalitesinin iyileştirilmesi ve manuel boyamadan kaynaklı maliyetlerin azaltılması sağlanmaktadır. Bu çalışmada, boyasız tüm slayt görüntülerin (WSI-Whole Slide Images) Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyalı görüntü çiftlerini sanal olarak boyamak için koşullu çekişmeli üretici ağ (cGAN- The Conditional Generative Adversarial Network) tabanlı bir derin sinir ağının uygulanmasını araştırmaktadır. Açık kaynak olarak sunulan bir veri setini kullanarak, sonuçlarımızı daha büyük bir veri seti kullanan bir referans çalışmayla karşılaştırıyoruz. Sadece yedi adet WSI kullanan yaklaşımımız, 68 WSI kullanan referans çalışmayla karşılaştırıldığında Yapısal Benzerlik İndeksi (SSIM), Tepe Sinyal-Gürültü Oranı (PSNR) ve Pearson Korelasyon Katsayısı (PCC) açısından rekabetçi bir performans göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda çekişmeli üretici ağın eğitim sürecinde önerdiğimiz hibrit kayıp fonksiyonu ile sentetik görüntüler ve gerçek görüntülerin değerlendirilmesi sağlanmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar SSIM, PSNR ve PCC değerlerinin ortalaması sırasıyla 0,668, 21,487 ve 0,872 iken, referans çalışmada bu değerler sırasıyla 0,724, 22,609 ve 0,903 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar, GAN'ların yüksek kaliteli sanal boyama görüntülerini elde etme potansiyelini ortaya koyarak, kapsamlı veri kümelerine olan ihtiyacı azaltmaktadır ve böylece dijital patoloji için verimlilik ve tekrar edilebilirliği artırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hematoksilen ve Eozin (H&E), Derin Sinir Ağları, Medikal Görüntü Sanal Boyama, Çekişmeli Üretici Ağlar (GANs)

Abstract

Virtual staining of medical images is an essential approach in digital pathology. Traditional tissue staining is a time-consuming, specialized, and intensive process where staining varies from expert to expert. By using a deep learning approach, virtual staining improves image quality and reduces the costs associated with manual staining. In this study, we investigate the application of a deep neural network based on the Conditional Generative Adversarial Network (cGAN) for virtual staining of unstained whole slide images (WSI-Whole Slide Images) to Hematoxylin and Eosin (H&E) stained image pairs. Using a publicly available dataset, we compare our results with a reference work using a larger dataset. Using only seven WSIs, our approach performs competitively in terms of Structural Similarity Index (SSIM), Peak Signal-to-Noise Ratio (PSNR), and Pearson Correlation Coefficient (PCC) compared to the reference work using 68 WSIs. In addition, in our study, the hybrid loss function we proposed in the training process of the adversarial generative network was used to evaluate synthetic and real images. The average SSIM, PSNR, and PCC values obtained in our study are 0.668, 21.487, and 0.872, respectively, while in the reference study, these values are 0.724, 22.609, and 0.903, respectively. The results demonstrate the potential of GANs to acquire high-quality virtual staining images, reducing the need for extensive datasets and thus increasing efficiency and reproducibility for digital pathology.

Keywords: Hematoxylin and Eosin (H&E), Deep Neural Networks, Medical Images Virtual Staining, Generative Adversarial Networks (GANs)

I. GİRİŞ

Dijital patoloji histopatolojik slaytların dijitalleştirilmesini ve analiz edilmesini kolaylaştırarak teşhis ve tanı alanında kolaylıklar sunmaktadır. Patoloji slaytlarının doku morfolojisini görselleştirmek ve patolojik değişiklikleri belirlemek için en bilindik ve uzun yıllardır kullanılan teknik, ilgili patoloji dokusunun kontrastını artıracak bir kimyasal ile boyanmasıdır [1]. Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama tekniği hücrel ve doku yapılarının görüntülenmesini sağlayan histopatolojideki en geleneksel boyama tekniklerinden biridir [2].

Geleneksel H&E boyama, uzman teknikerler ve özel ekipman gerektiren, zaman alıcı ve boyama kalitesinin kişiden kişiye değiştiği bir süreçtir. Bir uzman tarafından yapılan manuel boyama işleminde, boyanmış slaytlarda değişkenlik ve tutarsızlıklara kişinin uzmanlık doğasından ötürü oluşabilir ve bunun sonucu olarak görüntülenen doku için hatalı tanı ortaya çıkabilir. Derin sinir ağlarının ve yapay zekâ algoritmalarının dijital patoloji görüntülerinin otomatik analizinde kullanılması ile uzman gereksinimine olan ihtiyaç azaltılmış ve otomatik teşhis tanı sürecinde umut verici sonuçlar ortaya çıkmıştır [3], [4], [5], [6], [7]. Histopatolojik slaytların kimyasal boyanması sürecinin bir uzman tarafından yapılmasının gerekliliği, boyama süreçlerinin uzun zaman alması, kimyasal boyaların yüksek maliyeti, slaytlar arasındaki boyama farklılıkları gibi faktörler, bu sürecin otomatikleştirilmesi ve iyileştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Patoloji slaytlarındaki karmaşık desenleri ve görüntüler arasındaki ilişkileri öğrenme yetenekleri ile derin öğrenme tabanlı yaklaşımlar, sanal boyama uygulamalarında kayda değer ilerlemeler ortaya koymuştur [8], [9]. Özellikle çekişmeli üretici ağlar (GANs- Generative Adversarial Networks) patoloji slaytlarının kimyasal boyama olmaksızın sanal olarak boyanması ile ilgili başarılı sonuçlar üretmiştir. Çekişmeli üretici ağlar kullanılarak yapılan sanal H&E boyama ile dijital patolojideki iş akışını önemli ölçüde azaltabileceği görülmüştür [10], [11], [12]. Bununla birlikte, derin sinir ağları ile sanal boyama yaklaşımı, sanal boyama, histopatolojik analizlerin tutarlılığı, tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilebilirliğini artırarak manuel boyama tekniklerinin getirdiği değişkenliği ortadan kaldırılabılır. GAN'lar kullanılarak yapılan sanal H&E boyama, geleneksel yöntemlere kıyasla birçok avantaj sunmaktadır. Zaman ve kaynak verimliliği için, fiziksel boyama ihtiyacını ortadan kaldırarak sanal boyama ile slayt hazırlama için gereken zaman ve kaynakları önemli ölçüde azaltıldığı görülmüştür [13], [14]. Manuel boyama tekniklerinde görülen değişkenlik, sanal boyama ile azaltılarak, histopatolojik analizlerin daha tutarlı hale getirilebileceği gözlemlenmiştir [15], [16]. Bir patoloji slaytı mikroskop ile görüntülenmesi sürecinde, belirlenen bir kimyasal boya ile bir uzman tarafından boyanır ve ilgili tüm slayt (WSI-Whole slide image) görüntülenir. Görüntülenme süreci tamamlandıktan sonra boyanmış doku tekrar bir başka kimyasal boya ile boyanmaya uygun değildir ve genellikle bu süreç tek seferlidir. Sanal boyama ile, bir dokunun herhangi bir boya türünde defalarca boyanarak sanal boyanmış sentetik görüntüsü oluşturulabilir, bu sayede birden fazla boya ile boyamanın denenmesi avantajı oluşmaktadır. Böylelikle sanal boyama, orijinal doku örneklerinin korunmasına olanak tanır ve aynı örnek üzerinde birden fazla analiz yapılarak fiziki dokunun tahrip edilmeden analiz edilmesini sağlar [17]. Patoloji slaytlarının farklı zamanlarda farklı uzmanlar tarafından hatta bazı zamanlarda aynı uzmanın farklı zamanlardaki boyamaları arasında varyasyonlar oluşmaktadır. Bu

varyasyonlar dijital görüntünün analizinde hatalı sonuçlara neden olabilmektedir. Derin sinir ağları ile gerçekleştirilen sanal boyama ile, sentetik olarak üretilmiş sanal boyanmış görüntüler, ağın genelleştirebilme kabiliyetinden dolayı her zaman aynı standartta ve kalitede görüntüler üretmektedir [18], [19], [20], [21], [22], sentetik olarak üretilen sanal boyanmış görüntüler arasında herhangi bir stil ve yapı değişimi olmayacağından teşhis tanı süreçleri şeffaf ve standart hale gelecektir [23]. Dijital patolojide sanal boyama yaklaşımı sayesinde elde edilen kazanımlar, daha hızlı ve doğru teşhisler sunarak, sağlık hizmetlerinde maliyetlerin düşürülmesine katkı sağlayabilir. Tüm bu kazanımlar göz önüne alındığında, bu çalışmada boyanmamış tıbbi görüntülerin sanal H&E boyaması için koşullu çekişmeli üretici ağ (cGAN - The Conditional Generative Adversarial Network) tabanlı bir yaklaşım kullanılmaktadır. Çalışmada GAN tabanlı sanal boyamanın uygulanabilirliği ve etkinliği gösterilerek, bu yaklaşımın dijital patoloji için önemi ortaya konmuştur. Önerilen GAN modeli için üretici ve ayırıcı ağların eğitim sürecinde kullanılan kayıp fonksiyonu (loss function) modifiye edilmiştir. Üretici ağın sonuçları, birden fazla kayıp fonksiyonu tarafından değerlendirilerek hibrit bir kayıp fonksiyonu tasarımı oluşturulmuştur. Modelimizi herkese açık bir veri seti kullanarak eğittik ve değerlendirdik ve performansını aynı veri setini kullanan önceki bir çalışmayla karşılaştırdık [24]. Yapılan çalışmada elde edilen ortalama SSIM, PSNR ve PCC değerleri sırasıyla 0,668, 21,487 ve 0,872'dir ve bu değerler referans çalışmada hesaplanan (0,724, 22,609 ve 0,903) değerler ile karşılaştırılabilir seviyededir. Bu bulgular, GAN'ların azaltılmış veri seti gereksinimleri ile yüksek kaliteli sanal boyama elde etme potansiyelini vurgular ve böylece dijital patolojinin verimliliğini ve erişilebilirliğini artırır. Sonuçlarımız, önerilen yöntemin daha küçük bir eğitim veri setiyle bile referans çalışmayla karşılaştırıldığında rekabetçi sonuçlar elde ettiğini göstermektedir. Çalışmanın organizasyonu şu şekilde yapılandırılmıştır. Bölüm II' de çalışmada kullanılan veri seti, derin sinir ağı ve değerlendirme metrikleri ile ilgili bilgi verilmiştir. Bölüm III' te yapılan deneysel çalışmaların detayından bahsedilmiştir. Deneysel çalışmaların sonuçları Bölüm IV' te tartışılmıştır. Bölüm V, yapılan çalışmayı özetlemekte ve gelecek çalışmalar hakkında bilgi verilmektedir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

Yapılan çalışmada boyamasız medikal görüntülerin, kimyasal boyama işlemine gerek duymadan derin sinir ağı tabanlı yaklaşımla sanal olarak boyanması için hem boyasız hem de Hematoksilin ve Eozin (H&E) kimyasal boyalı görüntü çiftlerini içeren anterior prostat dokusunun tüm slayt görüntü (WSI-Whole Slide Image) çiftleri kullanılmıştır [24]. Bu bölümde, çalışmada kullanılan veri seti ve derin sinir ağı mimarisinden bahsedilecektir, ayrıca elde edilen

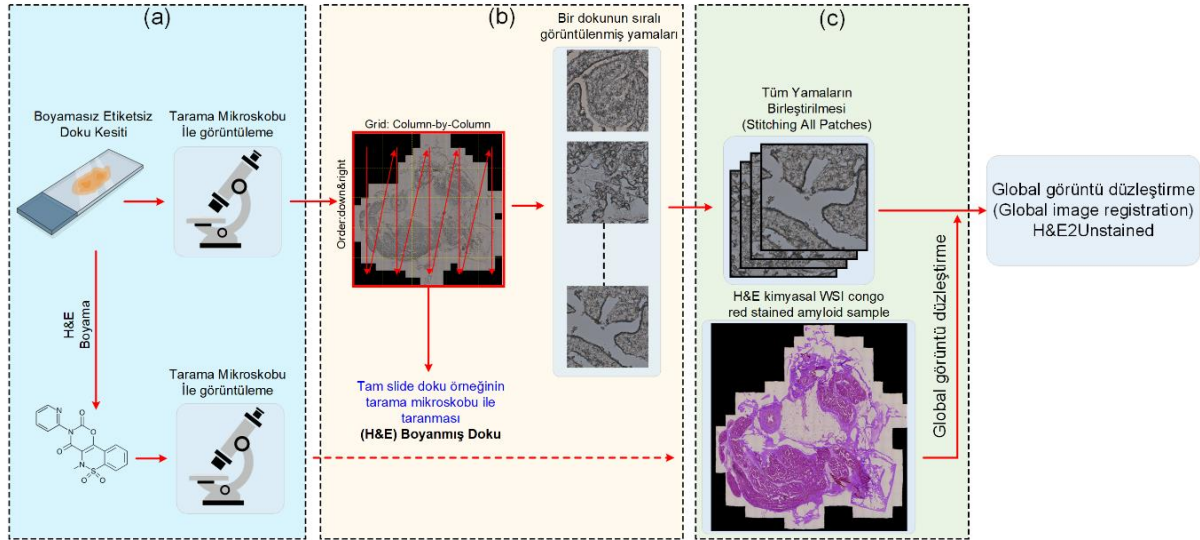
sonuçların hangi metrikler ile değerlendirildiği anlatılmaktadır.

2.1 Veri Seti

Bu çalışmada dijital patoloji görüntülerinin derin sinir ağı tabanlı sanal boyanması için boyanmamış ve H&E ile boyanmış anterior prostat dokusunun tüm slayt görüntü (WSI-Whole Slide Image) çiftleri kullanılmıştır [24]. Veri setinde toplam 81 adet RGB görüntü formatında boyasız ve H&E ile kimyasal olarak boyanmış tüm slayt giga piksel görüntü çifti bulunmaktadır. Ayrıca veri setinde her bir tüm slayt

2.2 Çekişmeli Üretici Ağlar

Bu çalışmada, boyasız görüntü çiftlerini, H&E kimyasal boyamalı görüntü çiftlerine eşleştirmek için bir üretici derin sinir ağı modeli olan Çekişmeli Üretici Ağlar (GANs-Generative Adversarial Networks) kullanılmıştır [25]. Bu bölümde, tıbbi görüntülerin sanal boyanmasında sentetik Hematoksilen ve Eozin (H&E) ile boyanmış görüntüler üretmek için çekişmeli üretici ağların kullanımı ve teorisi anlatılmaktadır. Çekişmeli üretici ağlar, orijinal veri kümesinden uygun şekilde ayıklayarak yeni sentetik örnekler oluşturabilmek için girdi verilerindeki yapıları



Şekil 1. Boyamasız ve H&E boyamalı tam slayt doku kesitlerinin tarama mikroskobu ile yama (ing:patch) bazlı görüntülenmesi adımları

görüntü çifti için ikili görüntü formatında (binary image) doku maskesi de bulunmaktadır. Veri setindeki görüntüler tüm slayt görüntü formatındadır ve boyutları geleneksel bir görüntü boyutunun çok üstündedir, örneğin bir tüm slayt görüntü ~50000x50000 veya daha büyük boyutlarda olmaktadır. Her görüntü çifti için oluşturulan ikili formattaki doku maskesi, tüm slayt görüntünün sadece doku bilgisi içeren alanlarının sınırlandırılmasını sağlamaktadır. Tüm slayt görüntüden GAN ağı için küçük yamaların elde edilmesi aşamasında veri setinde bulunan her bir görüntü çiftine ait olan bu ikili maske kullanılmıştır. Veri setindeki görüntüler, dijital patoloji dokularının görüntülenmesi için x-y düzlemlerinde tarama mikroskobu tarafından tarama yöntemiyle görüntülenmiş birden fazla küçük yama (small patch) görüntüsünün algoritmik olarak birleştirilmesi (image stitching) sonucunda oluşturulmuştur. Şekil 1' de boyamasız ve H&E boyalı görüntüler için ön işlem adımları gösterilmektedir. Şekil 1(a)' de ilgili doku kesitinin mikroskop altında görüntülenmesi-taranması gösterilmektedir. Şekil 1 (b-c)' de ise tarama mikroskobunun tüm doku kesitinin belirlenen sınırlarının x-y düzleminde küçük yamalar şeklinde taranması ve elde edilen tüm yamaların birleştirilip tek bir tam slayt görüntü elde edilmesi gösterilmektedir.

otomatik olarak öğrenmeyi amaçlayan bir öğrenme türüdür [26]. Çekişmeli üretici ağlar eş zamanlı olarak eğitilen bir üretici (G-Generator) ve bir ayırıcı (D-Discriminator) olmak üzere iki adet derin sinir ağından oluşmaktadır. Üretici ağ G , rastgele görüntülerden, gerçek görüntüye en yakın görüntü örnekleri üretmeyi amaçlar, ayırıcı ağ D ise, üretici ağı eğitim verilerinden ürettiği sentetik görüntüler ile, bu sentetik görüntülere karşılık gelen gerçek görüntüler arasında ayırım yapmaya çalışır. Ayırıcı ağ ve üretici ağ arasında yarış bulunmaktadır. Ayırıcı ağı D gerçek ve sahte görüntüler arasında doğru ayırım yapmasını, üreticinin daha gerçekçi sentetik görüntüler üretmesini sağlamak amacıyla üreticinin kayıp fonksiyonu hesaplanır parametreleri güncellenir. Üretici ağ G ve ayırıcı ağ D arasında, üreticinin ayırıcının hata yapma olasılığını artırmaya çalıştığı ve ayırıcının bu olasılığı en aza indirmeye çalıştığı bir minimax oyunu kurgulanır. Bu çalışmada belirli koşullara bağlı olarak sentetik veri üretimi yapan koşullu çekişmeli üretici ağ (cGAN- The Conditional Generative Adversarial Network) modeli kullanılmaktadır [27]. Koşullu çekişmeli üretici ağlar (cGAN), hem üretici ağ hem de ayırıcı ağa bazı ek bilgiler ekleyerek sentetik görüntü üretirler. Koşullu çekişmeli üretici ağlar için koşul olarak kullanılan bilgiler, sınıf etiketleri veya dönüştürülmek istenen

farklı bir görüntü modalitesi olabilir. Medikal görüntülerin sanal boyanması için koşullu çekişmeli üretici ağı kullandığı koşul bilgisi boyasız doku görüntüleridir. Koşullu çekişmeli üretici ağı modelinde, üretici ağı G girdisi görüntü vektörü içermek zorunda değildir, doğrudan sınıf etiketine ait görüntü örnekleri girdi vektörü olarak kullanılmaktadır, ayırıcı ağı D girdisi, gerçek ve sentetik veri örnekleri ve bu verilere karşılık gelen etiketlerdir.

2.3 Değerlendirme metrikleri

Bu çalışmada sanal olarak boyanmış doku görüntüleri ile karşılık gelen H&E boyanmış gerçek referans görüntüleri, üç farklı değerlendirme metriğine göre değerlendirilmiştir. Bu bölümde, bu çalışmada kullanılan üç değerlendirme metriği açıklanmaktadır. Kullanılan değerlendirme metrikleri sırasıyla, Yapısal Benzerlik İndeksi Ölçümü (SSIM- Structural Similarity Index Measure), Tepe Sinyal-Gürültü Oranı (PSNR- Peak Signal-to-Noise Ratio) ve Pearson Korelasyon Katsayısı (PCC- Pearson Correlation Coefficient)' dir. Bu metrikler, GAN tarafından üretilen sanal boyalı görüntülerin gerçek referans (ground truth) H&E boyalı görüntülere ne kadar benzer olduğunu değerlendirmek için seçilmiştir.

Yapısal Benzerlik İndeksi Ölçümü (SSIM- Structural Similarity Index Measure):

Yapısal benzerlik indeksi ölçümü (SSIM), iki görüntü arasındaki yapısal bilginin (parlaklık, kontrast vb.) matematiksel olarak hesaplanarak ölçülmesini sağlayan bir yaklaşımdır [28]. Yapısal benzerlik indeksi ölçümü ile iki görüntü arasındaki bozulmanın ölçülmesi sağlanır. Bu çalışmada sanal olarak GAN ile boyanmış (virtually stained) görüntü ile H&E boyalı görüntüleri sayısal olarak karşılaştırmak için yapısal benzerlik indeksi ölçümü (SSIM) kullanılmıştır. Yapısal benzerlik indeksi değeri 0 ile 1 arasında değer almaktadır, değerin 1'e yakın olması iki görüntünün yapısal olarak benzer olduğu anlamına gelir.

Tepe Sinyal-Gürültü Oranı (PSNR- Peak Signal-to-Noise Ratio):

Tepe Sinyal-Gürültü Oranı (PSNR) görüntü ve videoların yeniden yapılandırma (reconstruction) kalitesini ölçmek ve sayısal olarak değerlendirmek için kullanılmaktadır [29]. Orijinal ve yeniden yapılandırılmış görüntüleri karşılaştırırken, Tepe Sinyal-Gürültü Oranı (PSNR) desibel (dB) cinsinden bir ölçüm sağlar. Daha yüksek PSNR değerleri, yeniden yapılandırılmış görüntünün orijinal görüntüye kıyasla daha iyi kalite ve daha az bozulmaya sahip olduğunu gösterir. Bu çalışmada PSNR, GAN tarafından sanal olarak boyanmış görüntü için oluşan gürültü seviyesini ölçmeye yardımcı olur ve sanal olarak boyanan görüntüler ile gerçek görüntüler arasındaki benzerliğin ölçümünü sağlar.

Pearson Korelasyon Katsayısı (PCC- Pearson Correlation Coefficient):

Pearson Korelasyon Katsayısı (PCC), iki görüntü arasındaki doğrusal korelasyonu ölçer ve 0 ile 1 arasında bir değer üretir [30]. Hesaplanan değer 1 olması pozitif korelasyonu, 0 olması ise hiç korelasyon olmadığı anlamına gelir. PCC özellikle iki görüntü arasındaki ışık şiddeti (intensity) değerlerinin benzerliğini karşılaştırmak için kullanılır. PCC ile sanal olarak boyanmış görüntülerin piksel değerlerindeki değişimlerin gerçek referans görüntülerin değerlerine ne derece uyduğunu hesaplayarak, tahmin edilen ve gerçek boyalı görüntüler arasındaki ilişkinin sayısal bir temsili ortaya konulur.

III. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Yapılan çalışmada kimyasal boyama olmadan, boyamasız ve Hematoksilin ve Eozin (H&E) kimyasal boyalı görüntü çiftlerini kullanarak çekişmeli üretici ağı ile boyamasız görüntü çiftlerinin karşılığı olan sanal boyanmış görüntülerin elde edilmesi sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar üç farklı metrik (SSIM, PSNR ve PCC) açısından literatürde var olan çalışma ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

3.1 Tüm Slayt görüntü ön işleme

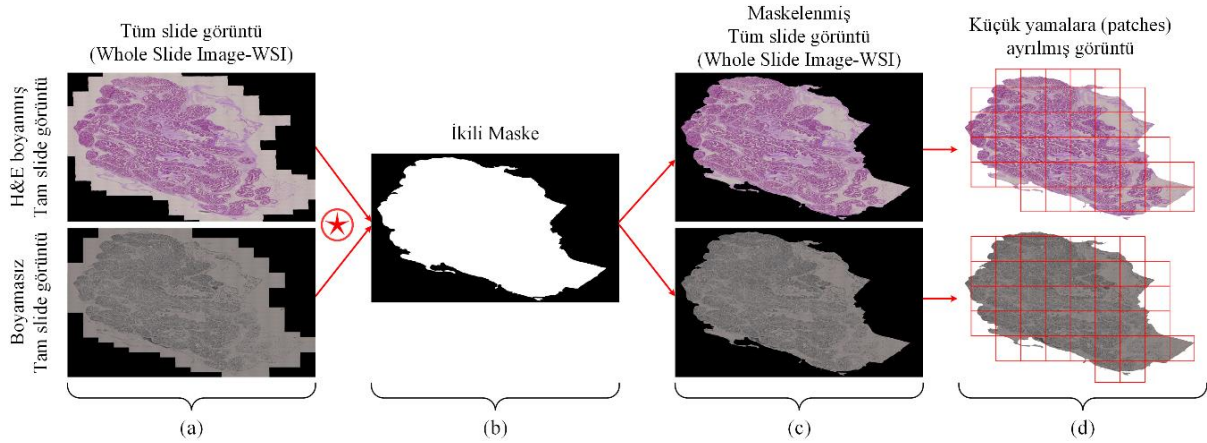
Bu çalışmada boyasız medikal görüntülerin kimyasal boyama olmadan derin sinir ağı tabanlı sanal olarak boyanması için boyasız ve H&E ile boyanmış anterior prostat dokusunun tüm slayt görüntü (WSI-Whole Slide Image) çiftleri kullanılmıştır [24]. Şekil 2' de histopatolojik görüntülemenin genel akış diyagramı gösterilmektedir. Tüm slayt görüntüleri (WSI), histopatolojik doku slaytlarının yüksek çözünürlüklü ve yüksek büyütme oranında dijital olarak taranmış halidir. Şekil 1 (c)' de gösterilen örnek tüm slayt görüntünün boyutu $29321 \times 37316 \times 3$ tür. Tüm slayt görüntüler normal bir görüntü boyutundan çok daha büyük boyutlara sahiptir ve bu görüntüleri kullanarak yapılacak analizler çok yüksek hesaplama maliyeti getirmektedir [31]. Bu çalışmada kullanılan veri setinde toplam (test ve eğitim görüntüleri dahil) 81 adet WSI görüntü çifti (boyamasız ve H&E boyanmış) bulunmaktadır. Her bir tüm slayt görüntü, derin sinir ağı ile doğrudan kullanılmayacak boyutlara sahiptirler. WSI' lar ile sınıflandırma, segmentasyon veya sanal boyama gibi işlemler, büyük boyutları, yüksek çözünürlükleri, karmaşık doku yapıları ve hesaplama gereksinimleri nedeniyle önemli zorluklar sunar. Bu zorlukların üstesinden gelmek için, çeşitli görüntü işleme yaklaşımları kullanılarak tüm slayt görüntülerin bir derin sinir ağı ile kullanılabilir-egitilebilir hale getirilmesi gerekmektedir. Tüm slayt görüntülerin ön işlenmesi ve eğitim, test ve doğrulama (validation) veri setlerinin hazırlanması şu adımlarda gerçekleştirilmiştir. Koşullu çekişmeli üretici ağı (cGAN) eğitimi için öncelikle tüm slayt görüntüler 1024×1024 boyutlarında küçük yamalara (patches) ayrılmıştır. Tüm slayt görüntülerin yamalara ayrılma işleminde hem boyasız doku görüntüleri hem de H&E

boyanmış görüntü çiftleri ayrı ayrı kullanılmıştır. Her bir boyasız tüm slayt görüntüden elde edilen yama cGAN üretici ağının giriş verilerini temsil etmektedir, H&E boyanmış tüm slayt görüntüleri ise cGAN ayırıcı ağın giriş verilerini temsil etmektedir. Tüm slayt görüntüleri bir dokunun tamamının yüksek çözünürlükte bir tarama mikroskobu aracılığı ile taranmış ve sayısallaştırılmış halidir. Bu sebeple cGAN için oluşturulan veri setlerinde (eğitim, test, doğrulama) kullanılan yamaların tüm slayt görüntülerden koparılması aşamasında şu kısıtlar dikkate alınmıştır.

- Bir yama en az %40 veya daha fazla doku bilgisi içeren bir alandan oluşmalıdır.
- Seçilen yama odak dışı bozukluk (out of focus patches) içermemelidir.

Tüm slayt görüntülerden yama seçiminde yukarıdaki iki kriter dikkate alınarak anlamlı yamaların modelin eğitim ve test sürecine dahil edilmesi sağlanmıştır. İlk aşamada bir yamanın en az %40 veya daha fazla doku

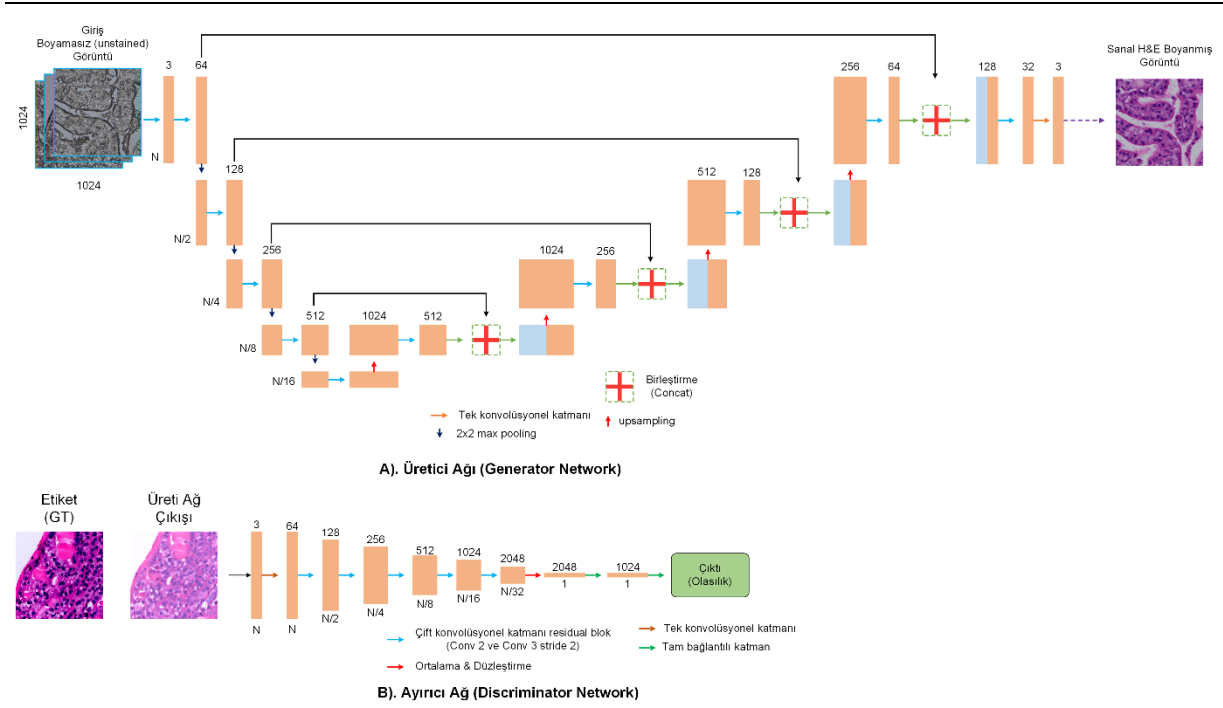
Odak dışı bozukluk hesaplanmasında şu adımlar izlenmiştir. Öncelikle seçilen bir yamanın *mean_intensity* değeri ve *standart_sapması* hesaplanmaktadır. Daha sonra seçilen yamaya *Laplacian* operatörü uygulanarak yama görüntüsündeki kenarların belirginleştirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra *Laplacian* görüntüsünün varyansı hesaplanır, hesaplanan varyans değeri, ilgili yama görüntüsünün keskinliğinin veya dokusunun bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Bir yamanın odak dışı bozukluk içerip içermediği ve cGAN için oluşturulan veri setinden odak dışı bozukluk içeren yamaların atılması için 500 adet farklı tüm slayt görüntülerden rastgele koparılmış yama görüntüsü kullanılarak ilgili yamaların *mean_intensity*, *standart_sapması* ve *varyans* değerleri hesaplanmış tüm hesaplanan değerlerin ortalaması alınarak belirlenen kısıtlar için eşik değeri belirlenmiştir. Bu eşik değerleri sırasıyla, *mean_intestiy* = 160, *varyans* = 650 ve *standart_sapma* = 41 olarak bulunmuştur. Şekil 2 (c)'



Şekil 2. Boyamasız ve H&E olarak boyanmış tüm slayt görüntülerinin ikili maske ile maskelenmesi ve küçük yamalara ayrılması

bilgisi içermesi yani sadece arka plandan oluşan boş görüntü olmaması garanti altına alınmıştır. Bunun için anterior prostat dokusu veri seti [24] içerisinde her bir tüm slayt görüntü için uzmanlar tarafından manuel olarak oluşturulmuş maskeler bulunmaktadır. Veri setinde H&E boyalı ve boyasız tüm slaytların doku sınırlarını maskeleyen ikili görüntü formatında (binary image) bir adet maske görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 2 (b)' de her bir tüm slayt görüntü çifti (boyasız ve H&E boyanmış) için kullanılan sadece doku bilgisi bulunan alanları maskeleyen ikili maske görüntüsü gösterilmektedir. Tüm slayt görüntülerden küçük yamalar koparılırken öncelikle boyasız ve H&E boyanmış tüm slayt görüntüleri ile ve (and) operasyonuna uğratarak görüntüde sadece doku bölgelerinin 1 kalan bölgelerin 0 piksel değeri ile çarpılması sağlanmıştır. Bu sayede bir tüm slayt görüntüde sadece doku bilgisinin bulunduğu alanlar maskelenmiştir. İkinci kısıt olarak tüm slayt görüntüden seçilen 1024×1024 boyutundaki yamanın odak dışı bozukluk içerip içermediği hesaplanmıştır.

de ikili maske görüntüsü ile maskelenmiş tüm slayt görüntüleri gösterilmektedir. Şekil 2 (d)' de doku sınırları maskelenmiş tüm slayt görüntülerin küçük yamalar şeklinde bölünmesi işlemi gösterilmektedir. Tüm slayt görüntülerden 1024×1024 'lük yamalar birbiriyle örtüşmeyecek şekilde pencere kaydırma miktarı 1024 olarak belirlenmiştir. Şekil 2 (d)' de gösterilen tüm slayt görüntülerin küçük yamalar olarak bölünmesi işlemi daha önceden anlatılan kısıtlar her bir tüm slayt görüntü için uygulanmıştır ve cGAN veri seti oluşturulmuştur. Anterior prostat dokusu veri setinde toplam 81 adet tüm slayt görüntü çifti (boyasız ve H&E boyanmış) bulunmaktadır. Referans çalışmada bu 81 adet tüm slayt görüntü çiftinin 13 tanesi test için kalan tüm slayt görüntüleri ise



Şekil 3. Koşullu çekişmeli üretici ağ (cGAN- The Conditional Generative Adversarial Network) mimarisi, (A) Boyamasız doku görüntülerini, H&E boyamalı görüntülere dönüştüren üretici ağ mimarisi, (B) Sahte ve gerçek görüntüleri birbirinden ayıran ayırıcı ağ mimarisi

eğitim aşamasında kullanılmıştır. Bu çalışmada ise eğitilmiş cGAN ağı referans çalışmada belirtilen 13 adet test görüntüsü ile test edilmiş ve sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir. cGAN ağı için ise geri kalan 68 tüm slayt görüntüden rastgele 7 tanesi seçilmiş ve bu 7 tüm slayt görüntüden 1024x1024 boyutunda birbirleriyle örtüşmeyen toplam 3013 tane görüntü elde edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan donanım (GPU kartı) orijinal veri setindeki 68 adet tüm slayt görüntü ile cGAN modelinin eğitiminde yetersiz kaldığı için en fazla kullanılabilir sayıda görüntü ile deneysel çalışmalar tamamlanmıştır.

3.2. Çekişmeli üretici ağ model mimarisi ve hiper-parametreler

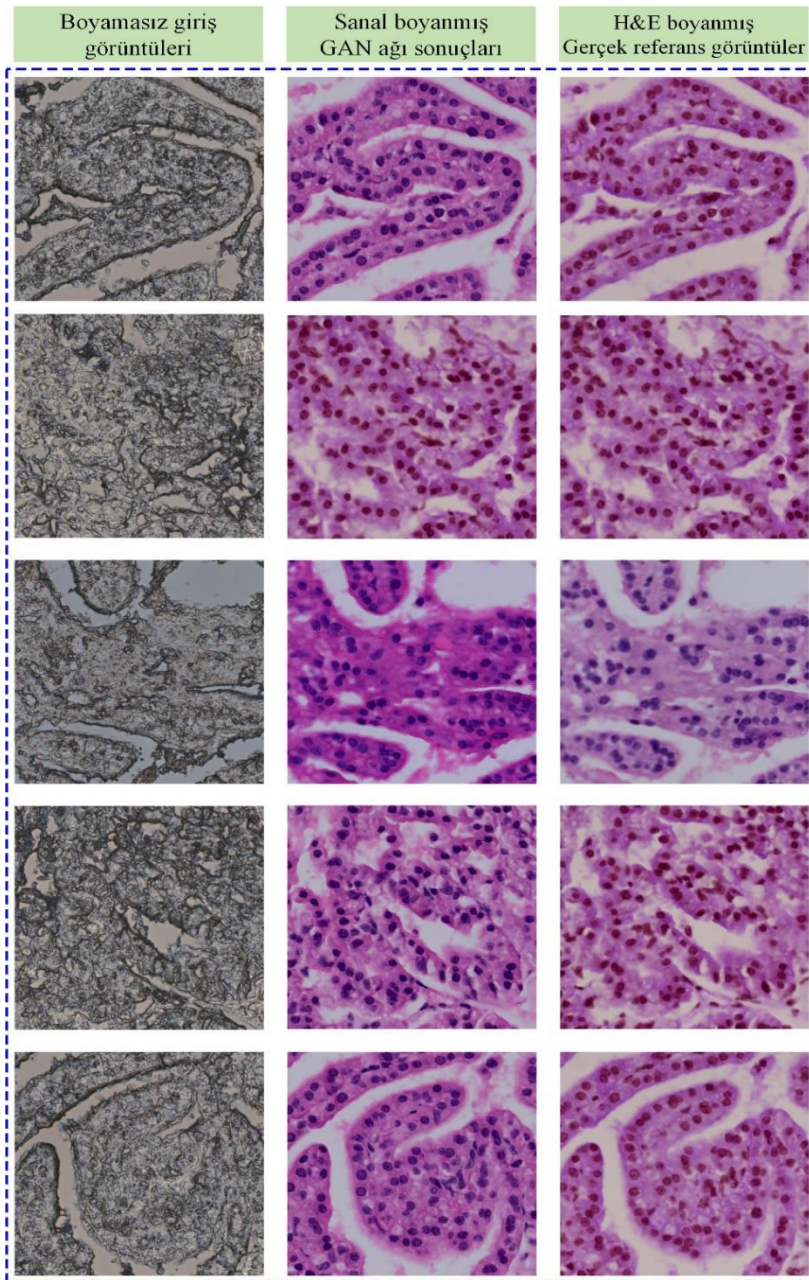
Deneysel çalışmada kullanılan koşullu çekişmeli üretici ağ modeli, bir adet üretici (G-generator) ve bir adet ayırıcı (D- discriminator) derin sinir ağından oluşmaktadır. Üretici ve ayırıcı ağlar rekabetçi bir şekilde eş zamanlı olarak eğitilirler ve birbirlerinin performansını iyileştirirler. Deneysel çalışmalarımızda, üretici G ve ayırıcı D ağları Denklem 1’de gösterilen kayıp fonksiyonlarını en aza indirmek için eş zamanlı olarak optimize edilmiştir.

$$\begin{aligned}
 \mathcal{L}_{\text{üretici}} &= \alpha \times L_1\{I_{\text{ref}}, G(I_{\text{in}})\} - \lambda \\
 &\quad \times \log\left(\frac{1 + \text{SSIM}\{I_{\text{ref}}, G(I_{\text{in}})\}}{2}\right) \\
 &\quad + \omega \times \text{BCE}\{D(G(I_{\text{in}})), 1\}, \\
 \mathcal{L}_{\text{ayırıcı}} &= \text{BCE}\{D(G(I_{\text{in}})), 0\} + \text{BCE}\{D(G(I_{\text{ref}})), 1\}
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

Denklem 1’de G üretici ağı tahmin sonucunu (çıkarmını), D ise ayırıcının bir görüntünün gerçekten H&E boyanmış doku görüntüsü olma olasılığını temsil eder. I_{in} boyasız cGAN ağı giriş görüntülerini temsil etmekte, I_{ref} H&E boyanmış referans görüntüleri temsil etmektedir, $(\alpha, \lambda, \omega)$ ise $\mathcal{L}_{\text{üretici}}$ denkleminde kullanılan katsayılarıdır. Bu katsayılar, üreticinin çıkışı ile karşılık gelen referans görüntü arasındaki piksel bazlı düzgün (smooth) L1 hatası, üreticinin çıkışının yapısal benzerlik (SSIM) kaybı ve ayırıcının çıkış görüntüsüne ilişkin tahminlerinin ikili çapraz entropi (BCE-Binary cross entropy) kaybı arasındaki dengeyi sağlamak için kullanılmaktadır. Çalışma üç farklı kayıp fonksiyonu birlikte kullanılmıştır. Üretici ağ kayıp değeri üç farklı kayıp fonksiyonunu birleştirerek kullanır. L1 kayıp fonksiyonu, SSIM tabanlı kayıp ve ikili çapraz entropi (BCE-binary cross entropy) kaybı: L1 kaybı, ortalama mutlak hata (MAE- Mean Absolute Error) olarak da bilinmektedir, sentetik görüntü ile gerçek referans arasındaki ortalama mutlak farkı ölçer [32]. Bu kayıp fonksiyonu oluşturulan görüntünün piksel değerleri açısından gerçek görüntüye mümkün olduğunca yakın olmasını sağlar. SSIM tabanlı kayıp ile İki görüntü arasındaki parlaklık, kontrast ve yapısal(morfolojik) açıdan benzerlik ölçülür. SSIM tabanlı kayıp, sentetik olarak üretilen ve referans görüntüleri arasındaki yapısal benzerliği yakalamak için tasarlanmıştır. SSIM’ in logaritmasını alıp ölçekleyerek, referansla yapısal olarak farklı görüntüler oluşturduğu için üretici cezalandırır. İkili çapraz entropi kaybı (BCE), ayırıcının sentetik olarak üretilen görüntüyü gerçek olarak ne kadar iyi sınıflandırdığını ölçer [33]. Böylelikle üretici daha kaliteli gerçeğe yakın

görüntüler üretmek, ayırıcının gerçek olarak sınıflandıracağı görüntüler üretir. Böylece üretilen görüntülerin gerçeğe yakın olma olasılığı artırılır. Şekil 3 (a)' da gösterildiği gibi, üretici ağı 4 örnekleme seviyesine sahip U-Net [34] mimarisi kullanılarak oluşturulmuştur. Bu mimari, çeşitli ölçeklerde mekânsal özellik dönüşümlerini öğrenerek boyasız doku görüntülerini H&E boyanmış görüntülere dönüştürmek üzere tasarlanmıştır. U-Net mimarisi hem daha sığ seviyelerde yüksek çözünürlüklü yerel özellikleri hem de daha derin seviyelerde daha büyük ölçekli küresel bağlamı yakalamaktadır. U-Net ağı mimarisi, birbirine simetrik olan bir aşağı örnekleme yolu ve bir yukarı örnekleme yolundan oluşur. Aşağı örnekleme yolu dört aşağı örnekleme evrişimsel

bloğundan oluşur. Her blok, iki evrişimsel katmanlı bir artık bloğu (residual blocks), ardından bir aktivasyon bloğu (ReLU) ve aşağı örnekleme için 2 adım boyutuna sahip 2×2 pencere boyutuna sahip maksimum havuzlama işlemi içerir. Bir evrişimsel artık yolu, çekirdek boyutu 3×3 olan iki ardışık evrişimsel katmana sahip iki evrişimsel katmanlı artık bloklardaki giriş ve çıkış tensörlerini birbirine bağlar. Aşağı örnekleme işleminin her aşamasında, giriş kanalları ve çıkış kanalları sırasıyla 3, 64, 128 ve 256 ve 64, 128, 256 ve 512 olarak ayarlandı. Simetrik bir şekilde, yukarı örnekleme yolu, aşağı örnekleme evrişim bloklarına benzer şekilde tasarlanmış dört yukarı örnekleme evrişim bloğundan oluşur. Temel fark, $2x$ aşağı örnekleme (downsampling) işleminin $2x$ çift



Şekil 4. Boyasız giriş görüntülerinin koşullu çekişmeli üretici ağı modeli ile sanal boyanması sonucu elde edilen örnek görüntüler

Tablo 1. Boyamasız doku görüntülerinin sanal boyanması sonucunda gerçek referans görüntüler ile SSIM, PSNR ve PCC metrikleri bakımından karşılaştırılması ve elde edilen sonuçlar. Her bir görüntü için verilen değer, ilgili görüntünün tüm yamalarından hesaplanan değerlerinin ortalamasıdır

Tüm Slayt Görüntü	SSIM		PSNR		PCC	
	Bu çalışma	Referans çalışma	Bu çalışma	Referans çalışma	Bu çalışma	Referans çalışma
Görüntü 1	0,648	0,733	17,672	21,718	0,808	0,853
Görüntü 2	0,611	0,734	19,615	21,481	0,807	0,853
Görüntü 3	0,701	0,716	21,831	21,514	0,865	0,874
Görüntü 4	0,699	0,757	21,463	22,597	0,86	0,883
Görüntü 5	0,7	0,712	21,902	21,717	0,852	0,872
Görüntü 6	0,63	0,648	22,055	20,52	0,922	0,922
Görüntü 7	0,631	0,699	21,438	22,034	0,898	0,923
Görüntü 8	0,73	0,773	23,717	24,518	0,916	0,929
Görüntü 9	0,707	0,772	22,231	24,251	0,897	0,928
Görüntü 10	0,66	0,716	21,319	23,671	0,864	0,928
Görüntü 11	0,691	0,735	22,901	23,527	0,877	0,921
Görüntü 12	0,638	0,708	22,69	23,623	0,901	0,929
Görüntü 13	0,62	0,715	20,496	23,11	0,872	0,926
Ortalama	0,668	0,724	21,487	22,609	0,872	0,903
STD	0,038	0,032	1,485	1,168	0,035	0,030

doğrusal yukarı örnekleme (bilinear upsampling) işlemiyle değiştirilmesidir. Her yukarı örnekleme bloğu, önceki bloktan gelen çıkış tensörünün birleşimini ve aşağı örnekleme yolunun eşleşen seviyesinden karşılık gelen özellik haritalarını, bir bağlantı aracılığıyla giriş olarak alır. Yukarı örnekleme yolunun her seviyesindeki giriş kanalı ve çıkış kanalı sayıları giriş seviyeleri için 1024, 1024, 512 ve 256, çıkış seviyeleri için ise 1024, 512, 256 ve 128' dir. Yukarı örnekleme yolunu takiben, iki evrişimli katmanlı bir artık blok, ek bir tek evrişimli katmanla birlikte, kanal sayısını 3'e düşürerek gerçek referans görüntülerinin kanal sayısı ile hizalanır. Ayrıca, aşağı örnekleme yolu ve yukarı örnekleme yolunun boyutlarını bağlamak ve uyumlu hale getirmek için iki evrişimli katmanlı bir merkez blok kullanılmıştır. Şekil 3 (b)' de ayırıcı ağı yapısı gösterilmektedir. 3 kanallı üretici ağ çıktısı veya gerçek referans görüntüsü başlangıçta bir evrişimsel katman ve bir Leaky ReLU işlemi olan ilk blok tarafından 64 kanallı bir tensöre dönüştürülmüştür. Daha sonra, her giriş tensörünün kanal özellik sayısı iki katına çıkarılır ve altı ardışık iki evrişimsel katman bloğu kullanılarak aşağı örnekleme gerçekleştirilmiştir. Her bloğun adım boyutundaki ikinci evrişimsel katman, 2x aşağı örnekleme etkinleştirmek için 2 olarak ayarlanmıştır. Çıkış tensörü ortalaması alınmıştır ve altı bloktan geçtikten sonra tek boyutlu bir vektöre düzleştirilmiştir. Daha sonra bu vektör, giriş görüntüsünün H&E boyalı görüntü olma olasılığını belirlemek için iki tam bağlı katmana girdi olarak verilmiştir. Derin sinir ağının eğitimi aşamasında, eğitim veri setinin 1024×1024 piksel görüntülerinden rastgele seçilen 256×256 piksel görüntü yamaları, ağ modelini eğitmek için kullanılmıştır. Model eğitimi sırasında herhangi bir veri artırma uygulanmamıştır. Öğrenilebilir parametreler, üretici ağı için sırasıyla 3×10^{-5} ve ayırıcı ağ için

3×10^{-6} öğrenme oranlarıyla ağırlık azaltma özelliğine sahip bir Adam optimize edici kullanılarak güncellenmiştir. Üretici ağ için yığın boyutu 2 olarak belirlenmiştir. Üretici ve ayırıcı için ağırlık güncelleme sıklığı 2:1 dir. Koşullu çekişmeli üretici ağı hiperparametreleri, dijital patoloji görüntülerinin sanal boyanmasında yüksek başarımlı gösterdiği bilinen [35] referans çalışmasındaki değerler dikkate alınarak belirlenmiştir. Ağ, 500 dönem boyunca eğitilmiştir. Daha sonra, doğrulama görüntülerinin görsel incelemesiyle desteklenen ortalama karesel hata (MSE) kaybının değerlendirilmesiyle en uygun model test için kaydedilmiştir. Tüm görüntü ön işleme ve veri seti hazırlama işlemleri için Python (versiyon: 3.9.18) kullanılmıştır. Sanal boyama ağının geliştirilmesinde Python sürümü 3.9.18 ve Pytorch sürümü 2.1.0 kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar, Intel I7 11800H, 16GB RAM ve Nvidia RTX 3050 4GB RAM' e sahip bir bilgisayarda gerçekleştirilmiştir.

IV. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, boyanmamış doku görüntülerini H&E boyalı görüntülere dönüştürmek için GAN tabanlı modelimizin performansını referans çalışma veri setinden 13 test görüntüsü kullanarak değerlendirdik. Modelimiz, referans çalışmada kullanılan toplam veri setinin yaklaşık %10' unu oluşturan sınırlı sayıda 7 WSI görüntüsünde eğitildi. Çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 1' de gösterilmektedir. Modelin eğitiminde 7 adet tüm slayt görüntüden elde edilen 1024×1024 boyutunda yamalar kullanılmıştır ve toplam 3013 adet yama ile model eğitilmiştir (referans çalışmada model eğitiminde 1149516 adet yama kullanılmıştır). Referans çalışmada eğitim için 68 adet tüm slayt görüntü bulunmaktadır, kullandığımız GPU' nun hesaplama kapasitesinin yetersiz olmasından dolayı bu çalışmada anterior prostat dokusu [24] veri

setindeki tüm slayt görüntülerin yaklaşık ~%10 u çalışmaya dahil edilmiştir. Veri setinin sadece ~%10 u (68 tam slayt görüntüsünden 7'si) kullanılarak yapılan deneysel çalışma sonuçlarına göre, sınırlı eğitim verilerine rağmen, modelimiz Tablo 1' de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi SSIM, PSNR ve PCC ölçümleri açısından referans çalışmayla karşılaştırılabilir sonuçlar elde etmiştir. Çalışmada elde edilen SSIM değerleri 0,611 ile 0,73 arasında değişmekte olup, ortalaması 0,668 ve standart sapması 0,038'dir. Buna karşılık, referans çalışmada SSIM değerleri 0,648 ile 0,773 arasında değişmekte olup, ortalaması 0,724 ve standart sapması 0,032'dir. SSIM değerlerimiz ortalama olarak biraz daha düşük olsa da sonuçlar önemli ölçüde daha küçük eğitim veri kümesi göz önüne alındığında hala makul bir aralıktadır. Sonuçlar, modelimizin azaltılmış eğitim verilerine rağmen referans çalışmadaki görüntülere göre yapısal olarak benzer görüntüler üretebildiğini göstermektedir. Çalışmamızdaki PSNR değerleri 17,672 ile 23,717 arasında değişmektedir, ortalaması 21,487 ve standart sapması 1,485 olarak hesaplanmıştır. Referans çalışmada ise PSNR değeri 20,52 ile 24,518 arasında değişmektedir, ortalaması 22,609 ve standart sapması 1,168'dir. Çalışmamız için PCC değerleri 0,807 ile 0,922 arasında değişmektedir ve ortalaması 0,872 ve standart sapması 0,035'tir. Referans çalışmada ise PCC değerleri 0,853 ile 0,929 arasında değişmekte olup, ortalaması 0,903 ve standart sapması 0,030'dur. Bizim PCC değerlerimiz biraz daha düşüktür ancak yine de üretilen ve referans görüntüler arasında yüksek derecede bir korelasyon görülmektedir. Özellikle, Görüntü 6 için modelimiz 0,922 ile eşit bir PCC değerine ulaşmıştır, bu üretilen ve referans görüntüler arasında yüksek derecede bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, modelimizin genel boyama desenlerini ve piksel yoğunlukları arasındaki ilişkileri etkili bir şekilde yakaladığını ortaya koymaktadır. Özellikle daha yüksek detaya sahip olan görüntüler için hem referans çalışma hem de çalışmamız ~0,92 ile yaklaşık aynı değerleri üretmektedir. Sonuçlar, referans çalışmada kullanılan veri setinin yalnızca %10' u üzerinde eğitilmiş olmasına rağmen modelimizin üç metriğe de karşılaştırılabilir performans gösterdiğini göstermektedir. SSIM, PSNR ve PCC' deki hafif azalmalar, sınırlı eğitim verileri nedeniyle beklenmektedir. Ancak, modelimizin benzer ortalama değerlere ve standart sapmalara ulaşması, iyi genelleştirilebildiğini ve boyanmamış doku görüntülerinden yüksek kaliteli H&E boyalı görüntüler üretebileceğini göstermektedir. Şekil 4' te modelimizin ürettiği boyanmamış doku görüntülerinden yüksek kaliteli sanal H&E boyalı görüntüler gösterilmektedir. Tüm görüntüler ayrı ayrı incelendiğinde modelimiz, Görüntü 3 ve 6 için modelimiz karşılaştırılabilir SSIM ve PCC değerlerini korurken daha iyi PSNR elde etmiştir. Veri boyutu önemli ölçüde azaltılmış bir veri kümesiyle bile, modelimizin boyanmamış doku görüntülerini H&E boyalı görüntülere dönüştürmedeki etkinliği ortaya

konmaktadır. Önerilen yöntem ile performans ölçümlerinde hafif bir azalma olsa da eğitim verilerinin yalnızca %10' u ile karşılaştırılabilir sonuçlar elde etme yeteneği, verimlilik ve kaynak kullanımında önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir.

V. SONUÇ

Bu çalışmada boyasız doku görüntülerini H&E boyalı görüntülere dönüştürmek için cGAN tabanlı bir modelin etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada yedi tüm slayt görüntüsü küçük yamalara ayrılıp daha sonra her bir yama bir görüntü ön işlemden geçirilerek veri seti oluşturulmuştur. Veri setindeki görüntüler cGAN modeli ile eğitilerek eğitilmiş model boyamasız görüntü çiftleri ile test edilmiş ve boyamasız görüntü çiftleri sanal H&E boyalı görüntülere dönüştürülmüştür. Sanal boyalı H&E görüntüler ile gerçek referans görüntüler üç ayrı değerlendirme metriği (SSIM, PSNR ve PCC) açısından kıyaslanmıştır ve elde edilen sonuçlar raporlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, 13 test görüntüsü için çalışmamız SSIM, PSNR ve PCC değerleri açısından sırasıyla ortalama 0,668, 21,487 ve 0,872 olarak hesaplanmıştır. Referans çalışma ile çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların metrikler açısından farkı SSIM için ~5 puan, PSNR için ~1 puan, PCC için ise ~3 puan referans çalışmadaki değerler daha yüksektir. Çalışmamızda kullanılan tüm slayt görüntüler, referans çalışmadaki tüm slayt görüntülerin ~%10' u olduğu düşünüldüğünde elde edilen sonuçların karşılaştırılabilir ve rekabet edilebilir olduğu görülmektedir. Ayrıca referans çalışmada model dört ayrı GPU ile yaklaşık 340 saat eğitilmiştir. Çalışmamızda tek bir GPU ile modelimizin eğitim süresi ~17 saattir. Çalışmamız referans çalışmaya göre 80 kat $((340*4)/17)$ daha az hesaplama süresine sahiptir. Sonuçlar dikkate alındığında çalışmamız özellikle referans çalışma ile mukayese edildiğinde enerji verimliliği bakımından büyük bir kazanım göstermektedir. Deneysel çalışmalarda kullanılan ekran kartı hızlandırıcısı standart olarak birçok bilgisayar altyapısında bulunabilen düşük maliyetli ve ulaşılabilir bir donanım hızlandırıcısıdır. Bu sebeple, özel donanım hızlandırıcılarının yüksek maliyetinden kurtularak, daha düşük hesaplama kapasitesine sahip bir donanım ile rekabetçi sonuçlar elde edilmiştir. Referans çalışma ile kıyaslandığında, elde edilen sonuçlar ile gerçek referans görüntüler arasında nitel olarak hemen hemen bir fark olmadığı, nicel olarak değerlendirildiğinde ise metrik sonuçlarının kabul edilebilir uzaklıkta hesaplandığı söylenebilir. Özellikle çok düşük hesaplama maliyeti ve az etiketli veri miktarı ile deneysel çalışmanın tamamlanması dikkate alındığında elde edilen sonuçların kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu ortaya görülmektedir. Bu bulgular, özellikle çok sayıda eğitim görüntüsü edinmenin zor olduğu senaryolarda faydalı olabilecek, azaltılmış bir veri setiyle verimli ve etkili görüntü dönüşümü elde etme yaklaşımımızın potansiyelini vurgulamaktadır ve büyük miktarda etiketli verinin

elde edilmesinin zor veya maliyetli olduğu senaryolarda özellikle değerlidir. Elde edilen sonuçlar görsel olarak incelendiğinde, morfolojik özelliklerin korunduğu, hücre çekirdeklerinin sayısı ve konumlarının doğru şekilde oluşturulduğu ve boyandığı görülmektedir. Ayrıca klinik çalışmalarda kimyasal boyama için gereksinim duyulan uzmanlık bilgisinin ve maliyetin azaltılarak verimlilik artışı sağlanacaktır. Referans çalışmadaki histopatolojik görüntülerin H&E boyaması sonucunda boyama varyansları (stain variations) bulunmaktadır. Boyamadan kaynaklı varyasyonlar üretilen sentetik görüntüler arasında renk farklılıkları oluşturmaktadır, bu farklılıklar görsel olarak da görülmektedir. Sonraki çalışmamızda H&E boyamadan kaynaklı oluşan varyasyonların giderilmesi için derin sinir ağı tabanlı stil transformasyonu yöntemi test edilecektir. Ayrıca derin öğrenme yaklaşımı ile birden fazla boyama modalitesini tek bir ağ tarafından gerçekleştirebilen hibrit bir model oluşturulması hedeflenmiştir. Gelecekteki çalışmalar, eğitim verilerini artırmaya veya modelin performansını daha da iyileştirmek için U-Net modeline dikkat mekanizması eklenerek kullanmaya odaklanılacaktır. Sonuç olarak, çalışmamız, GAN tabanlı bir modelin, önemli ölçüde daha küçük bir eğitim veri setiyle bile boyanmamış doku görüntülerini H&E boyalı görüntülere dönüştürmede referansa yakın performans elde edebileceğini göstermektedir. Bu, verimli ve ölçeklenebilir histopatolojik görüntü analizi için yeni olanaklar sunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] J. D. Martina, C. Simmons, and D. M. Jukic, "High-definition hematoxylin and eosin staining in a transition to digital pathology," *J Pathol Inform*, vol. 2, no. 1, 2011, doi: 10.4103/2153-3539.86284.
- [2] M. G. Hanna *et al.*, "Integrating digital pathology into clinical practice," 2022. doi: 10.1038/s41379-021-00929-0.
- [3] K. Bera, K. A. Schalper, D. L. Rimm, V. Velcheti, and A. Madabhushi, "Artificial intelligence in digital pathology — new tools for diagnosis and precision oncology," *Nat Rev Clin Oncol*, vol. 16, no. 11, 2019, doi: 10.1038/s41571-019-0252-y.
- [4] V. Baxi, R. Edwards, M. Montalto, and S. Saha, "Digital pathology and artificial intelligence in translational medicine and clinical practice," 2022. doi: 10.1038/s41379-021-00919-2.
- [5] R. Colling *et al.*, "Artificial intelligence in digital pathology: a roadmap to routine use in clinical practice," *Journal of Pathology*, vol. 249, no. 2, 2019, doi: 10.1002/path.5310.
- [6] B. Acs and J. Hartman, "Next generation pathology: artificial intelligence enhances histopathology practice," 2020. doi: 10.1002/path.5343.
- [7] H. Reza Tizhoosh and L. Pantanowitz, "Artificial intelligence and digital pathology: Challenges and opportunities," *J Pathol Inform*, vol. 9, no. 1, 2018, doi: 10.4103/jpi.jpi_53_18.
- [8] T. M. Abraham *et al.*, "Label- and slide-free tissue histology using 3D epi-mode quantitative phase imaging and virtual hematoxylin and eosin staining," *Optica*, vol. 10, no. 12, 2023, doi: 10.1364/optica.502859.
- [9] S. Koivukoski, U. Khan, P. Ruusuvoori, and L. Latonen, "Unstained Tissue Imaging and Virtual Hematoxylin and Eosin Staining of Histologic Whole Slide Images," *Laboratory Investigation*, vol. 103, no. 5, 2023, doi: 10.1016/j.labinv.2023.100070.
- [10] G. Wolflein, I. H. Um, D. J. Harrison, and O. Arandjelovic, "HoechstGAN: Virtual Lymphocyte Staining Using Generative Adversarial Networks," in *Proceedings - IEEE Winter Conference on Applications of Computer Vision, WACV 2023*, doi: 10.1109/WACV56688.2023.00497.
- [11] A. Yilmaz, T. Aydın, and R. Varol, "Virtual staining for pixel-wise and quantitative analysis of single cell images," *Sci Rep*, vol. 13, no. 1, 2023, doi: 10.1038/s41598-023-45150-y.
- [12] S. Biswas and S. Barma, "Feature Fusion GAN Based Virtual Staining on Plant Microscopy Images," *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*, 2024, doi: 10.1109/TCBB.2024.3380634.
- [13] K. Sun, Z. Chen, G. Wang, J. Liu, X. Ye, and Y. G. Jiang, "Bi-directional Feature Fusion Generative Adversarial Network for Ultra-high Resolution Pathological Image Virtual Restaining," in *Proceedings of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2023. doi: 10.1109/CVPR52729.2023.00380.
- [14] A. Golfé, R. del Amor, A. Colomer, M. A. Sales, L. Terradez, and V. Naranjo, "ProGleason-GAN: Conditional progressive growing GAN for prostatic cancer Gleason grade patch synthesis," *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 240, 2023, doi: 10.1016/j.cmpb.2023.107695.
- [15] K. de Haan *et al.*, "Deep learning-based transformation of H&E stained tissues into special stains," *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-25221-2.

- [16] X. Meng, X. Li, and X. Wang, "A Computationally Virtual Histological Staining Method to Ovarian Cancer Tissue by Deep Generative Adversarial Networks," *Comput Math Methods Med*, vol. 2021, 2021, doi: 10.1155/2021/4244157.
- [17] Y. Zhang, K. de Haan, Y. Rivenson, J. Li, A. Delis, and A. Ozcan, "Digital synthesis of histological stains using micro-structured and multiplexed virtual staining of label-free tissue," *Light Sci Appl*, vol. 9, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s41377-020-0315-y.
- [18] J. Boschman *et al.*, "The utility of color normalization for AI-based diagnosis of hematoxylin and eosin-stained pathology images," *Journal of Pathology*, vol. 256, no. 1, 2022, doi: 10.1002/path.5797.
- [19] T. A. Azevedo Tosta, P. R. de Faria, L. A. Neves, and M. Z. do Nascimento, "Computational normalization of H&E-stained histological images: Progress, challenges and future potential," 2019. doi: 10.1016/j.artmed.2018.10.004.
- [20] S. Vijh, M. Saraswat, and S. Kumar, "A new complete color normalization method for H&E stained histopathological images," *Applied Intelligence*, vol. 51, no. 11, 2021, doi: 10.1007/s10489-021-02231-7.
- [21] A. Janowczyk, A. Basavanahally, and A. Madabhushi, "Stain Normalization using Sparse AutoEncoders (StaNoSA): Application to digital pathology," *Computerized Medical Imaging and Graphics*, vol. 57, 2017, doi: 10.1016/j.compmedimag.2016.05.003.
- [22] M. Z. Hoque, A. Keskinarkaus, P. Nyberg, and T. Seppänen, "Stain normalization methods for histopathology image analysis: A comprehensive review and experimental comparison," *Information Fusion*, vol. 102, 2024, doi: 10.1016/j.inffus.2023.101997.
- [23] J. Vasiljević, F. Feuerhake, C. Wemmert, and T. Lampert, "HistoStarGAN: A unified approach to stain normalisation, stain transfer and stain invariant segmentation in renal histopathology," *Knowl Based Syst*, vol. 277, 2023, doi: 10.1016/j.knosys.2023.110780.
- [24] U. Khan, S. Koivukoski, M. Valkonen, L. Latonen, and P. Ruusuvoori, "The effect of neural network architecture on virtual H&E staining: Systematic assessment of histological feasibility," *Patterns*, vol. 4, no. 5, 2023, doi: 10.1016/j.patter.2023.100725.
- [25] I. J. Goodfellow *et al.*, "Generative adversarial nets," in *Advances in Neural Information Processing Systems*, 2014. doi: 10.1007/978-3-658-40442-0_9.
- [26] R. Yan *et al.*, "Unpaired virtual histological staining using prior-guided generative adversarial networks," *Computerized Medical Imaging and Graphics*, vol. 105, 2023, doi: 10.1016/j.compmedimag.2023.102185.
- [27] H. Zhang, V. Sindagi, and V. M. Patel, "Image De-Raining Using a Conditional Generative Adversarial Network," *IEEE Transactions on Circuits and Systems for Video Technology*, vol. 30, no. 11, 2020, doi: 10.1109/TCSVT.2019.2920407.
- [28] Z. Wang, *et al.*, "Image quality assessment: From error visibility to structural similarity," *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 13, no. 4, 2004, doi: 10.1109/TIP.2003.819861.
- [29] D. R. I. M. Setiadi, "PSNR vs SSIM: imperceptibility quality assessment for image steganography," *Multimed Tools Appl*, vol. 80, no. 6, 2021, doi: 10.1007/s11042-020-10035-z.
- [30] H. Rahadian, S. Bandong, A. Widyotriatmo, and E. Joelianto, "Image encoding selection based on Pearson correlation coefficient for time series anomaly detection," *Alexandria Engineering Journal*, vol. 82, 2023, doi: 10.1016/j.aej.2023.09.070.
- [31] O. Ciga, T. Xu, *et al.*, "Overcoming the limitations of patch-based learning to detect cancer in whole slide images," *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-88494-z.
- [32] Y. Tian, D. Su, S. Lauria, and X. Liu, "Recent advances on loss functions in deep learning for computer vision," 2022. doi: 10.1016/j.neucom.2022.04.127.
- [33] A. Salar and A. Ahmadi, "Improving loss function for deep convolutional neural network applied in automatic image annotation," *Visual Computer*, vol. 40, no. 3, 2024, doi: 10.1007/s00371-023-02873-3.
- [34] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, "U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation," in *Lecture Notes in Computer Science*, 2015. doi: 10.1007/978-3-319-24574-4_28.
- [35] Bijie Bai, *et al.* Label-Free Virtual HER2 Immunohistochemical Staining of Breast Tissue using Deep Learning. *BME Front*. 2022; DOI:10.34133/2022/9786242