

Methods Used In The Classification of White Blood Cells from Blood Cell Images Taken under a Digital Microscope

Furkan Çam¹, Ayşegül Güven¹

¹Erciyes University, Biomedical Engineering Department Kayseri/TURKEY

Abstract: The number, structure and shape of the White blood cells in the blood structure allow us reach clinically important information. To obtain this information, the microscope images are examined and the results are sent to the doctor. However this processing that made manual by experts cause tiring and time consuming. Because of these reasons automatically determining the cells and determining which class belongs will accelerate the process and allow more data to be examined. Most researchers use a variety of methodologies on cell counting and detection. We will focus on the methodologies used in this article. The aim is to study these methodologies to get more accuracy and to guide future researchs.

Keywords: White blood cells, Image Processing, Segmentation, Classification

Dijital Mikroskop Altında Alınan Kan Hücreleri Görüntülerinden Beyaz Kan Hücrelerinin Sınıflandırılmasında Kullanılan Yöntemler

Özet: Kan yapısında bulunan beyaz kan hücrelerinin sayısı, yapısı ve şekli klinik açıdan önemli bilgilere ulaşmamızı sağlamaktadır. Bu bilgilere ulaşmak için alınan mikroskop görüntüleri incelenir ve elde edilen bulgular doktora iletilir. Ancak uzmanlar tarafından manuel olarak yapılan bu işlemler yorucu ve zaman kaybına sebebiyet vermektedir. Bu sebeplerden dolayı otomatik olarak hücrelerin belirlenmesi ve hangi sınıfa ait olduğunun tespit edilmesi, işlemleri hızlandıracak ve daha fazla verinin incelenebilmesine olanak sağlayacaktır. Araştırmacıların çoğu hücre sayımı ve algılanması üzerine çeşitli metodolojiler kullanılmaktadır. Bu makalemizde kullanılan metodolojiler üzerinde duracağız. Amaç, daha fazla doğruluk elde etmek için bu metodolojileri incelemek ve gelecekteki araştırmalara yön vermektir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz kan hücreleri (BKH), Görüntü işleme, segmentasyon, Sınıflandırma

Reference to this paper should be made as follows :

Furkan Çam, Ayşegül Güven, 'Methods Used In The Classification of White Blood Cells from Blood Cell Images Taken under a Digital Microscope', Elec Lett Sci Eng , vol. 15(3) , (2019), 23-43

1. Giriş

Beyaz kan hücreleri immün sistemimizde bulunan, vücudumuzu hastalık yapan virüslere, bakterilere ve parazitlere karşı koruyan hücre tipleridir. Bunlar Şekil 1 de görüldüğü gibi 5 farklı hücre tipinden oluşmaktadır ve bu hücreler kan yapısı içerisinde farklı yüzdelerde bulunmaktadır. Bunlar;

Nötrofil (%55 - %75)

Lenfosit (%20 - %40)

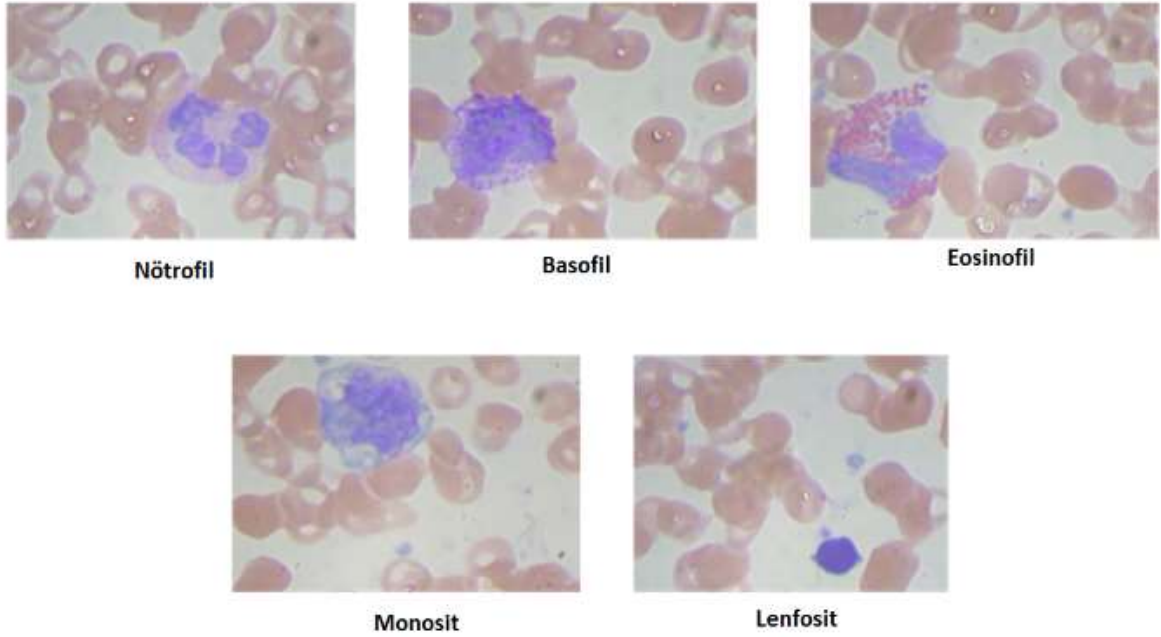
Eosinofil (%1 - %4)

Corresponding author; Tel.: +903522076666 Dahilli: 32979, furkancam_38@hotmail.com

Monosit (%2 - %8)

Basofil (%0.5 - %1)

Olarak kategorize edilmektedir [1]. Yukarıda belirtilen, hücrelerin kan içerisinde bulunma yüzdeleri sağlıklı bireyler için ortaktır. Beyaz kan hücre sayıları fazla ya da az olması çeşitli hastalıkların belirteci olmaktadır [2]. Örneğin monosit ve eosinofil sayıları yüksek çıkması bakteriyel enfeksiyonu, lenfositler de ki yükselen artış AIDS gibi hastalıkların olabileceğini göstermektedir [3]. Benzer şekilde her bir beyaz kan hücresi farklı doku, sitoplazma yapısı boyut ve çekirdek yapısına sahip olmaktadır. Beyaz kan hücrelerinin görüntüsünde ki olabilecek bozukluklar da çeşitli hastalıkların teşhisinde önemli bir rol oynamaktadır.



Şekil-1. Beyaz Kan Hücreleri [4]

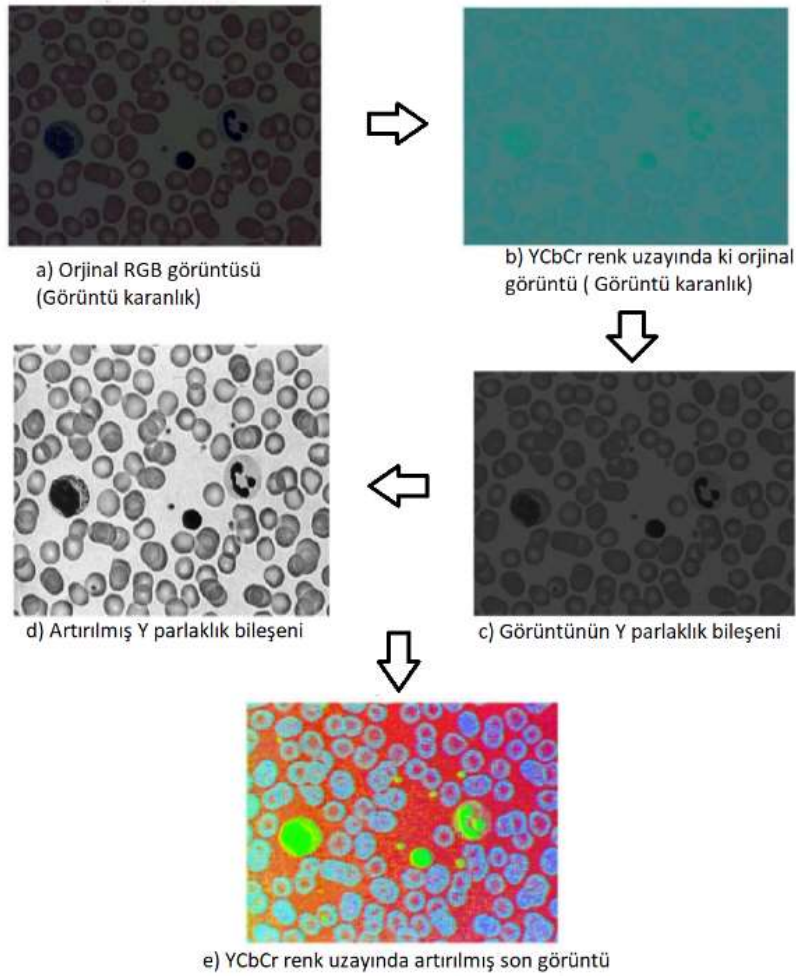
Geleneksel yöntemlerde uzman kişiler beyaz kan hücrelerini mikroskop altında manuel olarak inceler ve bu işlemin sıkıcı olması, fazla zaman alması ve hataya daha duyarlı olabilmesi sebebiyle otomatik sistemlerin gerekliliği söz konusu olmuştur [5].

Günümüzde görüntü işleminin ve yapay zekâ tekniklerinin gelişmesiyle birlikte beyaz kan hücrelerinin algılanması ve otomatik olarak sınıflandırılması ile ilgili çok sayıda alternatifler geliştirilmiştir. Genel olarak beyaz kan hücrelerinin algılanması ve tespit edilmesi 3 aşamadan oluşmaktadır. Bunlar görüntü ön işlemleri, görüntü segmentasyonu ve sınıflandırma tekniklerinin kullanılmasıdır. Devam eden bölümlerde beyaz kan hücrelerine özel olarak kullanılan yöntemler ele alınmıştır.

2. Ön İşlemler

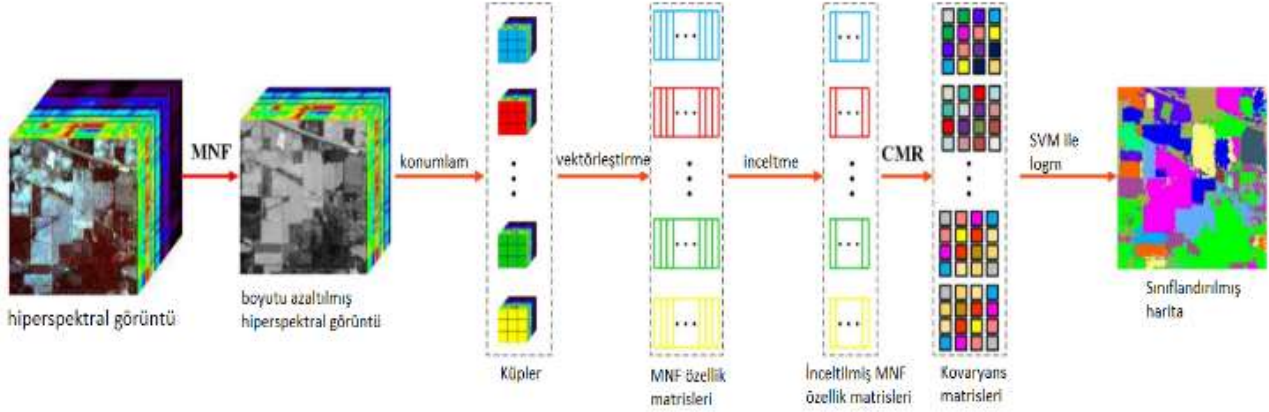
Görüntü üzerinde yapılan ön işlemler, görüntüyü ileri işlemlere hazırlamak için gerekli olan önemli bir bölümdür. Bu bölüm, alınan görüntünün kalitesinin artırılması, ileri işlemlerin daha doğru bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için bir hazırlık aşamasıdır. Mikroskoptan alınan görüntülerde gürültüler ya da aydınlatma ile ilgili sorunlar meydana gelebilmektedir. Bu gibi sorunların önüne geçebilmek için filtreleme, histogram eşitleme, eşikleme, maskeleyme, morfolojik işlemler, kontrast açma gibi ön işlemlere tabi tutulmaktadır.

Sharif ve diğerleri yaptıkları ön işlemlerde veri setleri içerisinde bulunan rastgele gürültüleri filtrelemek için ilgili filtre elemanın piksellerinin ortalamasını alan, elde edilen ortalama değeri merkezde ki değere atayan ve bu işlemle görüntüyü baştan sona filtreleyerek üzerinde ki gürültüleri elimine edebilen ortalama filtre yöntemini öne sürmektedirler. Filtre elemanı boyutunu 3x3'lük bir kare matris tipinde olması ve bu filtre tipi kullanılacak en küçük filtre boyutuna sahip olması sebebiyle, görüntünün herhangi küçük bölümündeki rastgele gürültüler bile giderilebilmektedir. Daha sonra kan hücre görüntülerinde sıklıkla meydana gelen aydınlık sorunlarının üstesinden gelmek için görüntüyü RGB(kırmızı-yeşil-mavi/ red-green-blue) renk görüntüsünden, aydınlık, negatif mavi renk ve negatif kırmızı renk ile ifade eden YCbCr(Luminance and chrominance/ Parlaklık ve luminans değerleri) görüntüsüne çevirmişlerdir. YCbCr renk dönüşümü beyaz kan hücrelerini algılama konusunda kolaylık sağladığını belirtmektedirler. Bir sonraki işlemde görüntünün daha kaliteli bir şekilde gösterilebilmesi için kontrast ve parlaklık ayarları yapmışlardır. Ortanca filtreye benzer yöntem gösteren, seçilen filtre elemanın piksel değerlerini küçükten büyüğe sıralanması sonucu ortanca olan değer alınması, bu değer merkez değere atanması ve resmin filtrelenmesi yöntemine dayanan medyan filtre yöntemi kullanılarak görüntü filtrelenmiş ve bu sayede görünüm artırılmıştır [6]. Şekil-2 de RGB görüntüsünü YCbCr görüntüsüne çevirerek beyaz kan hücrelerin belirlenmesi ile ilgili örnek verilmiştir.



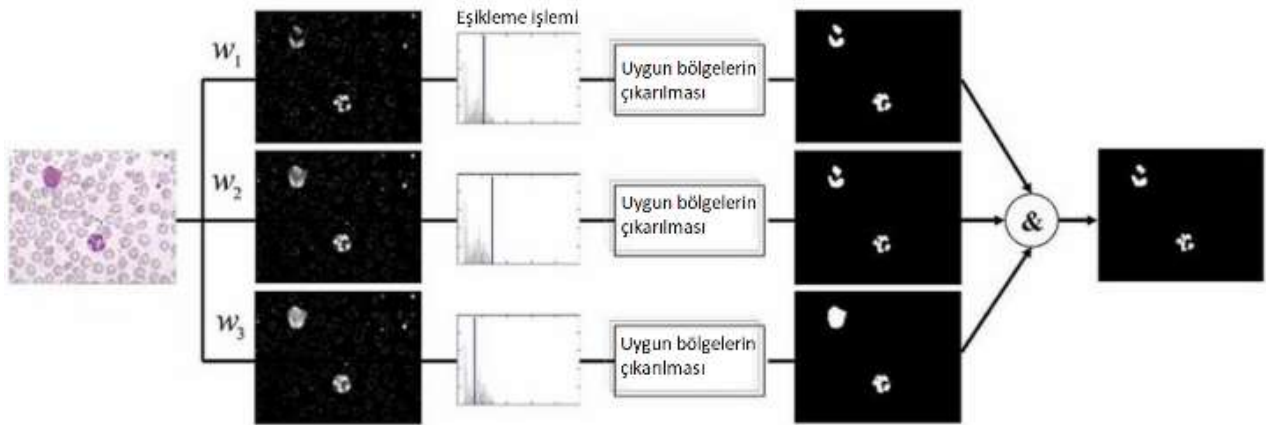
Şekil-2. YCbCr işlem örneği [6]

Chunni ve Jingao kan hücrelerinin özelliklerini çıkarmak için makine öğrenmesi ve veri madenciliği tekniklerini kullanan, görüntüler üzerinden bilgilendirici ve gereksiz olmayan verileri çıkarmayı sağlayan ve bir sonraki işlemlere kolaylık sağlayan spektral özellik çıkarıcı yöntemi kullanmışlar ve bu metot kan hücrelerinin bölümlenmesinde ve sınıflandırılmasına önemli bir şekilde katkı sağlamıştır. Araştırmacılar bu çalışmada bu işlemlerden başka herhangi bir ön işlem tekniği kullanmamıştır ve Şekil-3 de görüldüğü gibi hücrelerin sınıflarını belirlemek için hipektral kan hücre görüntüsü üzerinde çalışmışlardır [7].



Şekil-3. Spektral özellik çıkarma yöntemi [7] © [2013] IEEE

Mohamed ve Far ise; RGB görüntüsünü gri görüntüye çevirerek birden fazla görüntü yerine tek görüntüye odaklanıp, lineer bağımsız veri setine ortogonal bir veri seti düzenleyen Gram-Schmidt orthogonalization işlemini kullanmışlardır. Elde edilen görüntü üzerine medyan filtre ile benzer olan minimum filtreyi uygulamıştır. Bu yöntemle piksel yoğunluk değerini minimum yoğunluk değeri ile değiştirmiştir ve Şekil-4 de görüldüğü gibi hücre görüntüsü içerisinde beyaz kan hücreleri belirgin bir şekilde çıkarılmıştır. Bu ön işlem sayesinde kan hücresinin %85,4 doğrulukla algılanması sağlanmıştır [8].

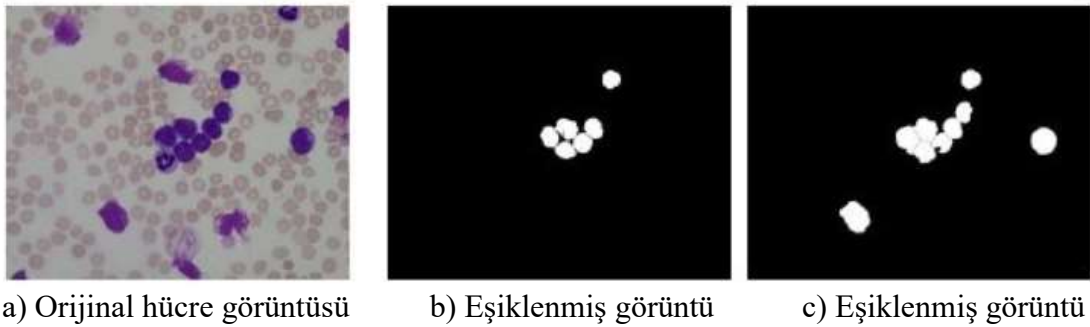


Şekil-4. Gram-Schmidt orthogonalization yöntemi ile hücre çıkarımı [8] © [2013] IEEE

2014 yılında gerçekleştirilen bir başka çalışmada giriş görüntüsünü daha pürüzsüz yapmak için ön işlemde, Gaussian matematiksel fonksiyonunu kullanarak görüntü içerisindeki gürültüyü azaltan ve aynı zamanda detayları da azaltan Gaussian filtresi yöntemi kullanılmıştır. İlk renkli görüntü gri görüntüye çevrildikten sonra görüntü veri matrisine çevrilmiştir. Ardından piksel değerleri bir ve sıfırlardan oluşan ikili görüntüye çevirme işlemi devam edilmiştir. Daha sonra bu ikili görüntü

üzerinde, görüntü üzerinde ki gürültüleri yok etmek ya da istenmeyen yerleri kapatmak için morfolojik analizler yapılmıştır. Kenar kısımlarının belirlenmesinde başarılı bir şekilde sonuç veren “Canny” kenar algılama yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak Gaussian filtre uygulanmış görüntü ile ayırım işlemi daha rahat tespit edilmiş bu sayede algılama ve sayma işlemlerinde %85 bir doğruluk elde edilmiştir [9].

Kan görüntülerini renk çevirme ve ikili görüntü elde etme gibi ön işlemlere tabi tutulduğu bir başka çalışmada ise öncelikle görüntüleri RGB görüntüden gri görüntüye çevirmişlerdir. Daha sonra elde edilen görüntüye dinamik eşikleme metodu uygulanmıştır. Yani ilgili eşik değerin üstünde ya da altında olmasına göre mikroskop görüntüsü ikili görüntüye dönüştürülmüştür. Daha sonra ki gerçekleştirilecek işlemler bu ikili görüntü üzerinden yapılmıştır. Şekil-5 de görüldüğü gibi beyaz kan hücresi çıkarımını ve bu sayede hücre sayım işlemlerini başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir [10].



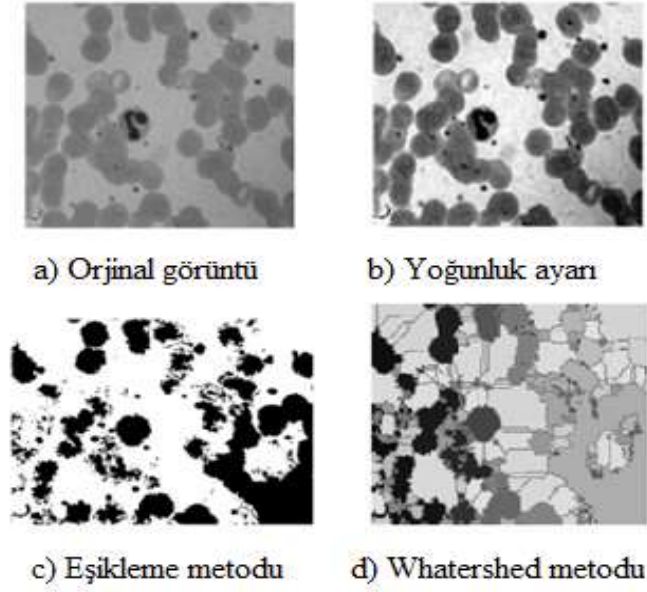
Şekil-5. Eşikleme ile hücre çıkarımı [10] © [2014] IEEE

Theerapattanakul ve diğerleri ön işlemlerde sadece ikili görüntü dönüştürme işlemini kullandıklarını belirtmektedirler. Eşikleme işlemi ile beyaz kan hücresi görüntülerini ikili görüntülere çevirmişlerdir. Daha sonra görüntü içerisinde “1” değerlerini arayarak beyaz kan hücresinin çekirdeklerini bulmaktadırlar. Böylece tek bir ön işlem tekniği kullanılarak beyaz kan hücresinin segmentasyonu sağlanmıştır [11].

Al-Muhairy ve Al-Assaf yaptıkları çalışmada segmentasyon işleminde daha iyi sonuçlar alabilmek için gri seviyeden ikili seviyeye dönüşüm için Otsunun eşikleme ve gri görüntüyü her bir pikselin yoğunluğuna göre segmente etmek için watershed metodlarını kullanmışlardır. Şekil-6 da görüldüğü gibi bu iki yöntemin birleşimi ile hücre üzerinden istenilen bölgelerin başarılı bir şekilde çıkarıldığını belirtmişlerdir [12].

Karim ve diğerleri hücre görüntülerini ilk başta RGB renk formatından gri renk formatına dönüştürmüşlerdir. Bu işlemde görüntülerde sadece grileştirme işlemi kullanılmış olup ardından eşikleme işlemi ile bir sıfır görüntüsüne çevrilmemiştir. Sonuç olarak ikili renk formatına dönüştürme ihtiyacı duymadan hızlı ve daha basit bir uygulama gerçekleştirmişlerdir [13].

Plevral efüzyon görüntülerinden hücre çekirdeklerinin çıkarımı ile ilgili yapılan bir başka çalışmada segmentasyon işlemi için; Otsu, K-means ve her bir veri noktası için tanımlanan bir pencere kullanılarak, sırası ile ortalama çıkarımının yapıldığı, pencerenin merkez noktasının ortalama kaydırıldığı ve iterasyonun uygun bir yakınsama işlemine kadar yapıldığı yöntem olan ortalama kaydırma yöntemi kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçları, kullanılan yöntemlere göre sırası ile %94, %94 ve %95 oranında doğruluk elde edildiğini göstermektedir [14].

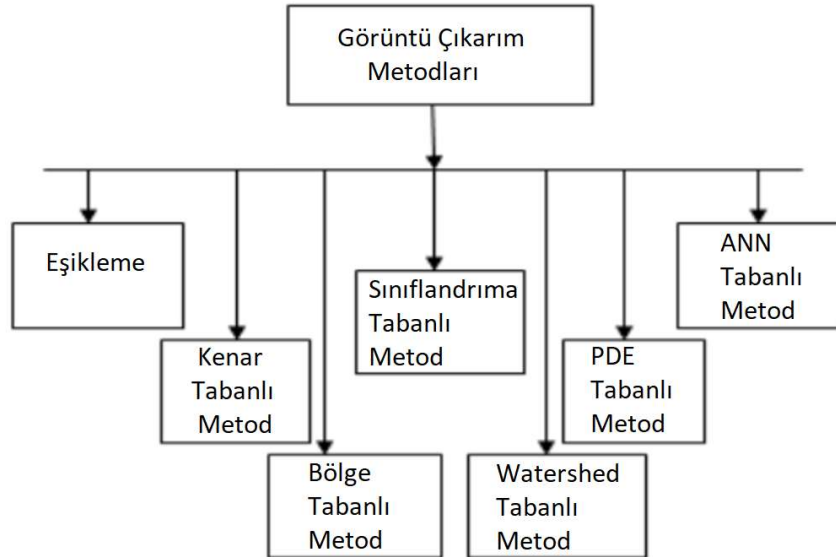


Şekil-6 Ön işlem Çıktıları [12]

3. SEGMENTASYON

Görüntü segmentasyonu dijital görüntüleri çoklu görüntüler haline getiren bir bölümlenme işlemidir. Bu işlemdeki temel amaç görüntüyü daha anlamlı ve daha kolay, analize izin verecek hale getirecek temsili görüntüleri elde etmektir. Segmentasyon işlemi tipik olarak nesnelerin görüntü içerisindeki yerlerini ve sınırlarını tespit etmede kullanılmaktadır [15].

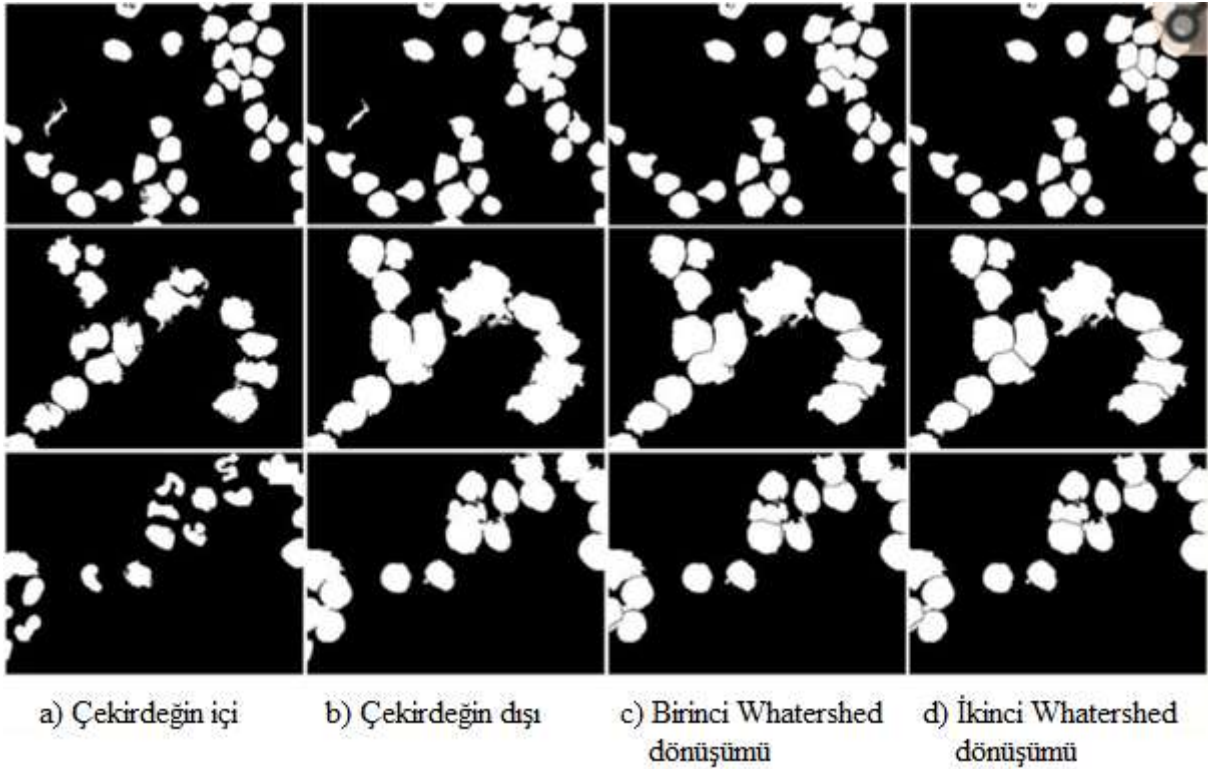
Yaygın olarak kullanılan görüntü segmentasyon metotlarını Şekil-7 de verilen şemada görebilirsiniz.



Şekil-7. Segmentasyon Metotları [16]

Xiong ve diğerleri öncelikle niteliksel olarak ifade edebilen, Gaussian maske ile konvole yöntemi kullanılan uzay ölçekleme filtresi ve Watershed yöntemlerini kullanarak görüntü uzayında ki

karmaşadan ve uzaysal çeşitlilik gibi sorunlardan kaçınarak yeni beyaz kan hücresi sayım işlemini tanıtmışlardır. Sırası ile kullanılan bu yöntemler sayesinde hücrenin çekirdeği ve sitoplazması belirlenmiştir. Öncelikle beyaz kan hücresi içeren alt görüntü ana görüntüsünden ayrılır. Devamında alt görüntüden hücre çekirdeğini çıkarmak için uzay ölçekleme filtresi tekniği kullanılmıştır. Daha sonra Watershed kümeleme tekniği kullanılarak sitoplazma bölgesi çıkarılmıştır. Son olarak morfolojik işlemler uygulandıktan sonra Şekil-8 de görüldüğü gibi beyaz kan hücresi bölgesini görüntü içerisinde segmentasyon işlemi gerçekleştirilmiştir [17].



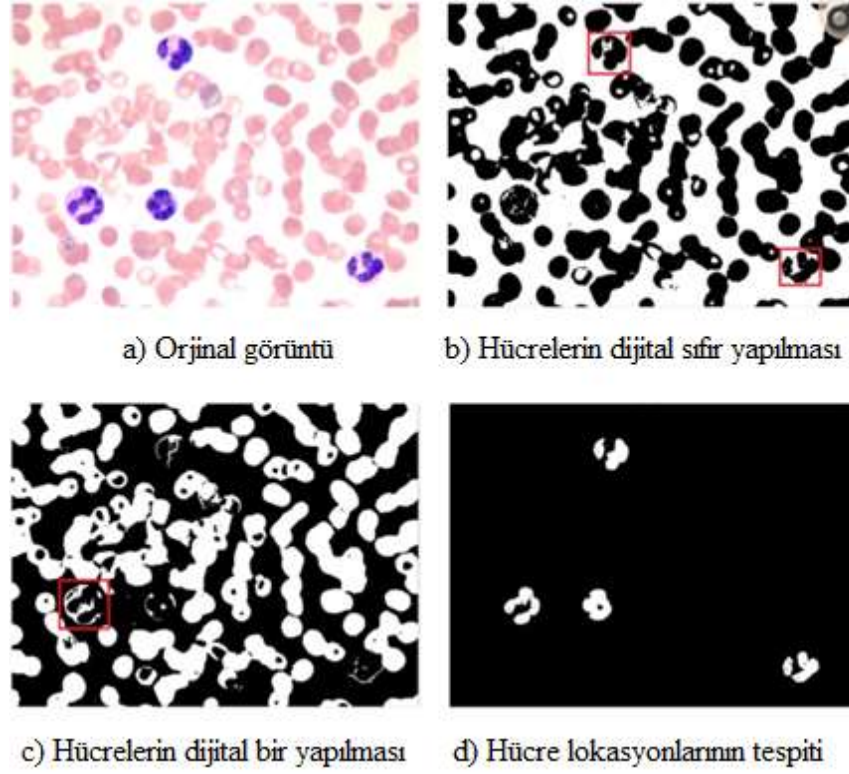
Şekil-8. Segmentasyon için örnek işlem çıktıları [17]

2003 yılında yapılan bir çalışmada görseldeki nesnelere gruplayabilecekleri K-Means kümeleme tekniğini kullanmışlar ve hücre çekirdeğinin yeri tespit edilerek tüm hücre yapısını görüntü içerisinde çıkarmayı başarmışlardır. Ancak hücrenin görüntü içerisindeki gerçek yerini tespit etmek için kırılan hücre bölgesi istenildiği kadar net elde edilememiştir. Şekil-9 da görüldüğü gibi hücre tiplerinin yeri görüntü içerisinde başarılı bir şekilde tespit edilmiştir [18].

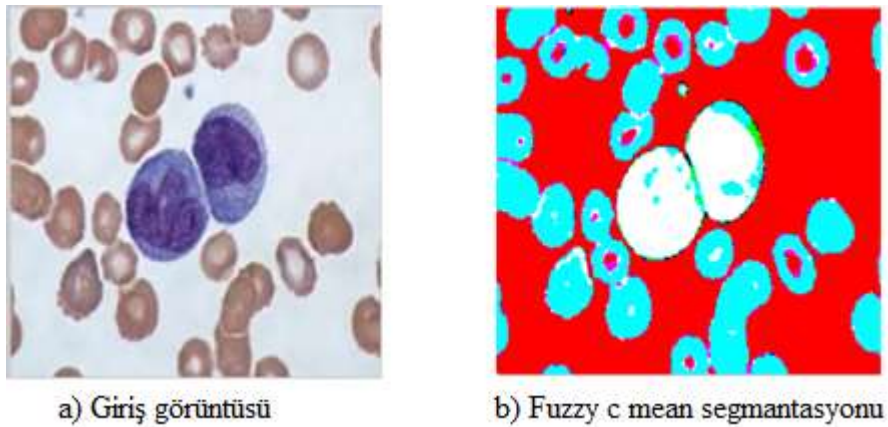
Umpon görüntü içerisindeki parçaların hangi kümeye ait olduğunu belirlemek için fuzzy C-Mean kümeleme metodunu kullanarak Şekil-10 da görüldüğü gibi kemik iliği görüntüsüne uygulamışlar ve hücrelerin çekirdekli ve çekirdeksiz olan kısımlarını ayırmışlardır. Ancak ayırımın ikiden fazla olması işlem zamanını artırmaktadır [19].

Soltanzadeh ve diğerleri yaptıkları çalışmada yine K-means kümeleme metodu ile hücre çekirdeği kısmını tüm hücreden çıkarmayı çalışmasını yapmışlardır. Bu metod da alınan mikroskop görüntüleri renklerine dayalı olarak ayrılması için L^*a^*b şeklinde 3 renk kümesine aktarılmaktadır. Kullanılan bu yöntem alınan görüntülerin çekirdeklerini kolay bir şekilde ayırmıştır [20].

Sobhy ve diğeri Watershed ve Otsunin eşikleme metotlarını kullanarak beyaz kan hücrelerinin segmantasyonu üzerinde çalışmışlardır. İlk başlarda görüntüyü daha iyi hale getirebilmek için ön işlemlerden geçirmişler ve daha sonra da segmantasyon için belirtilen yöntemleri kullanmışlardır. Watershed yönteminde %99,3, Otsu eşikleme metodun da ise %93,3 lük bir doğruluk elde etmişlerdir [21].



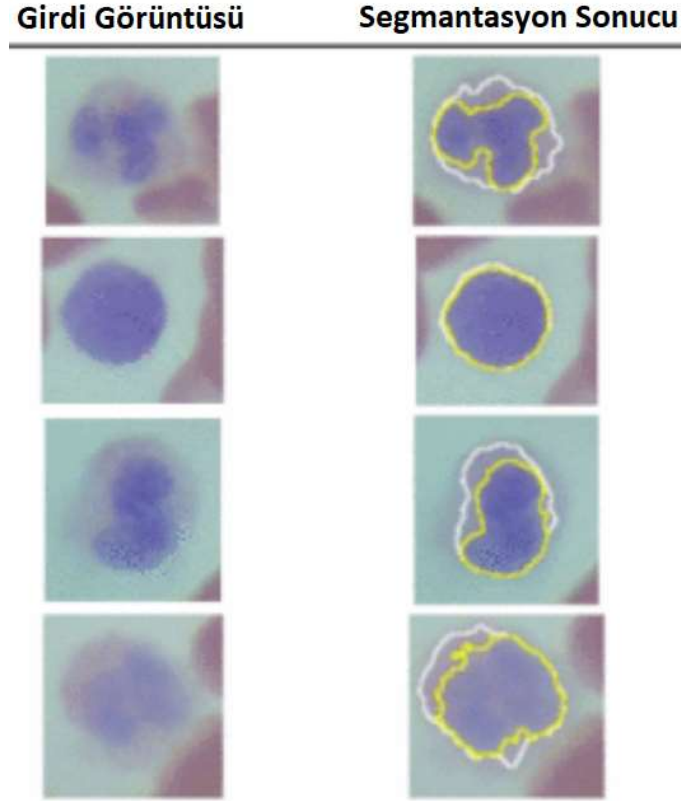
Şekil-9. K-mean kümelendirme adımları [18]



Şekil-10. Fuzzy c mean kümeleme yöntemi [19]

Atmış adet kan hücresi veri setinden beyaz kan hücrelerinin segmantasyonu için yapılan bir çalışmada, öncelikle gürültüleri elimine etmek için medyan filtre kullanılmıştır. Daha sonra kırmızı kan hücrelerini ve sitoplazmalarını renk farklılığından faydalanarak gidermiş böylelikle de beyaz kan hücrelerinin istenilen bölgelerini bırakmıştır. Elde edilen sonuçları ikili formata çevirdikten sonra morfolojik işlemlerle ilgilenilmeyen kısımlar çıkarılmıştır. Son olarak da tekrar

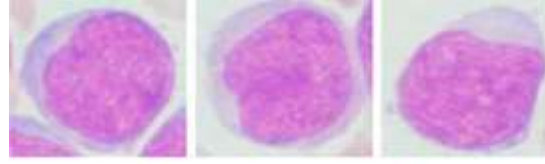
açma ve kapama işlemleri sonucu Şekil-11 de gösterildiği gibi segmantasyon sonucu olarak belirtilen kısımlar elde edilebilmiştir. Yapılan bu çalışmada %92 doğrulukla sitoplazma ve %89 doğrulukla da çekirdek segmantasyon başarımı elde etmiştir [22].



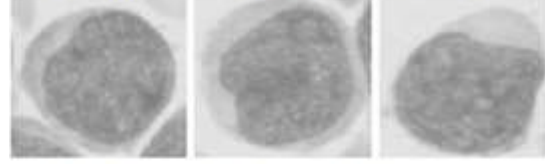
Şekil-11 Segmantasyon ıktısı [22]  [2013] IEEE

Sadeghian ve diğerleri tarafından geliştirilen çalışmada segmantasyon için birkaç dijital görüntü işleme yöntemi birleştirerek kullanılmıştır. Daha önce belirtilen metotların kullanılması 2 aşamadan oluşmaktadır: Hücre çekirdeğini ayırmak için morfolojik tabanlı işlemlere başvurulmuş, sitoplazmayı ayırmak için de renk yoğunluğu tabanlı işlemler kullanılmıştır. Şekil 12 de hücrenin görüntü içerisinden çıkarılma işlemi gösterilmiştir [23].

2013 de yapılan bir çalışmada Beyaz kan hücrelerinin çıkarımı yapmak için Watershed ve görüntülerin topolojik durumu hakkında bilgi veren seviye seti metotları kullanılmıştır. Sitoplazma bölgesinin çıkarımı için görüntü içerisinde ki parçaların şekline, boyutuna göre dağılımını ifade eden granülometrik (Şekil-13) analiz ve morfolojik dönüşümlere (Şekil-14) başvurmuşlardır. Önerilen yöntemler, çeşitli hücre görünümüne ve görüntü kalitesine ilişkin gelecek vaat eden bölümlleme ve sınıflandırma sonuçlarını gösteren ve gelecekteki çalışmaları teşvik eden çok sayıda görüntüye başarıyla uygulayabilmişlerdir [24].



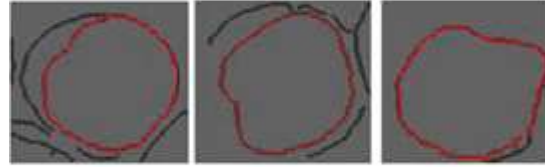
a) Orjinal beyaz kan hücre görüntüleri



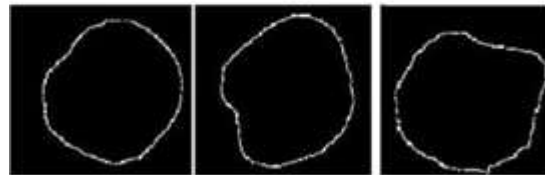
b) Griye çevrilmiş görüntü



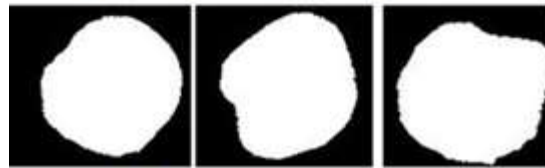
c) Canny kenar algılama yöntemi



d) kıvrma işlemi yöntemi

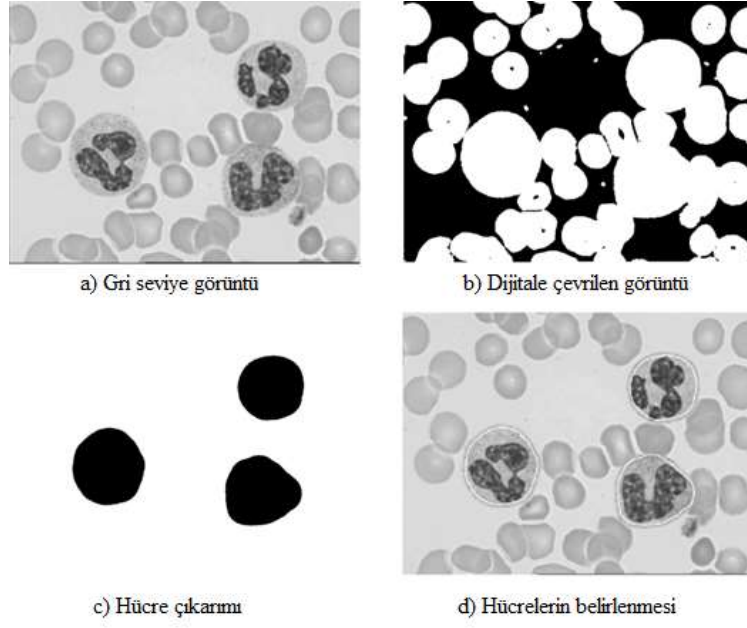


e) Çekirdek çıkarma işlemi

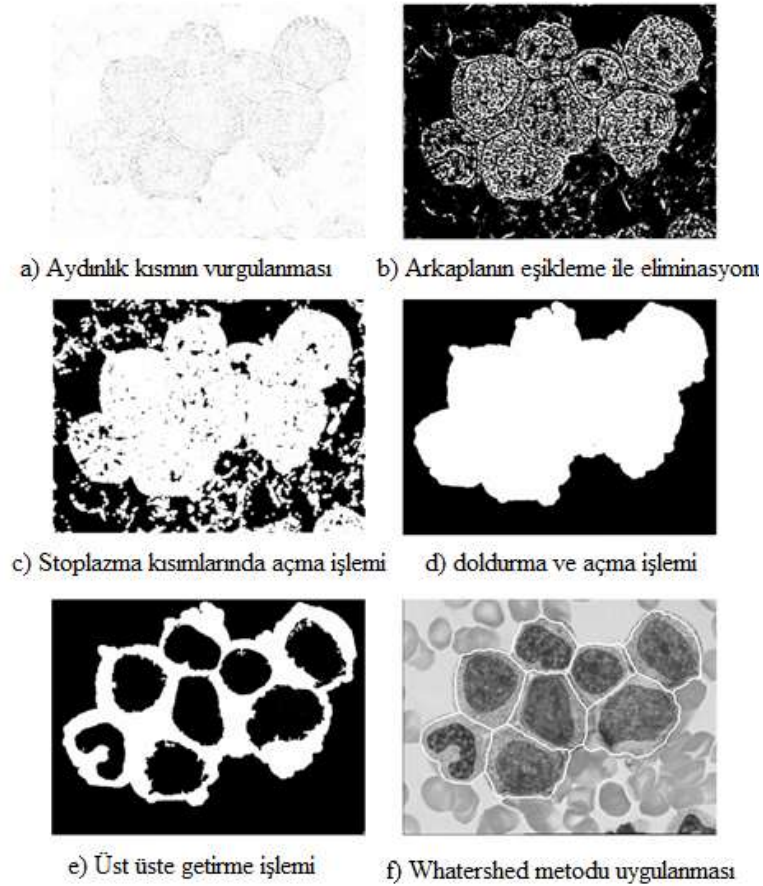


f) Delikleri doldurma işlemi

Şekil-12 Segmantasyon çıktısı [23]



Şekil-13 Granülometrik Analiz ve Çıktıları [24] © [2013] IEEE



Şekil-14 Morfolojik işlemler ile sitoplazma çıkarma [24] © [2013] IEEE

Lösemi hastalığının erken teşhisi için kemik iliği görüntülerinden hücre çıkarımı yapılan bir başka çalışma da segmentasyon işlemi için gradyan büyüklüğü, eşikleme, morfolojik işlemler ve Watershed yöntemi kullanılarak genel olarak metod üç adıma indirgenmiştir; İlk önce ön görüntülerin işaretlenmiştir, daha sonra arka plan nesnelere elimasyonu yapılmış ve son olarak da Watershed yöntemini kullanarak bağımsız hücreler birbirinden ayrılmıştır. Test işlemi için M2, M5 ve M6 alt türlerinden 50 görüntü alınmıştır. Sonuç olarak %94,57 bir genel doğruluk ve her bir alt tür için sırasıyla %94,58, %95,06 ve 95.65% elde edilmiştir [25].

Kanserleşmiş hücreleri tespit etmek için yapılan bir başka çalışmada ayrı ayrı kullandıkları eşikleme ve Watershed yöntemleri ile sırasıyla %81,24 ve %85,27 sonuçlarını elde edebilmişlerdir. Bu sonuca bakarak biyomedikal görüntü işleme segmentasyon işleminde Watershed yöntemi ile daha yüksek bir başarımla elde edilmiştir [26].

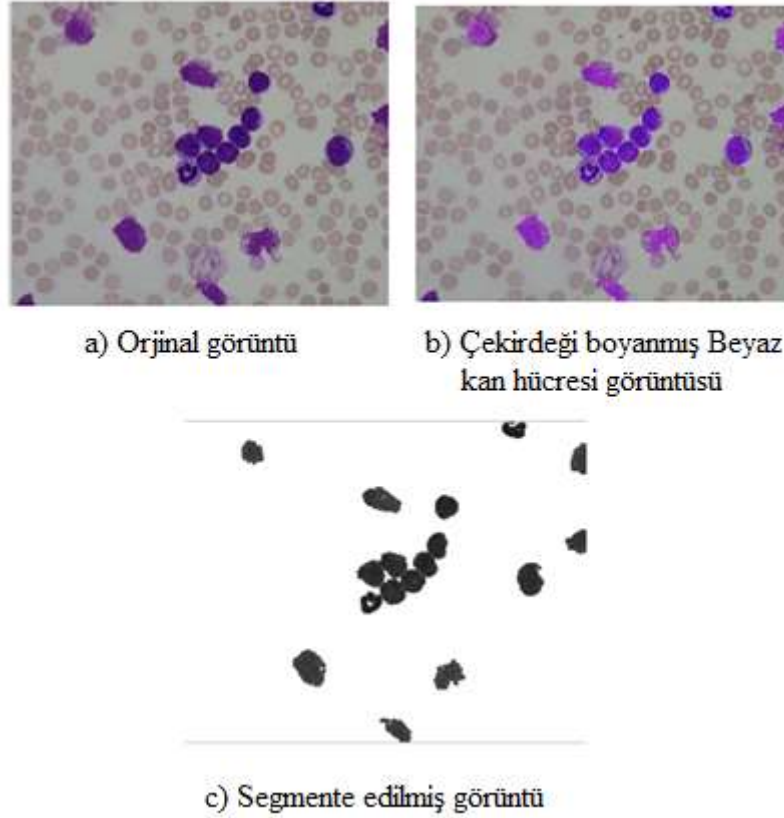
Lösemik enfekte olmuş görüntünün morfolojik analizinin kullanılmasının önerildiği bir çalışmada sitoplazma ve çekirdek bölgelerini ayırarak 2 farklı görüntü haline getirmişlerdir. Eşikleme yöntemi kullanılmış ve sitoplazma, çekirdeklerin görüntülerini elde etmek için eşik yoğunluk değeri verilmiştir. Enfekte olmuş hücrenin sınırı izlenip çevrede istenmeyen nesnelere filtrelenmiştir. Bu segmentasyon yöntemi ile %98,33 lük bir sonuç elde edilebilmiştir. Elde edilen segmentasyon çıktıları Tablo-1 de belirtilmiştir [27].

Tablo-1. [27] numaralı referans için segmentasyon sonuçları

Lösemi Tipleri	Hepsi	AML	CLL	CML
Başarılı Segmente Edilmiş Hücreler	(30/30) %100	(30/30) %100	(30/30) %100	(28/30) %93,33

Acut lymphoblastic leukemia (ALL), **Acute** myelogenous leukemia (AML), Chronic lymphocytic leukemia (CLL), Chronic myelogenous leukemia (CML)

Görüntünün iyileştirilmesi ve bölümlenmesi için Otsu'nun eşikleme metodunun önerildiği bir başka çalışmada sağlıklı lenfosit hücrelerindeki myeloblasts hücrelerini sınıflandırmak için yakın komşuluk ilişkilerine göre kümeye dahil edilme algoritmasına dayanan kNN (k-Nearest-Neighbours) kullanılmıştır. Sistem, lösemi çalışması için yayınlanmış veri setinde bulunan 108 görüntüye uygulanmıştır. Bu yöntem %93 doğruluk vermiştir. kNN parametrik olmayan değişkenleri sınıflandırma yöntemidir. Bu yöntem basittir ve normal beyaz kan hücrelerinden myeloblasts hücrelerini ayırmak için de kullanılabilir. Şekil-15 de örnek hücre görüntüleri ve segmentasyon işleminden sonra elde edilen çıktı görülebilmektedir [28].



Şekil-15 Miyeloblast hücreli görüntülerin çıktısı [28]

Saikumar ve diğerleri çalışmalarında; benzerlik oranına göre gruplamanın gerçekleştirildiği algoritma olan bulanık kümeleme yöntemi (KFCM) ve uyarlamalı eşikleme tekniği ile hücre çekirdeği elde edilmeye çalışılmıştır. Tek eşik değerine sahip olmak yerine, görüntü ihtiyaçlarına göre dinamik olarak değişen bir eşik değeri, uyarlamalı eşikleme olarak adlandırılır. Uyarlanabilir eşik algoritmasının çıktısı KFCM kümelemesine verilmiş ve bulanık sınırları olan bulanık görüntü elde edilmiştir. Hem adaptif hem de KFCM yöntemi, tıbbi görüntüler ve düşük yoğunluklu görüntüler için birlikte kullanılabilir. Bu yöntemlerle elde edilen görüntü daha iyi doğruluk ve kaliteye sahiptir. Uyarlanabilir eşik değerlerinin sonuçları, küresel eşikten daha iyidir [29].

Yapılan bir diğer çalışmada segmentasyon işlemi için daha az işlem yükü ve paralel veri işleme konusunda daha başarılı olan gri seviye yoğunluk yöntemleri olan eşikleme ve kenar tabanlı bölümlendirme yöntemi önerilmiştir. Bu yöntemler renk ve desen bölgesine göre segmentasyon prensibine dayanan doku tabanlı tekniklere göre zaman ve maliyet konusunda üstün gelmektedir [30].

3. Sınıflandırma İşlemleri

Bu bölümde beyaz kan hücre algılama ve sınıflandırma çalışmalarında en çok kullanılan sınıflandırma tekniklerinin literatür analizlerini yapacağız.

Gautam ve diğerleri yaptıkları çalışmasında beyaz kan hücrelerini sınıflandırmak için olasılık kuramı içinde incelenen ve bir eleman için olasılık değeri en yüksek olana göre sınıflandırma ilkesine dayanan Naive Bayes sınıflandırıcısını kullanmışlardır. Bu çalışmada araştırmacıların

kullandığı özellikler; alan, eksantriklik, çevre ve dairesellik parametreleri idi. Önerilen bu yöntemle Tablo-2 de belirtilen doğruluk değerleri elde edilmiştir. Ortalama doğruluk değeri ise %80,88 seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir [31].

Tablo-2. [31] nolu referans için Naive Bayes sınıflandırma sonuçları

Lökosit	Eğitilen Görüntü Sayısı	Test edilen görüntü sayısı	Algılanan BKH sayısı		Yüzde doğruluk %
			Evet	Hayır	
Nötrofil	7	20	14	6	70
Basofil	4	10	7	3	70
Eosinofil	3	8	5	3	62.5
Lenfosit	3	20	20	0	100
Monosit	3	10	5	5	50

Otomatik olarak beyaz kan hücrelerini sınıflandırmak için CNN (Convolutional Neural Network) yönteminin uygulandığı bir çalışmada; ResNet50, Inception V3, VGG 16, VGG 19, Xception yazılımlar kullanılmıştır. Sonuç olarak CNN yönteminin diğer sınıflandırma yöntemlerine göre 88.5 başarı yüzdesiyle daha başarılı olduğu Tablo-3 de gösterilmiştir [32].

Tablo-3. [32] nolu referans için kullanılan yöntemlere göre genel doğruluk © [2017] IEEE

Algoritma	Genel doğruluk %
K-Nearest Neighbors (k=3)	82.90
Support Vector Machine	84.68
Logistic Regression	85.39
Decision Tree	70.53
CNN Model	88.50

Bir başka çalışmada ise CNN tekniklerinden olan Alexnet, GoogleNet ve ResNet-101 yöntemleri beyaz kan hücrelerinin sınıflandırılması için kullanılmış ve Tablo-4 de başarı yüzdeleri belirtilmiştir. Ortalama sonuç olarak %96,63 lük bir başarı elde edilmiştir [33].

Tablo-4. [33] nolu referans için CNN yöntemleri ile hücreleri sınıflandırma doğrulukları

Classification	AlexNet	GoogleNet	ResNet
Basafil	%100	%100	%99,44
Eosinofil	%100	%99,44	%98,88
Lenfosit	%95,51	%95,51	%95,51
Monosit	%91,57	%96,63	%98,31
Nötrofil	%96.07	%96.07	%95,51

Laosai ve diğerleri K-mean kümeleme ve görüntü içerisinde ki elemanların birbirinden en uygun biçimde ayrılabilirdiği SVM sınıflandırma tekniğini kullanarak beyaz kan hücrelerinden akut lösemi hastalığını tespit etmeye çalışmıştır. Çalışmalarında 100 adet görüntü kullanan araştırmacılar hücreler üzerinden çekirdek ve sitoplazmaya göre özellikler çıkararak birçok sınıflandırıcıda bu özellikleri sınıflandırmaya çalışmışlardır. Ancak en iyi performansı %92 doğruluk ile SVM yönteminden elde etmişlerdir [34].

Bir başka çalışmada 71 adet beyaz kan hücresi bulunan bir veri seti üzerinde otomatik sınıflandırma işlemi için görüntü içerisinde maksimum benzer olan parçaları gruplayan minimum-mesafe sınıflandırıcısı kullanılmıştır ve 10 özellik seçilmiştir. Sonuç olarak %91 oranında bir başarı elde edilmiştir [35].

Theera ve diğerleri yaptıkları çalışmada Beyaz Kan Hücrelerini, hücre çekirdeğinden sınıflandırma işlemini araştırmışlardır. Bu işlem için öne sürülen motivasyon tüm bir hücreyi işleme sokmaktansa sadece hücre çekirdeğini işleme tabi tutmanın daha kolay olmasıdır. Yaptıkları çalışmada özellikler üzerinden olasılık modellerinin çıkarıldığı ve bu modeller ile görüntünün hangi sınıfa ait olduğunu belirleyen Bayes sınıflandırma metodu ve yapay sinir ağları (YSA) kullanmışlardır. Elde ettikleri çıktılar benzer çalışmalarla karşılaştırmışlar. Sonuç olarak Tablo-5 de gözlemlenen çıktılar elde edilmiştir ve ortalama %77 sınıflandırma başarı oranı sağlayabilmişlerdir [36].

Tablo-5 [36] nolu referans için sınıflandırma çıktıları © [2007] IEEE

Bayes Sınıflandırma Metodu Sonuçları			
Sınıflandırma oranı			
Geleneksel		Elde edilen	
Eğitim	Test	Eğitim	Test
%81,15	%77,49	%73,25	%63,39
%73,90	%69,37	%82,17	%68.08
Yapay Sinir Ağları Sınıflandırma Sonuçları			
Sınıflandırma oranı			
Geleneksel		Elde edilen	
Eğitim	Test	Eğitim	Test
%80,63	%77.05	%59,34	%54,80
%83,38	%76,55	%74,34	%61.03

Ongun ve diğerleri, kan ve kemik iliği görüntülerini tamamen otomatik hale getirmek için yaptıkları çalışmada, SVM metodunu çoklu sınıflandırma için kullanmışlardır. 100 farklı test görüntüsü içeren bir veri setinde rastgele seçilen %30 luk gruptan %91.03 bir doğruluk oranı elde etmişlerdir. Sonuçlarının doğruluğunu kontrol etmek için kullandıkları leave-one-out testinde ise aynı parametreler ile %87,98 oranında bir doğruluk elde etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada SVM yöntemine ek; kNN, Linear Vector Quantization (LVQ), YSA gibi çeşitli yöntemler de denenmiştir. Ancak Tablo-6 da gözlemleneceği üzere en iyi sonuçlar SVM yönteminde elde edilmiştir [37].

Tablo-6 [37] nolu referans için kullanılan yöntemlerin çıktıları

Sınıflandırıcı	Eğitim doğruluğu	Test doğruluğu
kNN	%82,22	%80,76
LVQ	%93,89	%83,33
YSA	%99,44	%89,74
SVM	%100,0	%91,03

Yampri ve diğerleri yaptıkları araştırmada 50 adet Beyaz Kan Hücresi üzerinde sınıflandırma çalışmalarında bulunmuşlardır. İlk önce elindeki veri setlerini boyut olarak azaltmak en iyi temsil eden bileşenlerini bulabilmek için Temel Bileşenler Analizini kullanmışlardır. Ardından elde ettikleri çıktıları sınıflandırıcıya tabi tutarak ortalama %92 oranında doğruluk elde edebilmişlerdir. Tablo-7 de sınıflandırma da elde edilen doğruluk oranlarını belirtmişlerdir. [38].

Tablo-7 [38] nolu referans için Sınıflandırma Çıktısı © [2006] IEEE

Eğitim Sonuçları			
Hücre Adı	Sınıf No	Yanlış Sınıflandırma	% Doğruluk
Eosinofil	10	0	100
Basofil	10	0	100
Lenfosit	10	0	100
Monosit	10	0	100
Nötrofil	10	0	100
Test Sonuçları			
Eosinofil	10	0	100
Basofil	7	3/ Monosit	70
Lenfosit	10	0	100
Monosit	10	0	100
Nötrofil	9	1/Eosinofil	90

2016 da yapılan bir çalışmada Manik ve diğerleri Beyaz Kan Hücreleri sınıflandırabilmek için hücre görüntüleri içerisinde hücre ve çekirdek kısımlarını segmentasyon işlemleri ile çıkarmışlardır. Daha sonra elde ettikleri görüntüler üzerinde YSA tekniği kullanmışlardır. Sonuç olarak ortalama %98,9 oranında bir başarı elde edebilmişlerdir [39].

Bir başka çalışmada, beyaz kan hücrelerini sınıflandırmak için yapay sinir ağı çeşitlerinden olan; çok katmanlı algılayıcılar (MLP), SVM ve bir hibrit yapay ağ çeşidi olan hiper dikkörtgen komposit (HPCNN) yapay sinir ağları kullanılmıştır. Görüntü üzerinden geometrik, renk vs. gibi özellikleri çıkarılarak hücrelerin ayrımı başarılmıştır. Daha sonra sistem 450 beyaz kan hücresi görüntüsü ile test edilmiş ve elde edilen doğruluk değerleri Tablo-8 de belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre MLP yönteminin diğer yapay zeka yöntemlerine göre daha başarılı olduğu tespit edilmiştir [40].

Tablo-8 [40] nolu referans için Sınıflandırma Çıktısı

Sınıflandırıcılar	Eğitim seti Doğruluk	Test seti doğruluk	Genel
MLP	%99,67	%98,01	%99,11

SVM	%100,0	%92,72	%97,55
HRCNN	%100,0	%66,90	%88,89

4. Değerlendirme

Kullanılan yöntemlerin ışığında ileri çalışmalarımızda, kullanacağımız beyaz kan hücresi veri seti üzerinde işlemlerin daha doğru bir şekilde yapılabilmesi için belirlenen ön işlem yöntemleri uygulanacaktır. Bunlar arasında mikroskop altında alınan görüntülerin, aydınlık problemi nedeniyle net çıkmama sorunlarının üstesinden gelmek için YCbCr renk dönüşümü, görüntü üzerinde işlemleri etkileyecek gürültülerin yok edilmesi için morfolojik işlemler ön plana çıkmaktadır. Ancak hücre çekirdeğinin hücreyi belirleme konusunda önemli bir bilgiye sahip olması ve ikili görüntüye çevirme gibi yöntemlerin bu bilgiyi çoğunlukla yok etmesi sebebiyle bu yöntemler ileriki çalışmalarımıza dahil edilmeyecektir.

Sınıflandırma işlemlerinde daha anlamlı ve kolay analize olanak sağlaması sebebiyle segmentasyon metotları ileride yapılacak çalışmalara dahil edilecektir. Daha önce de bahsedildiği gibi, hücre tanıma konusunda hücre çekirdeğinin önemli bilgiye sahip olması sebebiyle, hücre içerisinden çıkarılıp daha sonra sınıflandırma işlemlerine tabi tutulması düşünülmektedir. Hücre çekirdeğinin çıkarımı konusunda başarılı bir metot olan K-Means segmentasyonu yönteminin ve özellikle görüntü içerisinden hücre çıkarımı konusunda başarılı olan Watershed yönteminin kullanılması amaçlanmaktadır.

Son olarak sınıflandırma işlemlerinde başarımları değeri çok yüksek olan, görüntü içerisinden birkaç özellik çıkararak görüntüyü tanıma temeline dayanan CNN (Convolutional Neural Network) ilk tercihler arasında olacak olup, CNN metotlarından ResNet50 ve ResNet101 gerekli testlere tabi tutulup değerlendirilecektir. Bununla birlikte diğer başarılı sınıflandırma yöntemlerinden olan SVM, YSA, MLP yöntemleri teste tabi tutulacak olup, gerekli karşılaştırmalar yapılacaktır. İncelenen sınıflandırma çalışmalarda düşük başarımları elde edilmiş olan Decision Tree, Naive Bayes gibi yöntemler test aşamasına dahil edilmeyecektir.

5. Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmamızda beyaz kan hücresinin algılanması ve sınıflandırılması üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar incelenmiş ve Türkçe bir kaynak oluşturulması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar da alınan mikroskop görüntülerini daha kaliteli hale getirmek için ön işlemlere tabi tutulduğu görülmektedir. En çok kullanılan ve bir sonraki işlemlere yüksek başarımları sağlayan ön işlem teknikleri arasında; İkili görüntüye çevirme, eşikleme ve morfolojik işlemler olduğu görülmektedir. Kullanılan segmentasyon yöntemleri arasında; Watershed, k-means, kNN yöntemlerinin başarımları dikkat çekmektedir. Sınıflandırma işlemi için kullanılan CNN yöntemi görüntü içerisinde birden fazla özellik çıkarma ve sınıflandırma konusunda başarımları benzer şekilde dikkat çekicidir Aynı zamanda SVM, yapay sinir ağları teknikleri kullanılarak da yüksek doğruluk elde edilebilmiştir.

Çoğu araştırmacı bu işlemler için farklı teknik ve yöntemler kullanmıştır. Ancak kullanılan bu metotların farklı avantaj ve dezavantaj sunmalarından dolayı kesin olarak en iyi sonuç alabileceğimiz tek bir metot dan bahsetmek mümkün değildir. Bu sebeple bizlere maksimum doğruluğu veren yöntemi ve algoritmayı ortaya koymamız gerekmektedir. Bundan dolayı beyaz kan hücrelerini algılamak ve saymak için bu metodolojiyi geniş çapta incelemek gerekmektedir.

References

- [1] Medically reviewed by Deborah Weatherspoon, PhD, RN, CRNA, COI on March 6, 2017-
Written by Valencia Higuera
- [2] T. Rosyadi, A. Arif, Nopriadi, B. Achmad, Faridah, "Classification of Leukocyte Images Using K-Means Clustering Based on Geometry Features" in 6th International Annual Engineering Seminar (InAES), Yogyakarta, Indonesia, 2016.
- [3] Salem N.M. Segmentation of white blood cells from microscopic images using K-means clustering; Proceedings of the 31st IEEE National Radio Science Conference (NRSC); Cairo, Egypt. 28–30 April 2014; pp. 371–376.
- [4] Paul Mooney, different cell types for detect and classify blood cell subtypes, Kaggle.
- [5] N. Sinha, A. G. Ramakrishnan, "Automation of differential blood count", TENCON 2003. Conference on Convergent Technologies for Asia-Pacific Region, vol. 2, pp. 547-551, 2003.
- [6] J. M. Sharif, M. F. Miswan, M. A. Nagdi, Sah Hj Salman, "Red Blood Cell Segmentation Using Masking and Watershed Algorithm: A Preliminary Study", EEE International Conference on Biomedical Engineering, 2012. And the related images from; N. Abbas, D. Mohamad "Microscopic Rgb Color Images Enhancement For Blood Cells Segmentation In Ycbr Color Space For K-Means Clustering ", JATIT10th September 2013. Vol. 55 No.1.
- [7] Dai Chunni, Liu Jingao, "Spectral Feature Extraction of Blood Cells Based on Hyperspectral Data", IEEE 9th International Conference on Natural Computation, Shenyang, China, 2013. and the related image from; F. Leyuan, Nanjun He, Shutao Li, Antonio J. Plaza, , and Javier Plaza ü.
- [8] Mohmed A. Mohmed Mostafa, Far Behrouz, "A Fast Technique for White Blood Cell Nuclei Automated Segmentation Based on Gram-Schmidt Orthogonalization", IEEE 24th International Conference on Tool with Artificial Intelligence, 2012 and the related image from; A New Approach to White Blood Cell Nucleus Segmentation Based on Gram-Schmidt Orthogonalization
- [9] Biplab Kanti Das, Krishna Kumar Jha, Himadri Sekhar Dutta, "A New approach for Segmentation and Identification of Disease Affected Blood Cells", IEEE International Conference on Intelligent Computing Applications, 2014.
- [10] J. Ge, Z. Gong, Jun Liu, J. Nguyen, Zongyi Yang, Chen Wang and Yu Sun, "A system for Counting Fetal and Maternal Red Blood Cells", IEEE Transaction on Biomedical Engineering, vol. 61, no. 12, pp. , 2014 and the related image from; "A Comparative Study of White Blood cells Segmentation using Otsu Threshold and Watershed Transformation", researchgate.
- [11] J. Theerapattanakul, J. Plodpai, C. Pintavirooj, "An Efficient Method for Segmentation Step of Automated White Blood Cell Classification", pp. 0-7803, 2004.
- [12] J. Al-Muhairy, M. Al-Assaf Automatic "White Blood Cell Segmentation Based On Image Processing", researchgate, january 2005.

- [13] S. Kareem, R. C. S. Morling, I. Kale, "A Novel Method to Count the Red Blood Cells in Thin Blood Films", 2011 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS).
- [14] Win KY, Choomchuay S, Hamamoto K, Raveesunthornkiat M. "Comparative Study on Automated Cell Nuclei Segmentation Methods for Cytology Pleural Effusion Images" Journal Healthc Eng. 2018 Sep.
- [15] http://en.wikipedia.org/wiki/Image_segmentation
- [16] D. Kaur, Y. Kaur, "Various Image Segmentation Techniques: A Review", International Journal of Computer Science and Mobile Computing, Vol. 3, Issue. 5, Mohali, India, May 2014.
- [17] Jiang, K., Q.X. Jiang and Y. Xiong, 2003. "A Novel White Blood Cell Segmentation Scheme Using Scale-Space Filtering and Watershed Clustering". Mach. Learning Cybernetics, 5: 2820-2825 and the related image from; Z. Liu, J. Liu, "Segmentation of White Blood Cells through Nucleus Mark Watershed Operations and Mean Shift Clustering" Published online journal list, Basel, 8 september 2015.
- [18] Sinha, N. and A.G. Ramakrishnan, 2003. Automation of differential blood count. Proceedings of the Conference on Convergent Technologies for Asia-Pacific Region, Oct. 15-17, Bangalore, India, pp: 547-551 and the related image from; C. Zhang, X. Xiao "White Blood Cell Segmentation by Color-Space-Based K-Means Clustering" ncbi, september 1, 2014.
- [19] Theera-Umpon, N., 2005. Patch-based white blood cell nucleus segmentation using fuzzy clustering. ECTI Transa. Electrical Eng. Electr. Commun., 3: 15-19 and the related image from; T. Karthikeyan, N. Poornima "Microscopic Image Segmentation Using Fuzzy C Means For Leukemia Diagnosis" semanticscholar, published 2017.
- [20] Ramin Soltanzadeh, Hossein Rabbani, And Ardeshir Talebi², "Extraction Of Nucleolus Candidate Zone In white Blood Cells Of Peripheral Blood Smear Images Using Curvelet Transform", Computational and Mathematical Methods in Medicine Volume 2012, journal Article ID 574184, 12 pages
- [21] M. Sobhy, M. Salem and Mohamed El Dosoky A Comparative Study of White Blood cells Segmentation using Otsu Threshold and Watershed Transformation
- [22] White blood cell segmentation for fresh blood smear images, Published in: 2013 International Conference on Advanced Computer Science and Information Systems (ICACSIS).
- [23] F. Sadeghian, Z. Seman, A. R. Ramli, B. H. A. Kahar, and M. I. Saripan, "A Framework for White Blood Cell Segmentation in Microscopic Blood Images Using Digital Image Processing", Biological Procedures Online, Vol. 11, No. 1, 2009.
- [24] L. B. Dorini, R. Minetto, and N. J. Leite, "Semiautomatic White Blood Cell Segmentation Based on Multiscale Analysis", IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, Vol. 17, No. 1, 2013.

- [25] Nee, Lim Huey; Mashor, Mohd Yusoff; Hassan, Rosline "White Blood Cell Segmentation for Acute Leukemia Bone Marrow Images" *Journal of Medical Imaging and Health Informatics*, Volume 2, Number 3, September 2012, pp. 278-284.
- [26] Bhagyashri G Patil, Prof. Sanjeev N.Jain , "Cancer Cells Detection Using Digital Image Processing Methods" in *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology*, March 2014.
- [27] Dr. T. Karthikeyan, Narayana Poornima, "Microscopic Image Segmentation Using Fuzzy C Means For Leukemia Diagnosis", *International Journal of Advanced Research in Science, Engineering and Technology*, Published 2017
- [28] A. Khashman, E. Al-Zgoul, "Image Segmentation of Blood Cells in Leukemia Patients" in *RECENT ADVANCES in COMPUTER ENGINEERING and APPLICATIONS* ISBN: 978-960-474-151-9, and Ms. Minal D. Joshi, Prof. Atul H. Karode, Prof. S.R.Suralkar, "White Blood Cells Segmentation and Classification to Detect Acute Leukemia" in *International Journal of Emerging Trends & Technology in Computer Science (IJETTCS)*, Volume 2, Issue 3, May – June 2013
- [29] Tara.Saikumar, B.K.Anoop, P.S.Murthy in "Robust Adaptive Threshold Algorithm based on Kernel Fuzzy Clustering on Image segmentation" *International Journal of Information Technology Convergence and Services (IJITCS)* Vol.2, No.1, February 2012
- [30] N. Sharma and L. M. Aggarwal, "Automated medical image segmentation techniques," *Journal of Medical Physics*, vol. 35, no. 1, pp. 3-14, 2010.
- [31] A. Gautam, P. Singh, B. Raman, H. Bhadauria, "Automatic Classification of Leukocytes using Morphological Features and Naive Bayes Classifier", *IEEE Region 10 Conference (TENCON)*, 2016.
- [32] W. Yu, C. Yang, L. Zhang, H. Shen, Y. Xia, J. Sha, "Automatic Classification of Leukocytes Using Deep Neural Network", *IEEE 12th International Conference on ASIC (ASICON)*, 2017.
- [33] J. Macawile and at all, "White blood cell classification and counting using convolutional neural network" 2018 3rd *International Conference on Control and Robotics Engineering (ICCRE)*, Nagoya, Japan, April 2018.
- [34] J. Laosai, K. Chamnongthai, "Acute leukemia classification by using SVM and K-Means clustering" *International Electrical Engineering Congress (iEECON)*, Chonburi, Thailand, 2014.
- [35] S. F. Bikheth, A. M. Darwish, H. A. Tolba, and S. I. Shaheen, "Segmentation and classification of white blood cells," in *Proceedings of the IEEE International Conference on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, vol. 4, pp. 2259–2261, June 2000. View at Scopus
- [36] Morphological Granulometric Features of Nucleus in Automatic Bone Marrow White Blood Cell Classification Nipon Theera-Umpon, Senior Member, IEEE, and Sompong Dhompongsa, may 2007.

[37] G. Ongun, U. Halici, K. Leblebicioglu, V. Atalay, M. Beksac, and S. Beksac, “Feature extraction and classification of blood cells for an automated differential blood count system,” in Proc. Int. Joint Conf. Neural Netw., Washington, DC, 2001, pp. 2461–2466.

[38] White Blood Cell Classification based on the Combination of Eigen Cell and Parametric Feature Detection Published in: 2006 1ST IEEE Conference on Industrial Electronics and Applications

[39] S. Manik ; M. Saini ; N.Vadera, “Counting and classification of white blood cell using Artificial Neural Network (ANN)”, 2016 IEEE 1st International Conference on Power Electronics, Intelligent Control and Energy Systems (ICPEICES), Delhi, India, July 2016.

[40] Mu-Chun Su, Chun-Yen Cheng, Pa-Chun Wang; “A Neural-Network-Based Approach to White Blood Cell.”, The Scientific World Journal 2014(4):796371, January 2014