



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİLGİSAYAR DESTEKLİ AKUT LENFOSİT
LÖSEMİ TARAMASI**

Ahmet ÖZCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilişim Teknolojileri Mühendisliği

Temmuz-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ahmet ÖZCAN tarafından hazırlanan “Bilgisayar Destekli Akut Lenfosit Lösemi Taraması” adlı tez çalışması 02.03/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy~~ ~~çokluğu~~ ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilişim Teknolojileri Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Fatih BAŞÇİFTÇİ

Danışman

Dr.Öğr.Üyesi Murat SELEK

Üye

Prof. Dr. Hakan IŞIK

İmza

The image shows three handwritten signatures in blue ink, each written over a horizontal dotted line. The signatures are stylized and cursive. The first signature is the most legible, appearing to be 'Fatih'. The second and third signatures are more abstract and difficult to decipher.

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



Ahmet ÖZCAN
Tarih:02/07/2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BİLGİSAYAR DESTEKLİ AKUT LENFOSİT LÖSEMİ TARAMASI

Ahmet ÖZCAN

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bilişim Teknolojileri Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Murat SELEK

2019, 51 sayfa

Jüri

**Dr. Öğr. Üyesi Murat SELEK
Prof. Dr. Fatih BAŞÇİFTÇİ
Prof. Dr. Hakan IŞIK**

Bu çalışmada görüntü işleme yöntemiyle akut lenfosit lösemi taraması yapılmıştır. Yazılım olarak Matlab'ın görüntü işleme aracı, veri seti olarak 108 adet mikroskop görüntüsü kullanılmıştır. Mikroskop görüntülerinin elde edilmesi için mikroskop altında incelenen preparatların taranarak görüntülerin bir bütün haline getirilmesi ve bilgisayar ortamına aktarılması amacıyla mikroskop görüntüleme sistemi tasarlanmıştır. Mikroskop görüntülerinden beyaz kan hücrelerini bölütlemek, beyaz kan hücrelerini çekirdek ve sitoplazma olarak ayırmak için K-ortalama algoritması kullanılmaktadır. Çekirdek ve sitoplazmayı birbirinden ayırırken hücreler alt görüntülere ayrılmadan görüntü bir bütün olarak işlenmektedir. Birbirine temas eden hücreler işaretçi kontrollü su-seddi algoritması kullanılarak başarılı bir şekilde ayrıştırılmaktadır. Elde edilen hücrelerin birçok özneliği çıkartılmış ve en iyi sonucu veren öznelikler belirlenerek bu hücreler destek vektör makineleri ile sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada 410 adet beyaz kan hücresinden farklı kombinasyonlarda eğitim ve test veri setleri elde edilmiştir. Destek vektör makineleri, test setindeki 87 hücrenin 3 tanesini yanlış sınıflandırarak %96,6 başarı ile en iyi sonucu vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut lenfosit lösemi, Destekçi vektör makinesi, Görüntü işleme, Mikroskop görüntüleme sistemi, Hareketli mikroskop tablası, İşaretçi kontrollü-su-seddi algoritması, K-ortalama algoritması

ABSTRACT

MS THESIS

COMPUTER-AIDED ACUTE LYMPHOCYTE LEUKEMIA SCANNING

Ahmet ÖZCAN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN INFORMATION
TECHNOLOGY ENGINEERING**

Advisor: Assist. Prof. Murat SELEK

2019,51 Pages

Jury

**Assist. Prof. Murat SELEK
Prof. Dr. Fatih BAŞÇİFTÇİ
Prof. Dr. Hakan IŞIK**

In this study, acute lymphocyte leukemia scanning was performed by image processing method. Matlab image processing tool as software, 108 microscope images as the data set were used. The microscope imaging system was designed for the scanning of the preparations examined under the microscope, the combining of the obtained images as a whole and transferring them to the computer. K-mean algorithm was used to segment white blood cells from the microscope images and to separate the white blood cells into the core and cytoplasm. While separating the nucleus and the cytoplasm from each other, the cells are processed as a whole, without dividing into sub-images. The cells in contact with each other were successfully separated using the pointer-controlled water-beam algorithm. Many Eigen values of the obtained cells were extracted and these cells were classified with support vector machines by identifying the best results. In this study, data sets were obtained from 410 white blood cells in different combinations. Support vector machines misclassified 3 of 87 cells in the test set and gave the best result with 96.6% success.

Keywords: Acute lymphocyte leukemia, Supporter vector machine, Image processing, Microscope imaging system, Moving microscope stage, Pointer controlled-Watershed algorithm, K-mean algorithm

ÖNSÖZ

Çağımızın vebası kanserin, dünyada ve Türkiye’de görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. Özellikle çocukluk çağı kanseri olan “Akut Lenfosit Lösemi” nin görüntü işleme yöntemiyle kanserli hücreleri tespit etmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır.

Mikroskop altında incelenen örneklerin taranarak bilgisayar ortamına aktarılması ve analiz edilmesi için kullanılan mikroskop görüntüleme sistemleri günümüzde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Yapılan fiyat araştırmaları ve araştırma hastanelerinde yaptığımız araştırmalar sonucunda bu sistemlerin ekonomik maliyetten kaynaklı olarak kullanılmadığı tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak yapılan görüntü işleme uygulamasının yanında mikroskop altında incelenen preparatların taranarak bilgisayar ortamına aktarılması amacıyla mikroskop görüntüleme sistemi tasarlanmıştır.

Bana bu alanda çalışma fırsatı veren, çalışmamın her safhasında yardımlarını esirgemeyen, her konuda özveri ile yaklaşıp sorunlarıma çözüm bulan, danışmanım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Murat SELEK’e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Test verilerini elde etmemde ve sınıflandırma aşamasında sonuçların değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Hematoloji Uzmanı Dr. Mustafa MERTER’e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ahmet ÖZCAN
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1 Mikroskop görüntüleme sistemi	9
3.1.1 Hareketli Mikroskop Tablası	9
3.1.2 Preparat Tarama Programı	16
3.2 Beyaz kan hücrelerinin tespit edilmesi	18
3.3 Beyaz kan hücrelerinin bölütlenmesi.....	19
3.4 Özneliklerin Çıkarılması ve Hücrelerin Sınıflandırılması.....	23
4. MİKROSKOP GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİNİN TEST EDİLMESİ.....	28
5. BEYAZ KAN HÜCRELERİNİN BÜTÜN OLARAK İŞLENMESİ VE SİNİFLANDIRILMASI	32
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	37
6.1 Sonuçlar	37
6.2 Öneriler	37
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	42

ŞEKİLLER

Şekil 3.1 Hareketli mikroskop tablası.....	10
Şekil 3.2 Arduino Uno Kartı	10
Şekil 3.3 Eksen hareketlerini sağlayan step motor	12
Şekil 3.4 Thoma Lamı ve mikroskop altındaki görüntüsü.....	12
Şekil 3.5 40X objektifle çekilmiş Thoma Lam'ının örnek görüntüsü	13
Şekil 3.6 40X'de 50 µm mesafedeki piksel sayısı	14
Şekil 3.7 100X'de 50 µm mesafedeki piksel sayısı	14
Şekil 3.8 X eksenindeki herhangi bir pikselin yer değiştirmesinde kullanılan görüntüler	15
Şekil 3.9 Preparat taranırken izlenen yol	17
Şekil 3.10 Preparat tarama programının akış şeması	17
Şekil 3.11 Mikroskop görüntüsünden K-ortalama algoritması ile elde edilen görüntü..	19
Şekil 3.12 Sitoplazma ve çekirdeklerin birbirinden ayrılması.....	20
Şekil 3.13 Çekirdek görüntüsü ve mesafe dönüşümünde elde edilen görüntüler	21
Şekil 3.14 İşaretçi belirteçler ve belirteçlerin çekirdek üzerindeki konumu	22
Şekil 3.15 İşaretçi kontrollü su-seddi algoritmasından elde edilen sonuçlar.....	22
Şekil 3.16 Birbirine temas eden çekirdeklerin ayrılmış hali.....	23
Şekil 3.17 Örnek alt görüntüler.....	23
Şekil 3.18 İki sınıflı bir problem için hiper-düzlemler	25
Şekil 3.19 Destek vektörleri ve sınıfları birbirinden ayıran hiper düzlem.....	25
Şekil 3.20 Doğrusal olarak ayıramayan veri seti	26
Şekil 3.21 Çekirdek fonksiyonu ile verinin daha yüksek bir boyuta dönüştürülmesi	27
Şekil 4.1 Preparat taramasından elde edilen örnek alt görüntüler	28
Şekil 4.2 Preparat taramasında 10x10 görüntülük birleştirilmiş bütün görüntü	29
Şekil 4.3 Preparat taramasından sonra elde edilen ikili görüntü.....	30
Şekil 5.1 Test edilen örnek hücre görüntüleri.....	32
Şekil 5.2 Şekil 5.1.(a)'daki görüntünün test edilmesi	33
Şekil 5.3 Şekil 5.1(b)'deki görüntünün test edilmesi	34
Şekil 5.4 Şekil 5.1(a)'görüntüsünden elde edilen çekirdekler	34

Çizelgeler

Çizelge 3.1 Öznitelikler tablosu.....	24
Çizelge 5. 1 1. Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları	35
Çizelge 5. 2 2. Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları	35
Çizelge 5. 3 3. Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları	35
Çizelge 5. 4 4. Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları	35
Çizelge 5. 5 10-kez çapraz doğrulama ile modellerin başarı oranları	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

MHz : Megahertz
GHz : Gigahertz
Fps : Saniyedeki kare sayısı
 μm : Mikrometre
 cm^2 : Santimetre kare
 mm^2 : Milimetre kare
 α : Alpha
 σ : Sigma
 λ : Lambda
 γ : Gamma
 ϕ : Phi

Kısaltmalar

PTP : Preparat Tarama Programı
HMT : Hareketli Mikroskop Tablası
MGS : Mikroskop Görüntüleme Sistemi
DVM : Destekçi Vektör Makineleri
ALL : Akut Lenfosit Lösemi

1. GİRİŞ

Çocukluk döneminin en sık görülen kanser türü lösemidir. Çocukluk çağı kanserlerinin %25-30'unu lösemiler oluşturmaktadır(Yöntem ve Bayram, 2018). En sık görülen alt tipi olan akut lenfosit lösemi, vakaların % 75-80'ini oluşturur(Uzunhan ve Karakaş, 2012). Bu hastalık erken evrede teşhis edildiği takdirde tedavisi daha etkin bir şekilde yürütülebilmektedir. Hastalığa bağlı can kayıpları ve bu hastalığın çocuklar üzerindeki zararlı etkileri minimuma indirebilmektedir (Özen ve Parmaksız, 2011).

Sağlıklı bir vücutta, kemik iliğinde bulunan kan hücreleri belirli aşamalardan geçerek olgunlaşmakta ve farklılaşmaktadır. Ancak lösemi hastalarında farklılaşma evrelerinde meydana gelen bozulmalar sonucunda lenfoblast adını verdiğimiz kanser hücreleri oluşmakta ve kemik iliğinden kana geçmektedir (Yöntem ve Bayram, 2018). Lösemi hastalığından şüphelenilen çocuklardan alınan kan örnekleri uzman doktorlar tarafından mikroskop altında incelenerek, morfolojik sınıflandırma yapılmakta ve lenfoblast adı verilen kanser hücreleri aranmaktadır (Fındık ve Oltulu, 2018).

Kemik iliğinde bulunan kök hücreler olgunlaşarak beş farklı beyaz kan hücresine dönüşürler; kök hücre ilk olarak Lenfoblast ve Miyeloblast hücrelerine, daha sonra bu hücreler olgunlaşarak Bazofil, Nötrofil, Eozonofil, Monosit ve Lenfosit hücrelerine dönüşerek kemik iliğinden kana karışır. Lenfoblast veya Miyeloblast hücreleri olgunlaşmadan kemik iliğinden kana karışırsa lösemi dediğimiz hastalık görülür.

Bizim çalışmamız çocuklarda görülen Akut Lenfoblast Lösemi üzerinedir. Çalışmadaki amacımız 2-15 yaş aralığındaki çocuklarda en sık görülen kanser türü olan akut lenfosit lösemisinin erken evrede tespit edilmesini sağlayarak, tedaviyi daha etkili bir hale getirmek ve bu hastalığa bağlı can kayıplarını en aza indirmektir. Aynı zamanda lösemi bulgularıyla doktora başvuran çocukların teşhisi aşamasındaki uzmana bağlı olan öznelliği ve inceleme aşamasındaki vakit kaybını en aza indirerek doğru teşhis konulmasını kolaylaştırmaktır. Amacımız lösemi tanısında pediatri doktorlarının kullanmış olduğu periferik yaymada lenfoblast arama yöntemini, görüntü işleme ve sınıflandırma yöntemleriyle daha kısa sürede ve daha objektif bir şekilde tamamlamak ve lösemi teşhisini kolaylaştırmaktır.

Biz çalışmamızda mikroskop görüntülerindeki beyaz kan hücrelerini bölütlemek ve bu hücreleri sitoplazma ve çekirdek olarak ayırmak için K-ortalama algoritmasını kullandık. Ayrılan çekirdekleri ikili görüntüye dönüştürmek için ise otomatik eşikleme

yöntemlerini uyguladık. Görüntülerin bir bütün olarak işlenmesi, temas eden hücrelerin birbirinden ayrılması ise işaretçi kontrollü su-seddi algoritması kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde öncelikle mikroskop görüntülerinden beyaz kan hücreleri elde edilmektedir. Her bir beyaz kan hücresini sitoplazma ve çekirdek olarak ikiye ayırmak için hücreler alt görüntülere ayrılmakta ve burada sitoplazma ve çekirdek birbirinden ayrıştırılmaktadır.

Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalardan farklı olarak tek bir hücrenin çekirdeğini sitoplazmasından ayırmak yerine, beyaz kan hücrelerinin tamamının görüntüsü bir bütün olarak işlenerek, sonrasında da sitoplazma ve çekirdek olarak iki ayrı görüntü elde edilmektedir. Bu yaklaşımın çekirdeklerin birbirine olan temasını azaltması ve temas eden çekirdekleri birbirinden ayırmak için kullandığımız işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasının başarılı olmasında önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çekirdeklerin başarılı bir şekilde bölütlenmesi çalışmanın sonraki adımlarını önemli ölçüde etkilemektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde diğer bir problem ise ilgilenilen çekirdeğin sınırlarının belirlenmesi ve bu sınırların içerisindeki komşu çekirdeklerin istenmeyen alanlarının bulunmasıdır. İlgilenilen çekirdeğin sınırları belirlenip genişletilerek ve genişletilmiş sınırlara ait çekirdek bölgesine işaretçi kontrollü su-seddi algoritması uygulanarak bu probleme çözüm aranmaktadır.

Destek vektör makinelerinin başarısında çekirdek fonksiyonu ve parametre optimizasyonu önemlidir(Ayhan ve Erdoğan, 2014). Sınıflandırma aşamasında ise veri setimiz üzerinde hangi çekirdek fonksiyonunun daha başarılı sonuçlar vereceği araştırılmaktadır.

Periferik yaymanın incelenmesi, hastalıkların teşhisinde çok önemli bir role sahiptir. Anemi, tanı konulamayan sarılık durumları, trombositopeni veya lökopeni ve lenfoma gibi hastalıkların teşhisinde periferik yayma incelenmektedir. Doku, kan vb. gibi örnekler mikroskop altında incelenerek hastalık teşhisi konulmaktadır.

Bu çalışmada görüntü işleme çalışmasına ek olarak mikroskop altında incelenen preparatın taranarak bilgisayar ortamına aktarılması için Mikroskop Görüntüleme Sistemi (MGS) tasarlanmıştır. Mikroskop görüntüleme sisteminin amacı; doktorların periferik yayma incelemelerinde zaman kaybetmeden preparat görüntülerini elde etmeleri, preparat görüntülerini uzaktan yorumlayabilmeleri, ikinci bir görüş alınmasını kolaylaştırmak ve incelenen örneğin taranarak tek bir görüntü haline getirilmesidir.

Bunların yanında mikroskop görüntüleme sisteminin yaygınlaşmasıyla tıp alandaki görüntü işleme uygulamalarına kaynak oluşturulacağı düşünülmektedir. Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültelerinde yapılan araştırmamızda mikroskop görüntüleme sistemlerinin maliyetinden dolayı yaygın olarak kullanılmadığı tespit edilmiştir. Preparat incelemesi yapan doktorlardan aldığımız bilgiler doğrultusunda ve fiyat araştırması sonucunda, bu tür sistemlerin maliyetli olduğu tespit edilmiştir.

Mikroskop görüntüleme sistemi; Matlab ortamında yazdığımız bir program (Preparat Tarama Programı), hareketli mikroskop tablası ve mikroskopun oküler bölümüne takılan kameradan oluşmaktadır.

Bu çalışma altı bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde tez çalışmasının amacı, önemi, kapsamı ve özgün yanlarından bahsedilmiştir. İkinci bölümde bu alanla ilgili daha önceden yapılmış olan mevcut çalışmalardan, literatürde yer alan ve bu çalışmanın konusuyla benzerlikler taşıyan çalışmalar paylaşılmıştır. Üçüncü bölümde Akut lenfosit lösemi hücrelerinin tespit edilmesinde izlenen yol ve kullanılan algoritmalar ile Mikroskop Görüntüleme Sisteminde kullanılan materyallerden bahsedilmiştir. Dördüncü bölümde Mikroskop Görüntüleme Sistemi test edilmiştir ve elde edilen preparat tarama görüntüleri verilmiştir. Beşinci bölümde, üçüncü bölümde anlatılan yöntemler doğrultusunda mikroskop görüntüleri bir bütün olarak işlenerek akut lenfosit lösemi hücreleri tespit edilmiştir. Son bölümde sonuçlar ve önerilere yer verilerek çalışmanın önemine dair değerlendirmeler yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Lösemi hastalığının teşhisi üzerine şimdiye kadar birçok çalışma yapılmış ve halende yapılmaya devam etmektedir. Bunlardan bazıları aşağıda incelenmiştir.

Scotti tarafından gerçekleştirilen çalışmada, kan hücrelerinin mikroskop görüntüleri üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Bunlarda beyaz kan hücrelerinin biçimsel özelliklerine bakarak birçok lösemi taraması yapılmıştır(Scotti, 2005). Mikroskop görüntülerine, akut lenfosit lösemi taramasında kullanılan, kenar bulma ve morfolojik açma-kapama yöntemleri uygulanarak, gri seviyedeki görüntüde Lenfoblast hücrelerin konumu belirlenmektedir. Bu işlemden sonra sitoplazma ve çekirdeği birbirinden ayırmak için Otsu eşikleme yöntemi kullanılmaktadır. Birbirinden ayrıştırılan çekirdek ve sitoplazmanın öznelikleri çıkartılarak, K en yakın komşu algoritmasıyla sınıflandırılmıştır. Bu yöntem ile hücrelerin konumunu belirleme problemi çözülmüş ancak bitişik hücreler ile boyama ve parlaklıktan kaynaklanan problemleri çözmede yetersiz kalmaktadır.

Reta ve ark.'larının gerçekleştirdiği çalışmada, kemik iliği görüntülerinde hücrelerin renk ve doku özellikleri kullanılarak Markov rastgele alan algoritması yardımıyla hücre bölgeleri elde edilmiştir. Kural tabanlı sınıflama kullanılarak, renk ve biçim özellikleri yardımıyla çekirdek ve sitoplazma birbirinden ayrıştırılmaktadır. Blast hücrelerini bölütlemek için sabit eşikleme değeri kullanılmıştır. Ancak bu her görüntüde uygun olmamakla birlikte, bazı hücrelerde sitoplazmanın kaybedilmesine sebep olmuştur. Sınıflandırma algoritması olarak K en yakın komşu algoritması ile birlikte beş farklı sınıflandırma algoritması kullanılmıştır (Reta ve ark., 2010).

Madhloom ve ark.'larının yaptığı bir diğer çalışmada, mikroskop görüntülerinden lenfoblastları bölütleyerek yapılmıştır(Madhloom ve ark., 2012). Bu çalışmada hücreleri bölütlemek için matematiksel morfoloji ve eşikleme yöntemleri kullanılmıştır; uygulanan yöntem hücrelerin konumunu belirlemede başarılı olurken yan yana olan hücreleri bölütlemeye başarısız olmuştur.

Mohapatra ve ark.'ları Lenfosit ve lenfoblast hücrelerini bölütlemek ve sınıflandırmak için K-ortalama algoritmasını kullanarak bir çalışma yapmıştır (Mohapatra ve ark., 2014). Çalışmada, kümeleme algoritmaları birlikte kullanıldığı zaman daha iyi sonuçlar vermiş ve K-ortalama algoritması, bulanık C algoritmasıyla birlikte kullanılmıştır. K-ortalama algoritması ile birlikte sınır belirleyici kullanılarak görüntü alt görüntülere ayrılmakta ve her alt görüntü çekirdek, sitoplazma ve arka plan

olmak üzere üç farklı bölgeye ayrılmaktadır. Bu metot, bölgeler arasında belirgin renk ve yoğunluk farklılıkları olduğu takdirde iyi çalışmaktadır. Ancak bölgeler arasında benzerlik arttıkça bölütleme performansı azalmaktadır. Sınıflandırma aşamasında ise K en yakın komşu algoritması kullanılmıştır.

Mikroskop görüntülerini kullanarak beyaz kan hücrelerinin tanımlanması ve sınıflandırılması üzerine bir başka çalışmada Shahin ve ark.'ları tarafından yapılmıştır (Shahin ve ark., 2017). Bu çalışmada, önceki çalışmalardan farklı olarak beyaz kan hücrelerinin tanımlanması için derin öğrenme yöntemlerinin kullanılmasının performansı arttıracığı savunulmuştur. Beyaz kan hücrelerini tanımlamak için derin kıvrımlı sinir ağları (Deep Convolutional Neural Network) kullanılmıştır. Öğrenme transferinde iki yöntem kullanılmıştır. Bunlar derin aktivasyon özellik ve derin hassas ayar yöntemleridir. Çalışma, beş farklı beyaz kan hücresini sınıflandırmak için 2551 görüntü üzerinde kontrol edilmiştir. Derin öğrenme yöntemi kullanılarak sonuçta %96,1 başarı elde edilmiştir.

Abdulhay ve ark.'ları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, mikroskop görüntülerinden lökosit hücrelerini bölütlemek için eğitilebilir bölütleme yöntemi kullanılmıştır (Abdulhay ve ark., 2018). Diğer bölütleme algoritmalarıyla karşılaştırıldığında, eğitilebilir bölütleme yönteminin daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Önerilen yöntem ile manuel olarak yapılan bölütleme işlemi karşılaştırılmıştır. Kullanılan yöntemde destekçi vektör makinesi bölütleme yapmak için eğitilmiş ve ilgili bölgenin konumu kesin olarak tanımlanmıştır. Daha sonra ilgilenilmeyen bölgeler histogram tabanlı filtreleme yöntemiyle görüntüden çıkartılmıştır. Tanımlanan hücrelerin doku özelliği kullanılarak 100 adet görüntü üzerinde, önerilen yöntem ile manuel olarak yapılan bölütleme yöntemleri karşılaştırılmış ve eğitilebilir bölütleme yönteminin manuel bölütlemeye karşı alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Bir başka çalışmada kemik iliği mikroskop görüntüleri kullanılarak, bölütleme aşamasında su-seddi algoritması kullanılmıştır. Bu çalışmada, görüntü gri seviyeye sonra ikili görüntü seviyesine dönüştürülmüş ve ikili görüntüye morfolojik açma-kapama yöntemi uygulanmış; öznitelik çıkartma aşamasında hücre özelliklerinden hangilerinin kullanılacağına karar vermek için genetik algoritma; hücreleri sınıflandırmak için ise destekçi vektör makinesi kullanılmıştır. Bu yöntemler problemleri çözmede yetersiz kalmıştır (Osowski ve ark., 2009).

Khashman ve ark.'larının çalışmasında çift modlu eşikleme ve matematiksel morfolojik yöntemler kullanılarak bölütleme işlemi yapılmış ve hücrelerin alt görüntüsü, manuel olarak görüntüden çıkartılmıştır. Sitoplazma ve çekirdeği birbirinden ayırmak için Zack algoritması kullanılmıştır. Ancak üç ana problemten herhangi biri tam olarak çözülememiştir (Khashman ve Al-Zgoul, 2010).

Literatürde mikroskop görüntülerini bölütlemek için birçok yöntem ve algoritma kullanılmıştır; bunlar tekil ve az kalabalık hücreleri bölütlemeye başarılı olmuşlardır; ancak bitişik hücreler ile kalabalık hücreleri bölütleme hâlen çözüm bekleyen bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu problemi çözmek için Arslan tarafından algısal su-seddi algoritması kullanılarak çözüm üretilmeye çalışılmıştır. İnsan algısını hücre bölütleme ile bağdaştıran yeni bir işaretçi-kontrollü su seddi algoritması kullanılarak hücreleri bölütlemeye diğer algoritmalara kıyasla daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir(Arslan, 2012).

Lökosit hücrelerinin tespit edilmesi ve sınıflandırılması üzerine Kasım ve ark.'ları tarafından çalışma yapılmıştır. Hastalık gösteren lökosit hücrelerini tespit etmek için bir algoritma geliştirilmiştir. Bu algoritmada Otsu ve Parçalı lineer filtre yöntemleri ile görüntü zenginleştirilerek lökosit hücre alanları daha belirgin hale getirilmiştir. Daha sonra K-ortalama algoritmasıyla desteklenen Markov rastsal alanlar yöntemini içeren hibrid yapıyla lökosit hücre alanları bölütlenmiştir. Bölütleme sonucunda elde edilen lökosit hücreleri için 34 farklı bilgiyi içeren öznitelik vektörü oluşturulmuştur. Lökosit hücreler olasılıksal yapay sinir ağları ile sınıflandırılmış ve sınıflandırma başarısı %91,5 olarak ölçülmüştür (Kasım ve Kuzucuoglu, 2015).

Görüntü işleme yöntemi kullanılarak akut lenfosit lösemi tespit sistemi üzerine Putzu ve ark.'ları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Bu yaklaşımda eşikleme ve renk dönüşüm yöntemleri kullanılarak beyaz kan hücreleri tespit edilmiş ve bu hücreler çekirdek ve sitoplazma olarak ayrıştırılmıştır. Çekirdek ve sitoplazmanın renk, biçim ve doku özellikleri kullanılarak öznitelikleri çıkartılmıştır. Çıkartılan özniteliklere bakılarak lenfosit hücrelerinin durumuna karar verilmiştir. Beyaz kan hücrelerini tespit ederken, RGB renk modelinden CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, Siyah) renk uzayına dönüşüm yapılmış ve daha sonra histogram eşitleme ve Zack algoritmaları kullanılarak bölütleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sınıflandırma aşamasında destekçi vektör makinesi ve K-en yakın komşu algoritması kullanılmıştır. Bu yöntem farklı parlaklık ve boyama koşulları altındaki görüntüler üzerinde başarısız olmuştur (Putzu ve ark., 2014).

Olgunlaşmamış kanserli hücrelerin tespit edilmesi ve bu hücrelerin kanser türünün belirlenmesi üzerine Vaghela ve ark.'ları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada ise morfolojik görüntü işleme yöntemleri, histogram eşitleme, doğrusal kontrast esnetme ile birlikte su-seddi algoritması ve K-ortalama algoritması kullanılmıştır ve biçimsel özellikler kullanılarak yapılan bölütleme işlemi daha başarılı sonuç vermiştir (Vaghela ve ark., 2015).

Beyaz kan hücrelerinin sayısı hastalık teşhisi için önemlidir. Beyaz kan hücrelerinin sınıflandırılması ve bu hücrelerin sayımı üzerine Theera-Umpon ve ark.'ları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada hücrenin tamamıyla ilgilenmek yerine hücrenin çekirdeklerine bakılarak bölütleme yapılmaya çalışılmıştır. Kemik iliği görüntüleri kullanılmış ve hücrelerin, kemik iliği görüntülerinde daha yoğun olduğu tespit edilmiştir. Hücreleri sınıflandırmak için ise Bayes sınıflandırma ve yapay sinir ağları kullanılmıştır ve bu sınıflandırma sonucunda %77'lik bir başarı tespit edilmiştir (Theera-Umpon ve Dhompongsa, 2007).

Mikroskop görüntülerini kullanarak lösemi teşhisi üzerine Karthikeyan ve ark.'ları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada bölütleme algoritması olarak K-ortalama ile Bulanık C ortalama algoritması karşılaştırılmış ve Bulanık C algoritması %90 başarı gösterirken, K-ortalamalar algoritması %83 başarı oranı göstermiştir. Öznitelik çıkarmak için renk özelliği; sınıflandırma algoritması olarak ise destekçi vektör makinesi kullanılmıştır (Karthikeyan ve Poornima, 2017).

Görüntü işleme yöntemiyle Akut myloid lösemi hücrelerinin bölütlenmesi ve sınıflandırılması üzerine Patel ve ark.'ları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada sınıflandırma algoritması olarak birçok algoritma karşılaştırılmıştır. Bunlar; yapay sinir ağları, destekçi vektör makinesi, rastgele orman algoritmalarıdır. Sonuç olarak da destekçi vektör makinesi en iyi sonucu vermiştir. Aynı zamanda bölütleme algoritması olarak birçok algoritma karşılaştırılmıştır. Bunlar; bulanık C ortalama, K-ortalama algoritmalarıdır. K-ortalama algoritmasında CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, Siyah) ve LAB renk uzayı kullanılmış ve en iyi sonucu veren bölütleme algoritması olmuştur (Patel ve Prajapati, 2018).

Hücrelerin sınıflandırılması için Zhao ve ark.'ları kan hücrelerini içeren mikroskop görüntülerini kullanarak karmaşık yapay sinir ağları ile destekçi vektör makinesini karşılaştırmıştır. 721 görüntü üzerinde deney yapılmıştır. Görüntüler 64*64 boyutunda görüntülere dönüştürülmüş, 2000'den fazla hücre elde edilmiş ve 12 farklı hücre türüne göre sınıflandırılmıştır. Neticede, kullanılan yöntemde karmaşık yapay

sinir ağıları (CNN) daha iyi sonuç vermiştir. Hücre sınıflandırması için önerilen yöntemin daha pratik olduğu ve daha doğru sonuçlar verdiği belirtilmiştir(Zhao ve Yue, 2016).

Beyaz kan hücrelerini sınıflandırmak ve lösemili kan hücrelerini tespit etmek için Hakim ve ark.'ları tarafından çalışma yapılmıştır. Çalışmada Scotti tarafından yayınlanan "ALL IDB1" veritabanı mikroskop görüntüleri kullanılmıştır, 108 adet mikroskop görüntüsü içerisinde sadece 7 tanesi kullanılarak 100 adet kanserli ve sağlıklı hücre elde edilmiştir. Bölütleme işleminden sonra hücrelerin öznitelikleri çıkartılmış ve bunun için hücrelerin istatistiksel ve biçimsel özellikleri kullanılmıştır. Öznitelik çıkartma aşamasında ardışıl ileri yönlü öznitelik seçim algoritması (sequential forward selection); sınıflandırma aşamasında ise K-en yakın komşu ve destekçi vektör makinesi algoritmaları kullanılmıştır. Önerilen yöntemin başarısı %84 olarak belirlenmiştir (Hakim ve Mohamed, 2017).

Literatürler incelendiğinde mikroskop görüntüleri üzerinde farklı yaklaşımlar kullanılarak birçok çalışma yapıldığı görülmektedir

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada veri seti olarak Scotti tarafından hazırlanan ALL-IDB1 veri tabanı ve görüntü işleme yazılımı olarak da Matlab görüntü işleme aracı kullanılmaktadır. Scotti tarafından hazırlanmış veri tabanında mikroskop görüntüleri ve bu görüntülerdeki kanserli lenfosit hücrelerin merkez noktaları bulunmaktadır (Scotti, 2005). Akut lenfosit lösemi hücrelerinin tespit edilmesi şu aşamalardan oluşmaktadır:

- Mikroskop görüntülerinin elde edilmesi, bu aşamada tasarlanan mikroskop görüntüleme sisteminden bahsedilecektir.
- Görüntü işleme yöntemiyle mikroskop görüntülerinden beyaz kan hücrelerinin tespit edilmesi,
- Beyaz kan hücrelerinin bölütlenmesi,
- Özniteliklerinin çıkartılması ve öznitelikler kullanılarak hücrelerin sınıflandırılması

3.1 Mikroskop görüntüleme sistemi

Doktorlar mikroskop ile herhangi bir preparatı (kan, doku, vb.) incelerken, mikroskop tablasını X,Y eksenlerinde hareket ettirir aynı zamanda mikroskopun oküler bölümünden bakarak incelenen örneğin görüntüsünü yakalamaya çalışırlar.

Mikroskop altında incelenen herhangi bir preparatın taranarak bilgisayar ortamına aktarılması ve burada görüntülerin bir bütün olarak incelenmesi doktorların işini kolaylaştırmaktadır. Mikroskop altında incelenen preparatları taramak amacıyla Mikroskop Görüntüleme Sistemi tasarlanmıştır. Burada amaç hem zaman kazancı hem de incelenen preparatın taranarak bütün olarak tekbir görüntüsünü elde etmektir.

Mikroskop görüntüleme sistemi, hareketli mikroskop tablası, kamera, Matlab ortamında yazılmış bir programdan (Preparat Tarama Programı) oluşmaktadır.

3.1.1 Hareketli Mikroskop Tablası

Hareketli mikroskop tablası (HMT) X,Y eksenlerinde hareket ederek preparatın tabla üzerindeki konumunu değiştirmektedir. Hareketli mikroskop tablasının kontrolü için Arduino Uno kartı, tablanın X,Y eksenlerinde hareketini sağlamak amacıyla iki adet adım motor, adım motorları sürmek için üzerinde L293D motor sürücü entegresi bulunan Arduino komponenti kullanılmaktadır.

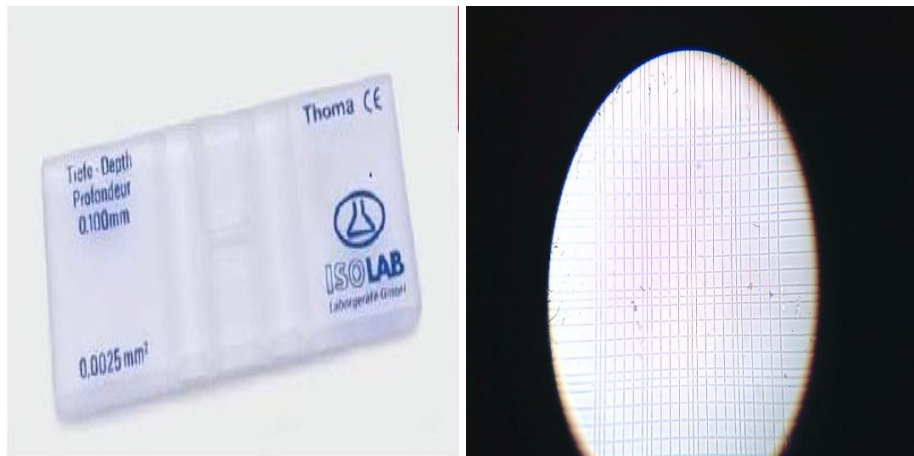

```
if(Serial.available(>0)
{
  int gln=Serial.read();
  switch (gln)
  {
    case 0:
      int g1;
      int g2;
      do
      {
        delay(1000);
        g1=digitalRead(motor_x_sifirlama);
        if(g1!=1)
        {
          motorx.step(1,BACKWARD,SINGLE)
        }
        g2=digitalRead(motor_y_sifirlama);
        if(g2!=1)
        {
          motory.step(1,BACKWARD,SINGLE)
        }
      }while(g1!=1||g2!=1)
      Serial.println(1);
      break;
    case 1:
      motorx.step(1,FORWARD, SINGLE);
      break;
    case 2:
      motory.step(1, FORWARD,SINGLE);
      break;
    case 3:
      motorx.step(1,BACKWARD,SINGLE);
      break;
  }
}
```

Eksenlerin hareketini sağlamak için Dvd veya Cd sürücülerde kullanılan Şekil 3.3'deki adım motorlar kullanılmaktadır. Bu adım motorlar 18 derece ve 20 adımlık çözünürlüğe sahiptir. Motor sürücü komponentinin mikro adım özelliği kullanılarak adım motorların çözünürlüğü artırılmaktadır, herbir adım 1/16 kadar küçültülerek 1.125 derece ve 320 adım olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.3 Eksen hareketlerini sağlayan step motor

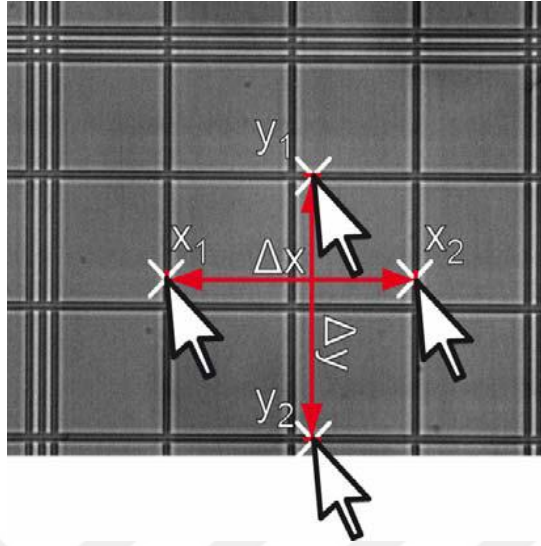
Adım motorların 1 adımda alacağı mesafeyi hesaplamak için 1 pikselin X ve Y eksenlerindeki gerçek uzunluğuna ihtiyaç duyulmaktadır. Bir pikselin X ve Y eksenindeki gerçek uzunluğunun hesaplanmasında Thoma Lam'ı kullanılmıştır. Thoma Lam'ına mikroskop altında bakıldığında Şekil 3.4(b)'de görüldüğü gibi en küçük hücrenin bir kenarının uzunluğu standart olarak 25 μm dir. Thoma Lam'ında her bir hücrenin gerçek uzunluğu bilinmektedir. 25 μm , 50 μm , 250 μm gibi kenar uzunluklarına sahip hücreler bulunmaktadır. Kan sayımında kullanılan Thoma Lam'ı ile 1 pikselin gerçek uzunluğu hesaplanmaktadır.



Şekil 3.4 Thoma Lamı ve mikroskop altındaki görüntüsü (a) Thoma lam'ı (b) Mikroskop altındaki görüntüsü

Thoma Lam'ı kullanılarak 1920X1080P çözünürlükte 1 pikselin gerçek uzunluğu aşağıdaki yöntemle hesaplanmıştır.

Mikroskop ile 10X,40X,100X objektiflerinin her birinde Thoma Lam'ının görüntüsünü alınarak, bu görüntüler üzerinde Şekil 3.5 deki gibi X ve Y eksenlerinde herhangi iki nokta belirlenmektedir.



Şekil 3.5 40X objektifle çekilmiş Thoma Lam'ının örnek görüntüsü

X2 ile X1 noktaları arasında 2 adet hücre vardır bu da bize X2 ile X1 noktaları arasındaki mesafenin 100 μm olduğunu gösterir. Aynı işlem Y ekseninde geçerlidir. Daha sonra X2 ile X1 arasında kaç piksel olduğu Matlab'ın imtool aracı kullanılarak hesaplanmıştır. Bunu matematiksel olarak eşitlik (3.1) ve (3.2)'deki gibi ifade edersek;

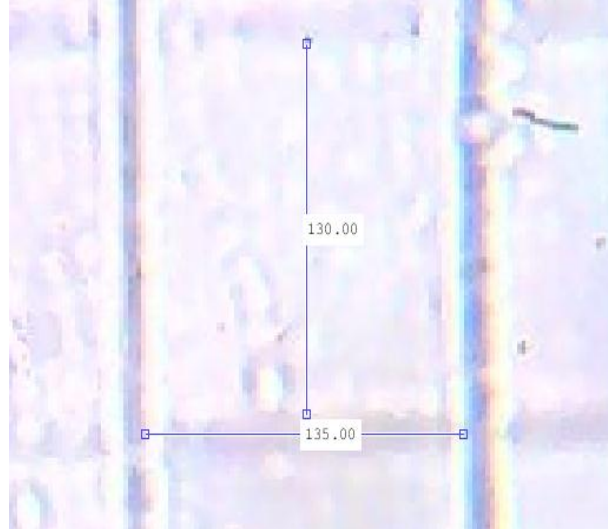
$$Px \left[\frac{\mu\text{m}}{\text{piksel}} \right] = \frac{x \text{ yönündeki gerçek uzunluk}[\mu\text{m}]}{X2-X1} \quad (3.1)$$

$$Py \left[\frac{\mu\text{m}}{\text{piksel}} \right] = \frac{y \text{ yönündeki gerçek uzunluk}[\mu\text{m}]}{Y2-Y1} \quad (3.2)$$

40X de çekilmiş 1920X1080 çözünürlüğe sahip görüntü üzerinde 1 pikselin gerçek boyutunu hesaplayalım. Matlab ortamında bu görüntü açıldı ve Şekil 3.6'da gösterildiği gibi Thoma Lam'ındaki 100 μm mesafedeki piksel sayısı bulundu.

$$Px = \frac{50 \mu\text{m}}{135 \text{ piksel}} \quad Px = 0,370 \mu\text{m}$$

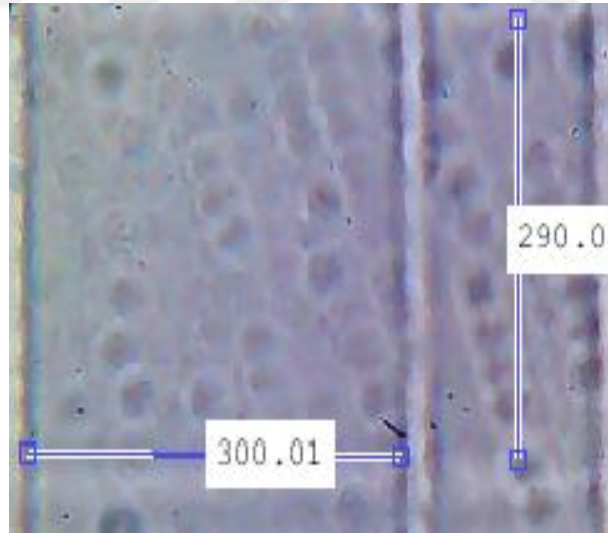
$$Py = \frac{50 \mu\text{m}}{130 \text{ piksel}} \quad Py = 0,384 \mu\text{m}$$



Şekil 3.6 40X'de 50 µm mesafedeki piksel sayısı

Sonuç olarak 40X objektif kullanılarak 1920x1080p çözünürlükle çekilmiş herhangi bir görüntüdeki 1 pikselin gerçek boyutunun genişliği 0,370 µm, yüksekliği 0,384 µm olarak hesaplanmıştır.

Preparat taramalarında genelde 40X ile 100X objektifler kullanılmaktadır. Yukarda anlatılan yöntemle 100X'de çekilmiş 1920X1080 çözünürlüğe sahip görüntü üzerinde 1 pikselin gerçek boyutunu da hesaplayalım.



Şekil 3.7 100X'de 50 µm mesafedeki piksel sayısı

$$P_x = \frac{50 \mu\text{m}}{300 \text{ piksel}}$$

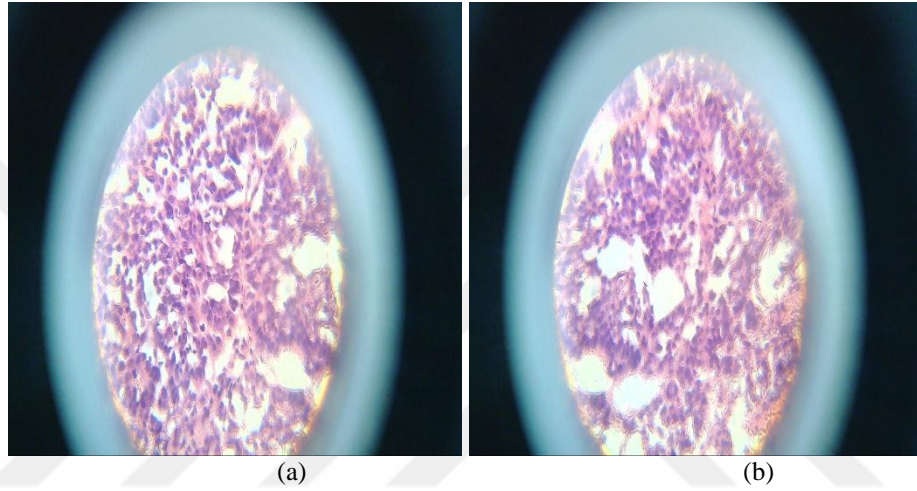
$$P_x = 0,166 \mu\text{m}$$

$$P_y = \frac{50 \mu\text{m}}{290 \text{ piksel}}$$

$$P_y = 0,172 \mu\text{m}$$

100X objektif kullanılarak 1920x1080p çözünürlükle çekilmiş herhangi bir görüntüdeki 1 pikselin gerçek boyutunun genişliği 0,166 μ m yüksekliği 0,172 μ m olarak hesaplanmıştır.

Buradan yola çıkarak adım motorların piksel türünden 1 adımında aldığı mesafe aşağıdaki gibi hesaplanmıştır. 40X objektif kullanılarak Şekil 3.8(a)'da görüldüğü gibi bir görüntü yakalanmış daha sonra adım motor 1 adım ilerlediğinde Şekil 3.8(b)'de görülen ikinci görüntü yakalanmıştır. Birinci görüntü ile ikinci görüntü arasındaki herhangi bir pikselin X ekseninde ne kadar yer değiştirdiği hesaplanmış ve bu sayı 655 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8 X eksenindeki herhangi bir pikselin yer değiştirmesinde kullanılan görüntüler (a) İlk görüntü
(b) İkinci görüntü

Adım motorunun 1 adım da aldığı mesafe=X ekseninde etiketlenmiş pikselin yer değiştirme sayısı * bir pikselin gerçek uzunluğu

$$\text{Mesafe} = 655 * 0.370 \mu\text{m}$$

Mesafe 242.35 μ m olarak hesaplanmaktadır.

Buradan yola çıkarak adım motorların piksel türünden ve μ m türünden 1 adımda aldığı mesafeler hesaplanmıştır.

Bu hesaplamalardan sonra Şekil 3.8'de görüldüğü gibi mikroskobun oküler bölümüne bağlanan kameradan alınan görüntülerde istenmeyen bölgeler bulunmaktadır. Görüntüler yakalanırken ilgilenilen bölgeden, istenilen büyüklükte görüntüler yakalamak için Matlab'ın görüntü akış aracı (imaqtool) kullanılarak görüntünün başlangıç noktası, genişliği ve yüksekliği hesaplanmaktadır.

Her adımda yakalanacak olan görüntünün yüksekliğini ve genişliğini hesaplayalım. 40X objektif altında 1 pikselin X eksenindeki genişliği 0.370 μ m, Y

eksenindeki genişliği 0,384 µm olarak hesaplanmıştır. Adım motorun 1 adımda aldığı mesafe en az 242 µm olarak hesaplanmıştır. Bu bilgiler kullanılarak yakalanan görüntülerin yükseklik ve genişlik bilgilerini hesaplırsak:

$$\text{Genişlik} = \frac{242}{0.370}$$

$$\text{Genişlik} = 655 \text{ piksel}$$

$$\text{Yükseklik} = \frac{242}{0.384}$$

$$\text{Yükseklik} = 630 \text{ piksel}$$

Sonuç olarak 40X objektif kullanılarak yapılacak preparat taramalarında yakalanacak tek bir görüntünün çözünürlüğü 655x630 piksel olarak hesaplanmıştır.

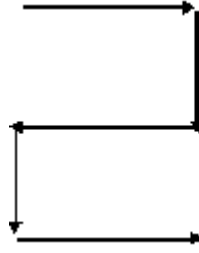
3.1.2 Preparat Tarama Programı

Preparat tarama programı matlab ortamında yazılmıştır. Mikroskop tablasında kullanılan Arduino programı ile seri port üzerinden haberleşerek motorların adım atması için gereken sinyalleri göndermektedir. Motorlar adım attıktan sonra mikroskobun oküler kısmına bağlanan kamera ile görüntü yakalanmakta ve her gelen görüntü önceki görüntü ile birleştirilmektedir.

Preparat tarama programı üzerinden hareketli mikroskop tablasının kontrol ünitesine 0, 1, 2, 3 rakamları gönderilmektedir. Her bir rakamın karşılık geldiği işlem aşağıda verilmektedir.

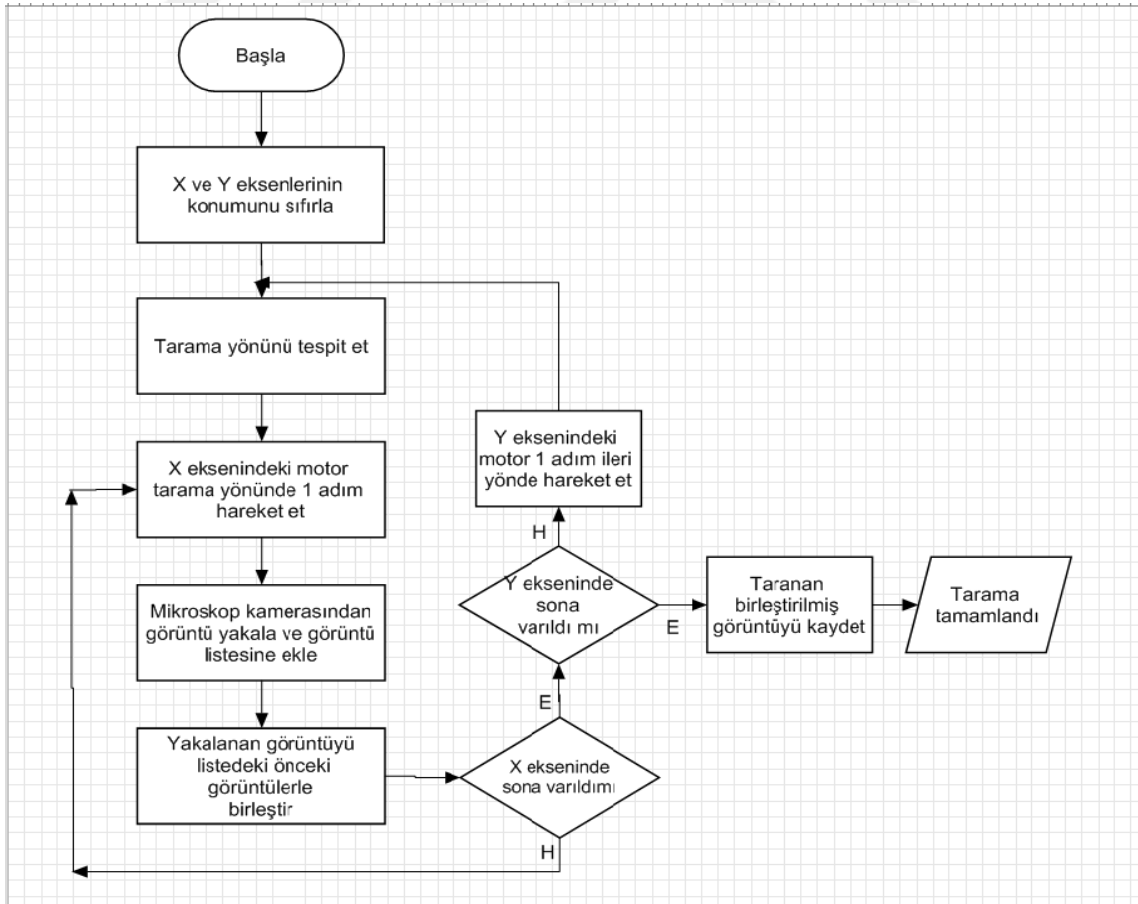
- 0: konum sıfırlamayı ve motorların ilk konuma gelmesini.
- 1: X eksenindeki motorun 1 adım ileri yönde hareket etmesini,
- 2: Y eksenindeki motorun 1 adım ileri yönde hareket etmesini,
- 3: X eksenindeki motorun 1 adım geri yönde hareket etmesini sağlamaktadır.

Tarama yönü ve sırası Şekil 3.9'da görüldüğü gibi X eksenindeki herhangi bir satır tarandıktan sonra X eksenindeki adım motor geri dönmeden Y eksenindeki adım motor bir adım atar ve daha sonra X eksenindeki adım motor geriye doğru hareket etmektedir. Bu da bize preparat taranırken zamandan kazanç sağlamaktadır.



Şekil 3.9 Preparat taranırken izlenen yol

Preparat tarama programı ile 12x12 mm'ye kadar preparat alanı taranabilmektedir. Her bir adımda en az 240 μm 'lık bir hareket ile 50 satır ve 50 sütunluk bir alan taranabilmektedir. Böylece bir preparata ait toplamda 2500 adet görüntü elde edilebilir. Programın görüntü yakalama frekansı 3sn'dir. Ancak bu süre daha kaliteli adım motorlar ve kameralar kullanılarak azaltılabilir. Örneğin 20x20 görüntülük bir alan tarandığında $20 \times 20 = 400$ görüntü elde edilir. Her bir görüntü 3sn'de yakalandığında yaklaşık olarak ($400 \times 3 = 1200\text{sn}$) 20 dakikada bir preparat taranmaktadır. Özellikle kan sayımlarında belli alandaki kan sayısına bakılır. İhtiyaç duyulan alana göre görüntü sayısını artırıp azaltabiliriz. Şekil 3.10'da PTP'nin akış şeması ve yazılan program kodları verilmiştir.



Şekil 3.10 Preparat tarama programının akış şeması

Preparat tarama programının Matlab ortamında yazılmış kodları:

```

for y=1:satir_sayisi
deger=mod(y,2);
%satır sağdan sola gidiyor
fprintf(ar,2);
pause(3);

if deger==1
for x=sayac:y*sutun_sayisi
pause(3);
img = goruntu_yakala(vid);
liste=img;
h=montage(cat(4,liste,'Size',[satir_sayisi
sutun_sayisi]));
MyMontage = get(h,'CData');
axes(handles.axes4);
imshow(MyMontage);
%X motoru ileri hareket ediyor
fprintf(ar,1);
end
sayac=sayac+sutun_sayisi;
else
for x=(y*sutun_sayisi):-1:(y-1)*sutun_sayisi+1
pause(3);
img = goruntu_yakala(vid);
liste=img;
h=montage(cat(4,liste),'Size',[satir_sayisi
sutun_sayisi]));
MyMontage = get(h,'CData');
axes(handles.axes4);
imshow(MyMontage);
%X motoru geri yönde hareket ediyor
fprintf(ar,3);
end
sayac=sayac+sutun_sayisi;
end
end
end

```

3.2 Beyaz kan hücrelerinin tespit edilmesi

Görüntü işleme uygulamalarındaki en önemli aşama, istenilen bölgenin tüm görüntüden çıkartılması aşamasıdır ki, bu sonraki adımların başarılı olmasında en büyük etkiye sahiptir. Beyaz kan hücrelerini mikroskop görüntüsünden çıkarmak için K-ortalama algoritması kullanılmaktadır.

En eski kümeleme algoritmalarından olan K-ortalama 1967 yılında J.B. MacQueen tarafından geliştirilmiştir (Yıldız ve ark., 2010). K-ortalama algoritması, N adet verinin k adet kümeye bölünmesidir. K ortalama algoritmasının çalışma aşamaları şu şekildedir (Solak ve Altınışık, 2018):

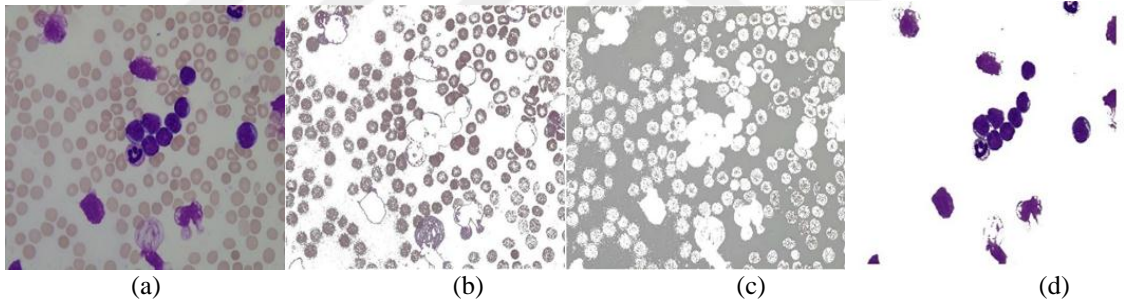
1. K-adet küme merkezinin rastgele belirlenmesi
2. Öklid uzaklık ölçütü kullanılarak her bir küme elamanının küme merkezlerine uzaklıkları hesaplanır. Küme elemanları en yakın küme merkezine dahil edilir.
3. Küme merkezi yeniden hesaplanır.
4. Küme merkezi değiştiği sürece 2. ve 3. maddeler tekrarlanır.

K-ortalama algoritmasının amaç fonksiyonu eşitlik (3.3)'deki gibidir.

$$F = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^n \left\| X_i^{(j)} - C_j \right\|^2 \quad (3.3)$$

- k: küme sayısı
n: j. Kümedeki piksel sayısı
 $X_i^{(j)}$: j kümesindeki herhangi bir piksel
 C_j : j kümesinin merkez noktası

K-ortalama algoritması kullanılarak verilen mikroskop görüntüsü 3 farklı görüntüye bölütlenir. Burada 'k' küme sayısını belirtmektedir.



Şekil 3.11 Mikroskop görüntüsünden K-ortalama algoritması ile (a) İşlenecek mikroskop görüntüsü (b) 1.kümeye ait görüntü (c) 2.kümeye ait görüntü (d) 3.kümeye ait görüntü

K-ortalama algoritmasına verilen mikroskop görüntüsü 3 farklı görüntüye bölütlenmektedir. 3.kümeye ait görüntüde hücreler başarılı bir şekilde arka plandan ve diğer kan hücrelerinden bölütlenmektedir. (Şekil 3.11(d)).

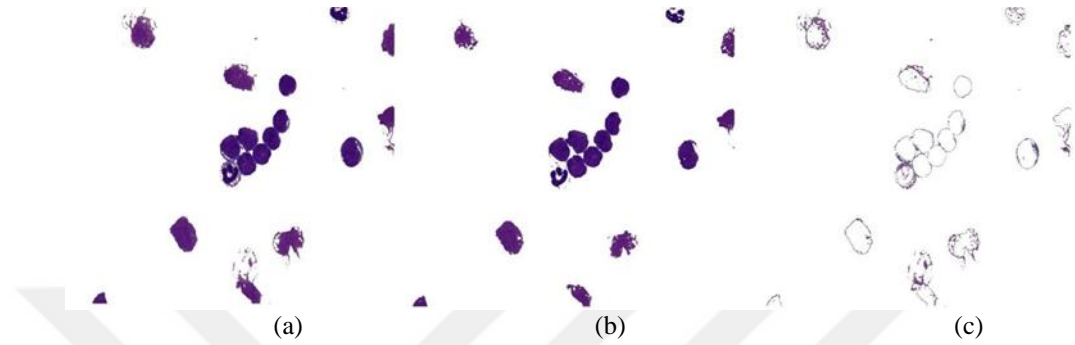
3.3 Beyaz kan hücrelerinin bölütlenmesi

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde hücrelerin sınırları belirlenmekte ve sınır bilgileri kullanılarak hücreler alt görüntülere ayrılmaktadır. Elde edilen alt görüntüler kullanılarak hücrelerin sitoplazma ve çekirdekleri birbirinden ayrıştırılmaktadır.

Bu çalışmada elde edilen beyaz kan hücreleri alt görüntülere ayrılmadan bir bütün olarak işlenerek hücrelerin sitoplazma ve çekirdekleri birbirinden ayrıştırılmaktadır. Bu yaklaşımın amacı hücrelerin birbirine olan temasını azaltmak ve

temas eden hücreleri daha başarılı bir şekilde birbirinden ayırmaktır(Özcan ve Selek, 2019).

Hücreleri sitoplazma ve çekirdek olarak ayırmak için elde edilen beyaz kan hücrelerine ait Şekil 3.11(d))’deki görüntüye tekrar K-ortalama algoritması uygulanarak hücrelerin çekirdeği ve sitoplazması birbirinden ayrıştırılmaktadır (Şekil 3.12(b.c). Elde edilen görüntüler aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.12 Sitoplazma ve çekirdeklerin birbirinden ayrılması (a) K-ortalama algoritmasına verilen hücreler (b) Hücrelerin çekirdekleri (c) Hücrelerin sitoplazmaları

Burada K-ortalama algoritması kullanılarak hücrelerin sitoplazma ve çekirdekleri başarılı bir şekilde ayrıştırılmaktadır. Şekil 3.12.(b)’de görüldüğü gibi çekirdeklerin birbirine olan teması azaltılmaktadır. Şekil 3.12.(b)’de elde edilen çekirdeklere işaretçi kontrollü su-seddi algoritması uygulanarak temas eden çekirdekler ayrılmaktadır.

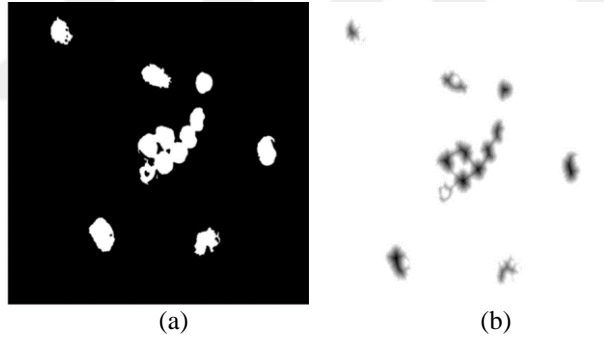
Çalışmamızda kullanılan diğer bir algoritma, işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasıdır. Literatürde hücre bölütlemesi için en sık kullanılan yöntem, işaretçi kontrollü su-seddi algoritmalarıdır (Yang ve ark., 2006; China Valdés ve Lorenzo-Ginori, 2011; Kaur, 2014). Su-seddi algoritması yan yana duran iki su havzasına aynı anda su doldurulması ve havzalardan taşan suların birbirine karıştığı yeri belirleme yaklaşımından esinlenilmiştir(Soille ve Vincent, 1990). Su seddi algoritmasının üç farklı yaklaşımı vardır (Kaur, 2014). Bunlar;

- Mesafe Dönüşümü,
- Gradient yöntemi,
- İşaretçi kontrolü.

Su-seddi algoritması genellikle mesafe dönüşüm yaklaşımıyla kullanılır ancak bu yöntem hücrelerin fazla bölütlenmesine neden olmaktadır. Mesafe dönüşüm

yaklaşımıyla birlikte işaretçi kontrollü yaklaşım kullanılırsa birbirine temas eden hücreler başarılı bir şekilde bölütlenmektedir. İşaretçi kontrollü su-seddi algoritması, genellikle görüntü üzerindeki nesnelere işaretlemek için kullanılan belirteçleri hesaplamak amacıyla kullanılır. Bu yaklaşım ile her bir hücreye ait bir işaretçi hesaplanmakta ve bu işaretçiler belirteç olarak kullanılarak birbirine temas eden hücreler birbirinden ayrılmaktadır. Su-seddi algoritması görüntü üzerindeki bölgeleri etiketlemektedir, elde edilen belirteçler kullanılarak su-seddinin, hücre bölgelerini başarılı bir şekilde etiketlemesi sağlanmaktadır. Su-seddi algoritmasının başarılı sonuç vermesi işaretçi belirteçlere bağlıdır ve belirteçler şu şekilde hesaplanır.

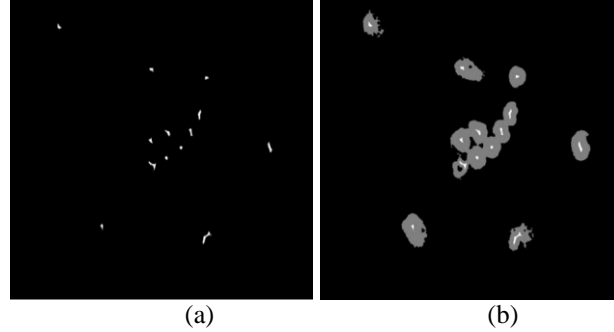
Otomatik eşikleme yöntemiyle görüntü ikili görüntüye dönüştürülür (Şekil 3.13(a)). Çekirdek görüntülerine ait ikili görüntüye, mesafe dönüşümü fonksiyonu uygulanır. Mesafe dönüşüm (distance transform) fonksiyonu da, ikili görüntüdeki her bir pikselin kendisine en yakın değeri 1 olan piksele uzaklığını hesaplar ve geri dönüş değeri olarak ikili görüntü boyutuna ait $(m*n)$ matris ekler. Bu hesaplama bize renk değişiminin hangi yönde ve ne kadar şiddette olduğunu sunar. Matlab görüntü işleme fonksiyonu olarak `bwdist()` kullanılmıştır.



Şekil 3.13 Çekirdek görüntüsü ve mesafe dönüşümünde elde edilen görüntüler (a) Mesafe dönüşümü uygulanan örnek ikili görüntü (b) Mesafe dönüşüm fonksiyonundan sonraki görüntü

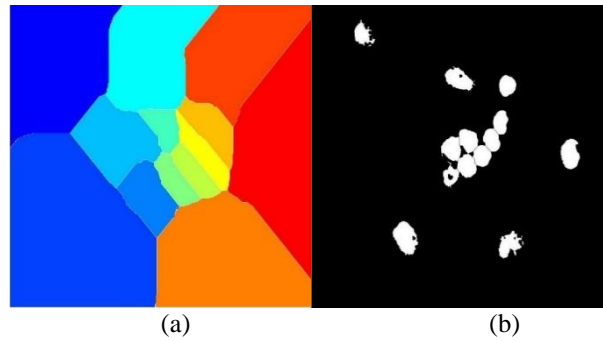
Mesafe dönüşümü uygulandıktan sonraki görüntü üzerindeki gri yoğunluk, hücrelerin merkezinden çevresine doğru azalmaktadır (Şekil 3.13(b)). Bu düşünceden faydalanarak, mesafe dönüşümü hesaplanmış görüntü üzerinde minimum (regional minima) veya maksimum (regional maxima) renk yoğunluğuna sahip bölgeler hesaplanmaktadır. Burada `imextendedmin()` fonksiyonu kullanılmıştır. `imextendedmin()` fonksiyonu, gri görüntüye uygulandı ve minimum renk değerine sahip bölgeler hesaplandı (Şekil 3.14(a)). Minimum renk değerine sahip birçok bölge olabilir fakat biz bu bölgelerden en az 6 piksel alana sahip bölgeleri kullandık. İşaretçi olarak 6 pikselden az alana sahip bölgeler kullanıldığı zaman çekirdeğin kendi içinde bölünmesine neden

olabiliyor. 6 pikselden daha büyük alana sahip bölgeler her zaman olmayabiliyor bu da çekirdeklerin işaretçilerinin kaybına neden oluyor. Bizim çalışmamızda minimum renk değerine sahip bölge alanı, optimum 6 piksel olarak belirlenmektedir.



Şekil 3.14 İşaretçi belirteçler ve belirteçlerin çekirdek üzerindeki konumu (a) Çekirdeklerin işaretçi belirteçleri (b) İşaretçi belirteçlerin çekirdekler üzerindeki görüntüsü

Elde edilen işaretçiler ve mesafe dönüşümü hesaplanmış gri görüntü kullanılarak yeniden morfolojik yapılandırma uygulanmaktadır. Morfolojik yeniden yapılandırma ile her çekirdeğe ait işaretçinin gösterdiği konumdaki minimum renk değeri o hücrenin tamamına uygulanmıştır. Morfolojik yeniden yapılandırma sonucu elde edilen minimum renk değerine sahip bölgelerin her biri, su-seddi algoritmasına göre bir su-havzasını temsil etmektedir. Su-seddi algoritması bu yaklaşımdan faydalanarak çekirdek bölgelerini etiketlemektedir. Morfolojik yeniden yapılandırma sonrası su-seddinde bölgelerin etiketlenmesi Şekil 3.15(a)'daki gibidir. Su-seddinden elde edilen etiketlenmiş matris, rgb renk uzayına dönüştürülmektedir.



Şekil 3.15 İşaretçi kontrollü su-seddi algoritmasından elde edilen sonuçlar (a) İşaretçi kontrollü su seddi algoritmasında etiketlenmiş çekirdek bölgeleri. b) İşaretçi kontrollü su-seddi algoritmasından elde edilen çekirdekler

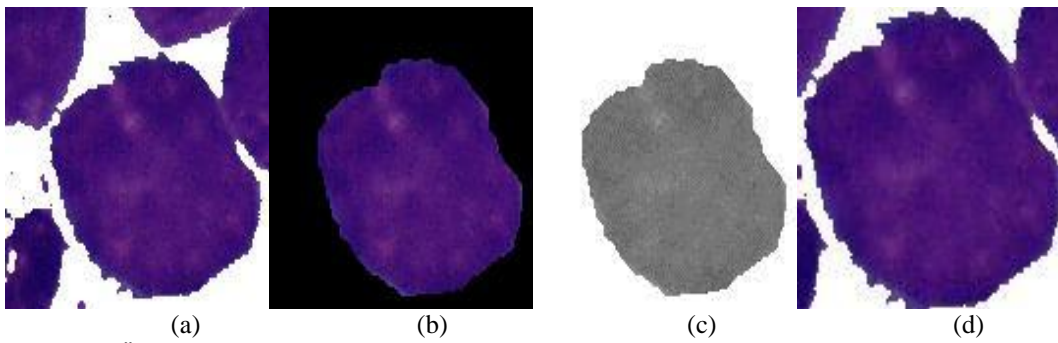
İşaretçi kontrollü su-seddi algoritması ile elde edilen görüntüde 13 adet bölge vardır (Şekil 3.15(a)). Her bir bölge bir adet çekirdeği temsil etmektedir. Su-seddi dönüşümünde bölgeleri ayıran sınırlar '0' olarak etiketlenir, biz de bu bilgiyi kullanarak çekirdekleri sınırlarından ayırdık. Daha sonra Şekil 3.15(b)'deki görüntüye morfolojik

aşındırma işlemi uygulanarak çekirdek etrafındaki gürültüler temizlenmektedir. Sonuçta Şekil 3.16'daki görüntü elde edilmektedir.



Şekil 3.16 Birbirine temas eden çekirdeklerin ayrılmış hali

Bu aşamadan sonra her bir çekirdek alt görüntülere ayrılmaktadır. Çekirdek sınırlarının belirlenmesi aşamasında Şekil 3.16'daki ikili görüntü kullanılmaktadır. Bu görüntüdeki çekirdekler etiketlenmekte ve bunların sınır bilgileri elde edilmektedir. Bu sınır bilgileri kullanılarak elde edilen görüntü Şekil 3.17(d)'de görüldüğü gibi ilgilenilen çekirdeğin alt ve sağ kenarları sınırlara temas etmektedir. Bu görüntüye kenarlık temizleme fonksiyonu (imclearborder) uygulandığında ilgilenilen çekirdeğin kenarları sınırlara temas ettiğinden çekirdek kaybedilmektedir. Bu problemi çözmek için elde edilen sınır bilgilerinin x ve y eksenleri 20 piksel genişletilmektedir. Genişletilmiş sınır bilgileri kullanılarak elde edilen görüntü Şekil 3.17(a)'daki gibidir. Bu görüntüye tekrar işaretçi-kontrollü su-seddi algoritması uygulanarak Şekil 3.17(b)'deki görüntü elde edilmektedir.



Şekil 3.17 Örnek alt görüntüler (a) Sınırları genişletilmiş alt görüntü (b) Kenarları temizlenmiş rgb görüntü (c) Kenarları temizlenmiş gri görüntü (d) Sınırları genişletilmemiş alt görüntü

3.4 Özniteliklerin Çıkartılması ve Hücrelerin Sınıflandırılması

Birbirine temas eden hücreler ayrıldıktan sonra elde edilen görüntü üzerindeki her bir çekirdeğin öznitelikleri çıkartılmaktadır. İkili görüntü üzerindeki çekirdekler etiketlenerek ve çekirdeklerin renk, biçim, doku özelliklerinden her bir çekirdeğe ait 14

adet öznelik hesaplanmaktadır. Literatür incelendiğinde genellikle Çizelge 3.1'deki öznelikler kullanılmaktadır (Putzu ve ark., 2014; Begum ve Razak, 2017; Negm ve ark., 2017)

Çizelge 3.1 Öznelikler tablosu	
Biçim	Alan
	Çevre
	Eksantriklik (eccentricity)
	Katılık (solidity)
	Dairesellik (roundnes)
	Uzama (elengation)
Doku	Yoğunluk(Compactness)
	Kontrast
	Korelasyon
	Enerji
	Entropi
Renk	Homojenlik
	Standart sapma
	Ortalama

Hücrelerin çevre, alan, en büyük eksen, en küçük eksen gibi öznelikler, regionprops() fonksiyonu ile elde edilmektedir. Bu veriler kullanılarak Eksantriklik, Dairesellik, Uzama gibi öznelikler hesaplanmaktadır (Putzu ve ark., 2014). Hesaplanan bazı özneliklerin matematiksel ifadeleri eşitlik (3.4), (3.5) ve (3.6) verilmektedir.

Major axis=en büyük çap

Minor axis=en küçük çap

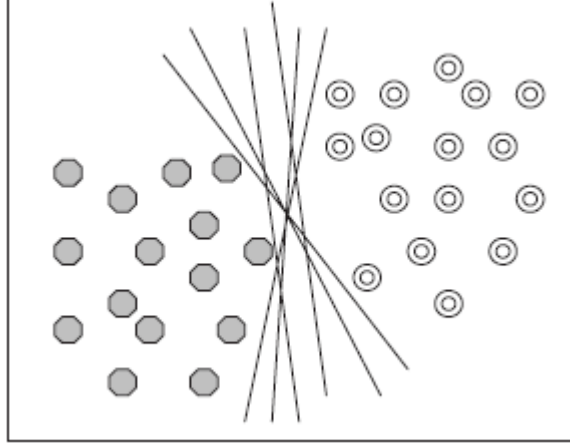
$$\text{Eksantriklik} = \frac{\sqrt{\text{major axis}^2 - \text{minor axis}^2}}{\text{major axis}} \quad (3.4)$$

$$\text{Dairesellik} = \frac{4 \times \pi \times \text{Area}}{\text{convex perimeter}^2} \quad (3.5)$$

$$\text{Uzama} = 1 - \frac{\text{minor axis}}{\text{major axis}} \quad (3.6)$$

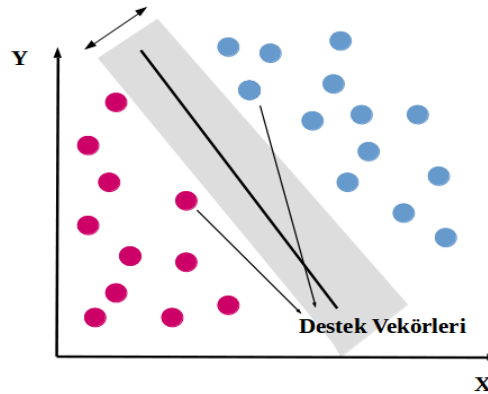
Bu çalışmada hücreleri sınıflandırma aşamasında destek vektör makineleri (DVM) kullanılmaktadır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde birçok çalışmada destek vektör makineleri kullanılmaktadır (Putzu ve ark., 2014; Patel ve Mishra, 2015; Begum ve Razak, 2017; Karthikeyan ve Poornima, 2017). Destek vektör makineleri sınıflandırma problemleri için kullanılan bir makine öğrenme algoritmasıdır. Destek

vektör makinesinin amacı, farklı sınıfları birbirinden en iyi şekilde ayıran sınırı bulmaktır. Şekil 3.18’de görüldüğü gibi iki sınıflı verileri birbirinden ayırabilen birçok hiper-düzlem çizilebilir (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010).



Şekil 3.18 İki sınıflı bir problem için hiper-düzlemler (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010)

Ancak DVM’nin amacı Şekil 3.19’da görüldüğü gibi kendisine en yakın noktalar arasındaki uzaklığı maksimuma çıkaran hiper-düzlemi bulabilmektir. Bu sınırı (hiper düzlem) kullanarak verilerin hangi sınıfa ait olduğunu bulup sınıflandırma işlemini gerçekleştirir.



Şekil 3.19 Destek vektörleri ve sınıfları birbirinden ayıran hiper düzlem

Doğrusal olarak ayrılabilen iki sınıflı bir sınıflandırma probleminde DVM’nin eğitimi için k sayıda örnekten oluşan eğitim verisinin (x_i, y_i) , $i = 1, \dots, k$ olduğu kabul edilirse, optimum hiper düzleme ait eşitsizlikler (3.7) ve (3.8) deki gibi olur (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010):

$$w \cdot x_i + b \geq +1 \text{ her } y = +1 \text{ için} \quad (3.7)$$

$$w \cdot x_i + b \leq -1 \text{ her } y = -1 \text{ için} \quad (3.8)$$

$x \in R^N$ olup N boyutlu bir uzayı,
 $y \in \{-1, +1\}$ sınıf etiketlerini,
 w ağırlık vektörünü, b eğilim değerini göstermektedir.

Sınıfları birbirinden ayıran en iyi sınır düzlemi bulmak için Şekil 3.19'da görüldüğü gibi destek vektörlerinden faydalanılır. Destek vektörleri ;

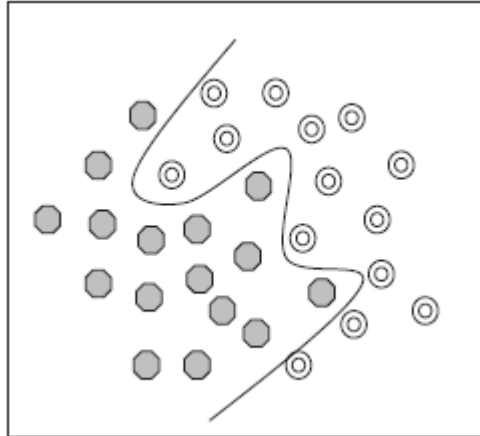
$$w \cdot x_i + b = \pm 1 \quad (3.9)$$

şeklinde ifade edilir.

Doğrusal olarak ayrılabilen iki sınıflı bir problem için karar fonksiyonu eşitlik (3.10)'daki gibi yazılır (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010).

$$f(x) = \text{sign}\left(\sum_{i=1}^k \lambda_i y_i(x \cdot x_i) + b\right) \quad (3.10)$$

Görüntülerin sınıflandırılmasında olduğu gibi gerçek hayatta birçok problemde verilerin doğrusal olarak ayrılması mümkün değildir. Şekil 3.20'de görüldüğü gibi.

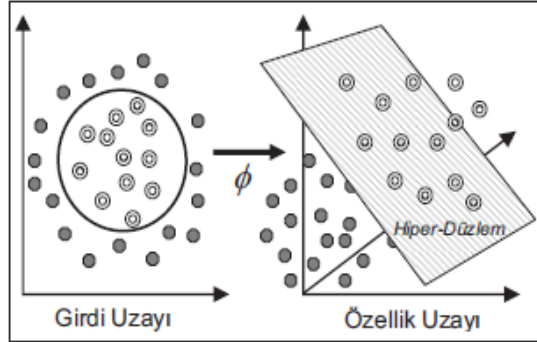


Şekil 3.20 Doğrusal olarak ayrılmayan veri seti (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010)

Destek vektör makineleri doğrusal olarak ayrılmayan verileri sınıflandırmak için matematiksel olarak $K(x_i, x_j) = \varphi(x) \cdot \varphi(x_j)$ şeklinde ifade edilen çekirdek fonksiyonunu kullanarak doğrusal olmayan dönüşümler yapabilmekte ve bu şekilde verilerin yüksek boyutta doğrusal olarak ayrımına imkân sağlamaktadır (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010). Doğrusal olarak ayrılmayan iki sınıflı bir veri kümesi problemini çekirdek fonksiyonu kullanarak çözen karar fonksiyonu aşağıdaki gibidir.

$$f(x) = \text{sign}(\sum_i \alpha_i y_i \varphi(x) \cdot \varphi(x_i) + b) \quad (3.11)$$

Şekil 3.21’de görüldüğü gibi girdi uzayında doğrusal olarak ayrılamayan veri, özellik uzayı olarak tanımlanan yüksek boyutlu bir uzayda görüntülenmektedir.



Şekil 3.21 Çekirdek fonksiyonu ile verinin daha yüksek bir boyuta dönüştürülmesi (Kavzoğlu ve Çölkesen, 2010)

Destek vektör makinelerinin başarısında çekirdek fonksiyonu ve parametre optimizasyonu önemlidir (Ayhan ve Erdoğan, 2014). Destek vektör makinelerinde Lineer, Polinomial, Radyal Tabanlı çekirdek fonksiyonları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çekirdek fonksiyonlarının matematiksel ifadeleri eşitlik (3.12), (3.13), (3.14) deki gibidir.

Liner çekirdek fonksiyonu :

$$K(x, y) = x + y \quad (3.12)$$

Polinomial çekirdek fonksiyonu:

$$K(x, y) = (x + y + 1)^d \quad (3.13)$$

Radyal tabanlı çekirdek fonksiyonu:

$$K(x, y) = \exp(-\|x - y\|^2 / 2\sigma^2) \quad (3.14)$$

4. MİKROSKOP GÖRÜNTÜLEME SİSTEMİNİN TEST EDİLMESİ

Mikroskop görüntüleme sistemini test etmek amacıyla preparat örnekleri 100X objektif ile taranmıştır. Tarama alanı olarak 10x10 görüntülük bir alan seçilmektedir. İsteğe bağlı olarak bu tarama alanı artırılabilir. 50X50 görüntülük alana kadar tarama yapılabilir. Tarama sistemiyle her bir alt görüntü ve alt görüntüler kullanılarak birleştirilmiş bütün görüntü kaydedilmektedir. Her bir alt görüntü 650x630 piksel boyutundadır. Birleştirilmiş görüntü 65000x63000 piksel boyutundadır. Görüntüleri yakalama frekansı 3 saniyedir. 100X objektif ile mikroskop altında herhangi bir inceleme yaparken immersion yağı kullanılmadan kaliteli bir görüntü elde edilememektedir. İmmersion yağı lam ile objektif arasında damlatılmaktadır. Motorlar hareket ettikten sonra objektif ile lam arasındaki immersion yağında hareket etmektedir. Bu yağın hareketsiz hale gelmesi, motorların adımını tamamlaması gibi etkenler göz önünde bulundurulduğunda her bir görüntü için 3 saniye yakalama süresi belirlenmiştir.

Özellikle kan sayımlarında belli bir alandaki hücre sayısına bakılır. Örneğin 2 mm² alandaki beyaz kan hücresinin sayısına bakılır. Bizde PTP ile yaklaşık 1.1 cm² 'lik alandaki beyaz kan hücrelerini görüntü işleme yöntemiyle saydırma işlemini gerçekleştirdik.

Taranan alanı hesaplırsak;

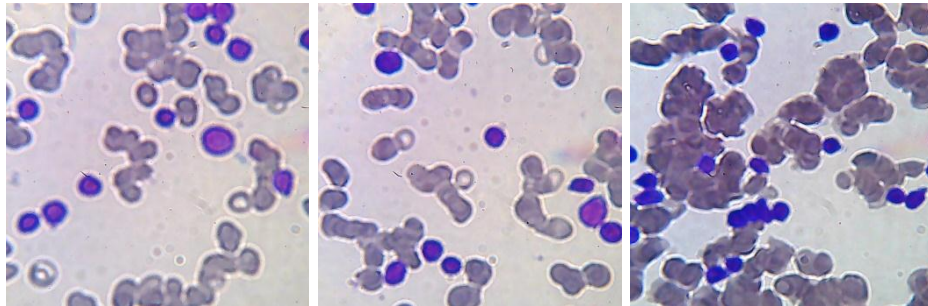
$$650 \text{ piksel} * 0.166 \mu\text{m} = 107,9 \mu\text{m}$$

$$630 \text{ piksel} * 0.172 \mu\text{m} = 108,36 \mu\text{m}$$

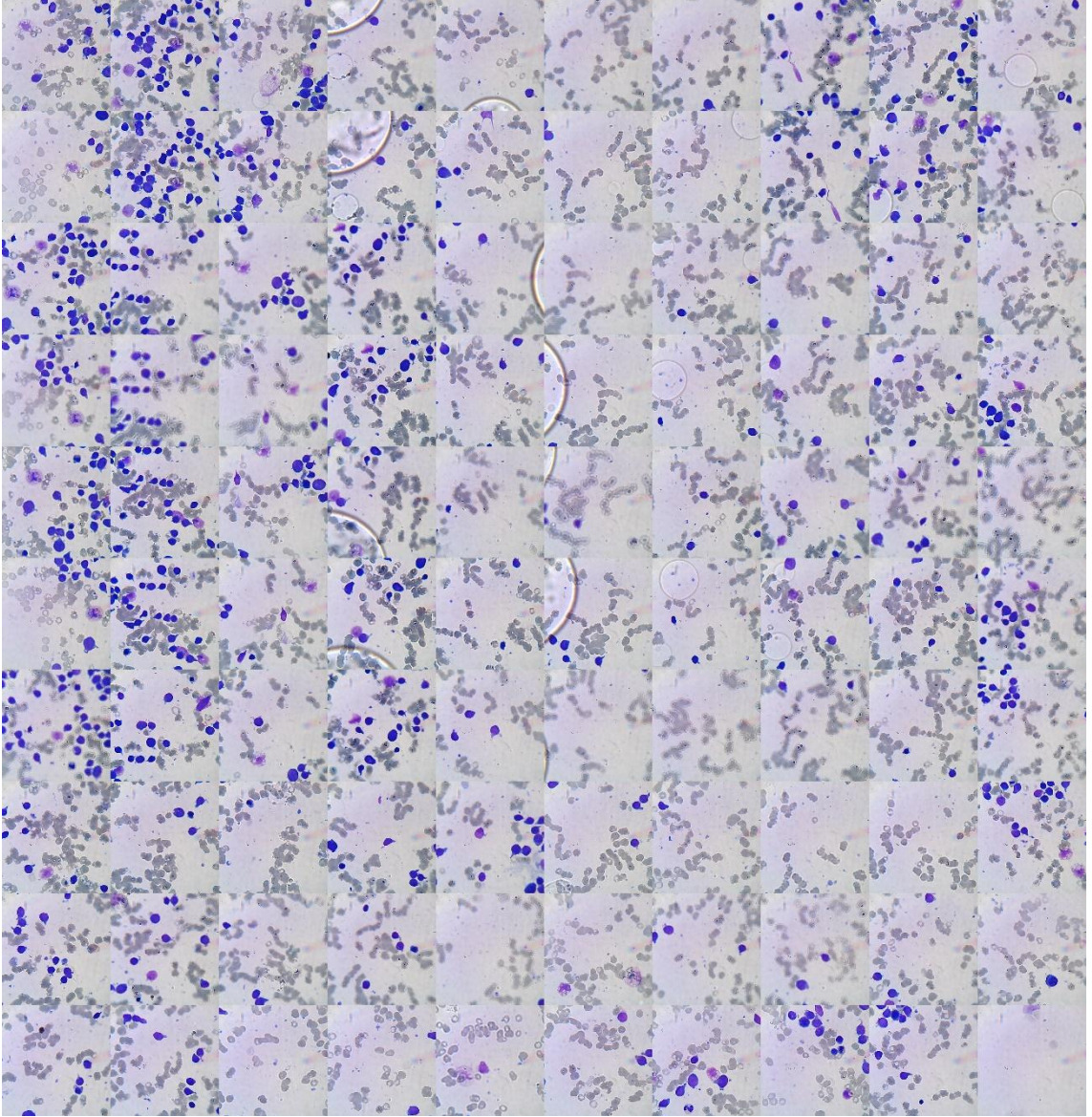
$$107,9 \mu\text{m} * 108,36 \mu\text{m} = 11 \text{ mm}^2$$

Buradan her bir görüntünün alanı 11 mm² olduğuna göre 100 görüntülük bir alan taratıldığında 1.1 cm² alandaki hücre sayısı elde edilmektedir.

Elde edilen bütün haldeki görüntü Şekil 4.2'de, alt görüntüler Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

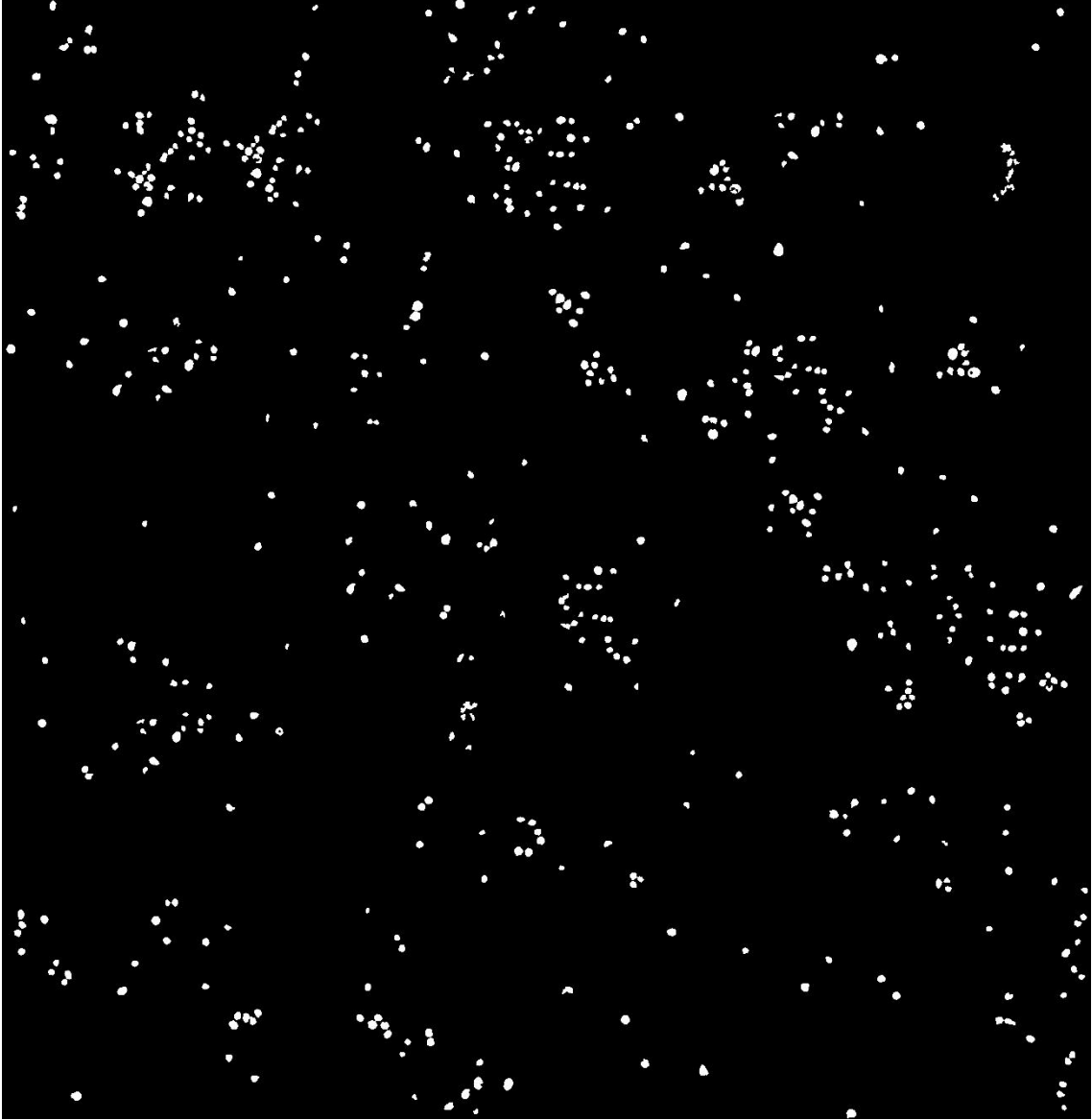


Şekil 4.1 Preparat taramasından elde edilen örnek alt görüntüler



Şekil 4.2 Preparat taramasında 10x10 görüntülük birleştirilmiş bütün görüntü

Elde edilen alt görüntüler sırasıyla tek tek işlenerek her bir görüntüdeki beyaz kan hücresi saydırılmaktadır ve daha sonra her bir görüntüye ait ikili görüntüler birleştirilerek tek bir görüntü haline getirilmektedir. Şekil 4.2'deki preparatın ikili görüntüsü Şekil 4.3'de verilmektedir.



Şekil 4.3 Preparat taramasından sonra elde edilen ikili görüntü.

Tarama sonucunda 1.1 cm^2 alandaki beyaz kan hücresi 543 adet olarak tespit edilmiştir. İntel Core İ5-2410M 2.30 Ghz işlemci, 4GB RAM özelliklerine sahip bilgisayar ile 100 görüntülük bir alandaki beyaz kan hücrelerini saymak için geçen süre 25 dakikadır.

Hastanelerde özellikle enfeksiyondan şüphelenilen hastalar için Hemogram (Tam Kan sayımı) sonucundan beyaz kan hücrelerinin sayısına bakılmaktadır. Bu işlem için geçen süre yaklaşık 45 dakikadır. Her bir kan sayımı için kullanılan araçların maliyeti ve zaman gibi faktörler göz önünde bulundurulduğunda sadece beyaz kan hücrelerinin sayısına bakılmak istendiğinde daha ekonomik ve daha hızlı sonuç almak için görüntü işleme yöntemiyle kan sayımı yapılabilir.

Preparat görüntülerinin dijital ortama aktarılması ile herhangi bir hastanın farklı zamanlardaki periferik yayma sonuçları kıyaslanması gerektiğinde büyük kolaylık

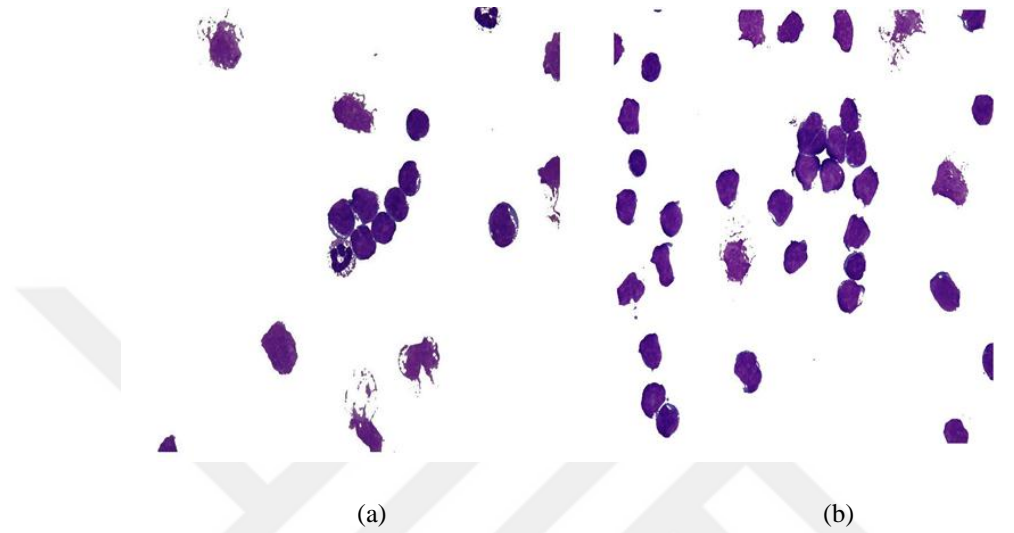
sağlayacaktır. Yasal olarak periferik yayması yapılan her bir Lam'ın belli bir süre muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte periferik yayma yapılarak tanı konulan hastalıklarda görüntüler üzerinde hücreler işaretlenerek hangi hücrelere bağlı olarak tanı konulduğu dijital ortamda kaydedilecektir. Bu veriler daha sonra eğitim amaçlıda kullanılabilir.

Hareketli mikroskop tablasından görüntü yakalanırken bölgesel olarak görüntülerde bozulmalar yaşanmaktadır. Bunun sebebi araştırıldığında preparatın her noktasındaki yüksekliğin aynı olmaması, 100X objektif kullanıldığı için lam ile objektif arasında kullanılan immersion yağının her yerde aynı yükseklikte olmamasından kaynaklandığı tespit edilmiştir.



5. BEYAZ KAN HÜCRELERİNİN BÜTÜN OLARAK İŞLENMESİ VE SINIFLANDIRILMASI

Test aşamasında beyaz kan hücrelerinin alt görüntülere ayrılarak işlenmesi ve bütün olarak işlenmesi karşılaştırılmaktadır. Test edilen örnek görüntüler aşağıdaki gibidir.



Şekil 5.1 Test edilen örnek hücre görüntüleri (a) Test edilen örnek 1.görüntü (b) Test edilen örnek 2.görüntü

Beyaz kan hücrelerinin alt görüntülere ayrılarak işlenmesi sırasıyla şu aşamalardan oluşmaktadır.

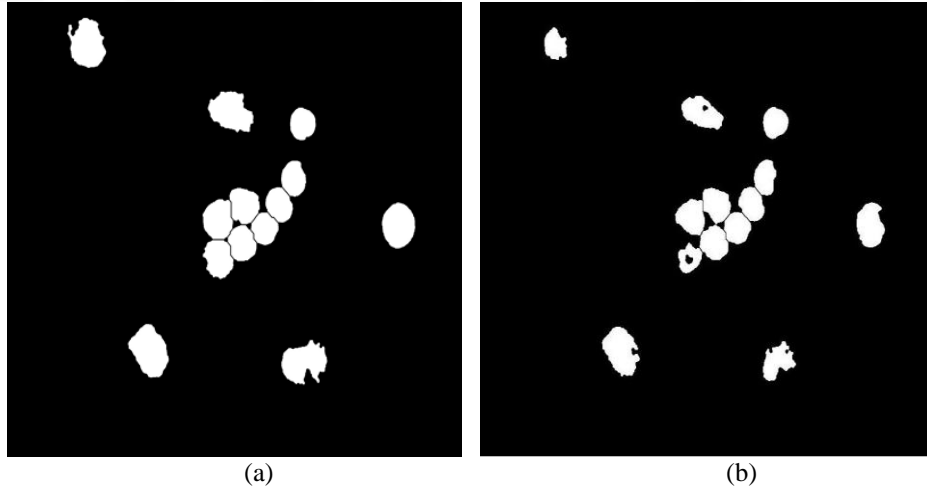
- Hücrelerin ikili görüntüye dönüştürülmesi
- Elde edilen ikili görüntüye işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasının uygulanması
- Hücrelerin etiketlenmesi ve sınır bilgileri kullanılarak alt görüntülerin elde edilmesi
- Alt görüntülerdeki hücrelerin sitoplazma ve çekirdek olarak ayrılması
- Elde edilen çekirdek görüntülerine işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasının uygulanması
- Kenarlık temizleme fonksiyonu (imclearborder) ile çekirdek bölgesinin istenmeyen alanlardan temizlenmesi.

Beyaz kan hücrelerinin alt görüntülere ayrılmadan bir bütün olarak işlenmesi ise şu aşamalardan oluşmaktadır.

- Hücreler ikili görüntüye dönüştürülmeden önce tüm görüntüye K-ortalama algoritması uygulanarak çekirdek ve sitoplazmaların ayrıştırılması.
- Çekirdeklerin ikili görüntüye dönüştürülmesi
- Elde edilen ikili görüntüye işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasının uygulanması
- Çekirdeklerin etiketlenmesi ve sınır bilgileri kullanılarak alt görüntülerin elde edilmesi
- Elde edilen alt görüntülere işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasının uygulanması
- Kenarlık temizleme fonksiyonu (imclearborder) ile çekirdek bölgesinin istenmeyen alanlardan temizlenmesi.

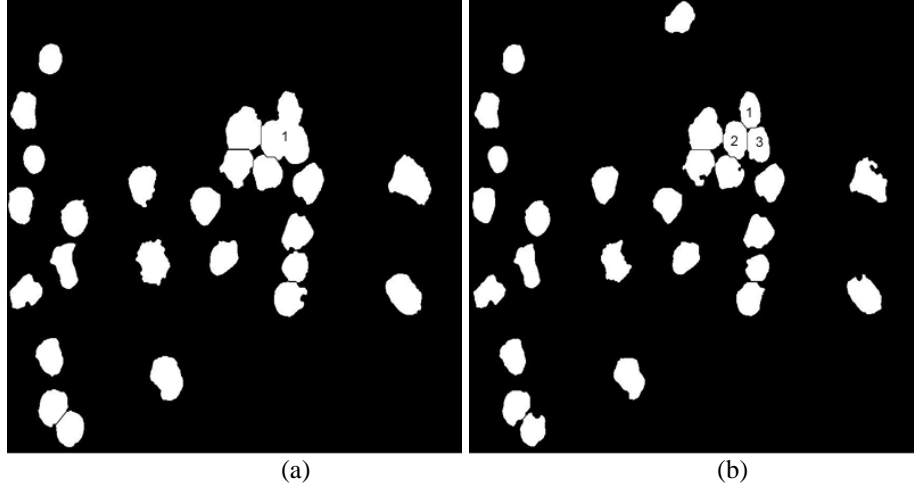
Burada her iki yöntemde de hücreler alt görüntülere ayrılmaktadır ancak dikkat edilmesini istediğimiz adım hücrelerin sitoplazma ve çekirdekleri ayrıştırılırken, birinde alt görüntüler diğerinde ise tüm görüntünün kullanılmasıdır.

Her iki yöntemde Şekil 5.1(a) ve (b) görüntülerine uygulanmaktadır ve elde edilen sonuçlar Şekil 5.2 ve 5.3’de verilmektedir.



Şekil 5.2 Şekil 5.1.(a)'daki görüntünün test edilmesi (a) Geleneksel yöntemle elde edilen sonuç (b) Bütün olarak işlenen yöntemle elde edilen sonuç

Test edilen Şekil 5.1(a)'daki görüntüde birbirine temas eden hücreler her iki yöntemde de başarılı bir şekilde birbirinden ayrılmaktadır. Her iki yöntemde de 13 adet hücre elde edilmektedir.

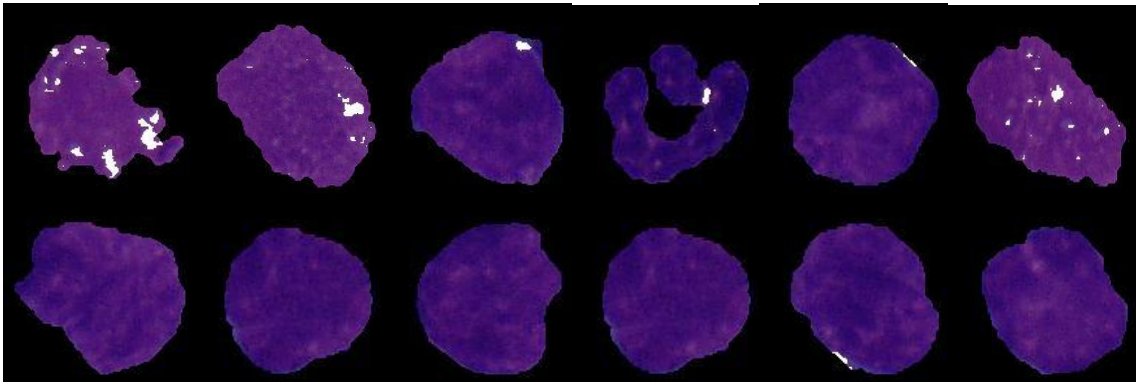


Şekil 5.3 Şekil 5.1(b)'deki görüntünün test edilmesi (a) Geleneksel yöntemle elde edilen sonuç (b) Bütün olarak işlenen yöntemle elde edilen sonuç

Test edilen Şekil 5.1(b)'deki görüntüde geleneksel yöntem yoğun bir şekilde temas eden hücreleri ayırmakta başarısız olmuştur. Geleneksel yöntemin başarısız olduğu bölge Şekil 5.3(a)'daki görüntü üzerinde '1' olarak işaretlenmektedir. Bu bölgede üç adet hücre varken geleneksel yaklaşım kullanıldığında üç adet hücre tek bir hücre olarak algılanmaktadır.

Aynı görüntü bir bütün olarak işlendiğinde yoğun bir şekilde temas eden bölgeden üç adet çekirdek başarılı bir şekilde birbirinden ayrılmaktadır (Şekil 5.3(b)).

Birbirine temas eden çekirdekler ayrıldıktan sonra bölüm 3.3'de bahsedilen yöntemle çekirdeklerin sınırlarının belirlenmesi ve bu sınırların içindeki komşu çekirdeklerin istenmeyen alanlarının temizlenmesi test edilmektedir. Elde edilen çekirdekler Şekil 5.4'deki gibidir.



Şekil 5.4 Şekil 5.1(a)'görüntüsünden elde edilen çekirdekler

Alt görüntüler elde edilirken genişletilmiş sınırların kullanılması ile ilgilenilen bölgedeki istenmeyen çekirdek alanları başarılı bir şekilde temizlenmektedir (Şekil 5.4).

Scotti tarafından hazırlanmış 108 adet mikroskop görüntüsünden bölüm 3.2 ve 3.3’de anlatılan yöntem ile 198 adet akut lenfosit lösemi ve 212 adet sağlıklı beyaz kan hücresi elde edilmektedir. Bu hücelere ait her bir çekirdek için Çizelge 3.1’deki öznelilikler hesaplanmaktadır. Bu öznelilikler kullanılarak hücreler sınıflandırılmaktadır.

108 adet mikroskop görüntüsü kullanılarak elde edilen 410 adet hücre üzerinde en iyi sınıflandırmayı yapacak çekirdek fonksiyonunu belirlemek için Linear, Radial, Polynomial çekirdek fonksiyonları kullanılarak üç adet sınıflandırma modeli üretilmektedir. Üretilen sınıflandırma modelleri, farklı sayıda ve farklı hücre kombinasyonlarında test edilmekte ve elde edilen sonuçlar aşağıdaki çizelgede verilmektedir. Eğitim ve test verileri belirlenirken “Dışarıda Tutma”(Hold-out) yöntemi kullanılmaktadır.

Çizelge 5. 1 1.Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları

Test 1	Sağlıklı hücre sayısı	Kanserli hücre sayısı	Polynomial Çekirdek Fonksiyonu	Radial (RBF) Çekirdek Fonksiyonu	Linear Çekirdek Fonksiyonunu
Eğitim veri seti	152	125			
Test veri seti	60	73	%89,5	%80,5	%91,8

Çizelge 5. 2 2.Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları

Test 2	Sağlıklı hücre sayısı	Kanserli hücre sayısı	Polynomial Çekirdek Fonksiyonu	Radial (RBF) Çekirdek Fonksiyonu	Linear Çekirdek Fonksiyonunu
Eğitim veri seti	175	148			
Test veri seti	37	50	%96,6	%87,4	%90,9

Çizelge 5. 3 3.Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları

Test 3	Sağlıklı hücre sayısı	Kanserli hücre sayısı	Polynomial Çekirdek Fonksiyonu	Radial (RBF) Çekirdek Fonksiyonu	Linear Çekirdek Fonksiyonunu
Eğitim veri seti	166	134			
Test veri seti	46	64	%95,5	%81,9	%91

Çizelge 5. 4 4.Test verileri ve sınıflandırma modellerinin başarı oranları

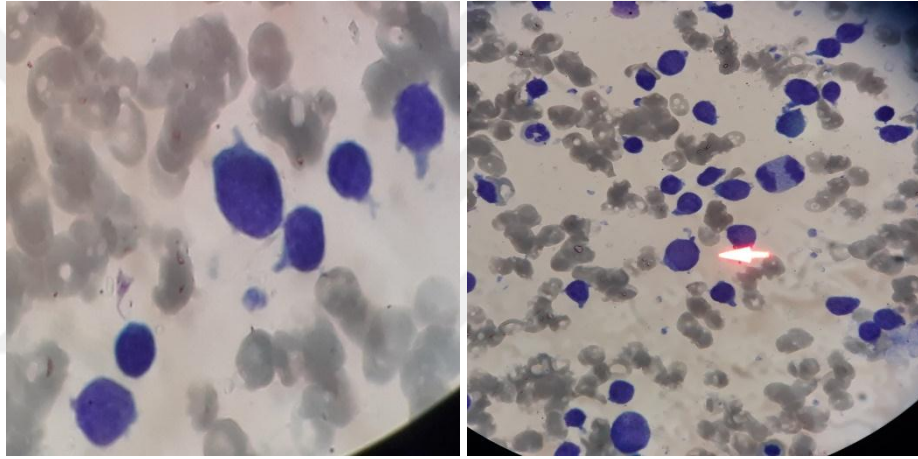
Test 4	Sağlıklı hücre sayısı	Kanserli hücre sayısı	Polynomial Çekirdek Fonksiyonu	Radial (RBF) Çekirdek Fonksiyonu	Linear Çekirdek Fonksiyonunu
Eğitim veri seti	153	127			
Test veri seti	59	71	%93,9	%80,8	%85,4

Sınıflandırma aşamasında yapılan testlerde en iyi sonucu Çizelge 5.3.’deki veriler ve Polynomial çekirdek fonksiyonu kullanılarak üretilen sınıflandırma modeli vermektedir. Üretilen sınıflandırma modeli 87 hücrenin 3 tanesini yanlış sınıflandırarak %96.6 ile en iyi sonucu vermektedir.

Yukardaki testlerin yanı sıra sınıflandırma modellerinin doğruluk oranını tespit etmek amacıyla 10 kez çapraz doğrulama yöntemi kullanılarak sınıflandırma yapılmaktadır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.5'deki gibidir.

Çizelge 5. 5 10-kez çapraz doğrulama ile modellerin başarı oranları					
Test 5	Sağlıklı hücre sayısı	Kanserli hücre sayısı	Polynomial Çekirdek Fonksiyonu	Radial (RBF) Çekirdek Fonksiyonu	Linear Çekirdek Fonksiyonunu
Veri seti	198	212	%89,3	%85,9	%87,3

Son olarak yapılan çalışmayı farklı bir veri üzerinde test etmek amacıyla, Fırat Üniversitesi Tıp fakültesinde ALL tanısı konmuş 18 yaşındaki bir erkek hastanın kemik iliği yaymasında kullanılan preparatın Şekil 5.5'deki mikroskop görüntüleri elde edilmiştir.



Şekil 5.5 ALL tanısı konmuş hastanın preparatından elde edilen mikroskop görüntüleri

Şekil 5.5'deki görüntülerden toplam 36 adet beyaz kan hücresi elde edilmektedir. Elde edilen bu hücreler test verisi, ALL-IDB1 veri tabanından elde edilen 410 adet hücre ise eğitim verisi olarak belirlenmektedir. Eğitim verileri ve Polinomial çekirdek fonksiyonu kullanılarak sınıflandırma modeli üretilmektedir. Bu model üzerinde 36 adet hücre sınıflandırılmış ve sonuçlar Fırat Üniversitesi Hematoloji bölümündeki uzman doktor tarafından kontrol edilmiştir. Sınıflandırma modeli 36 adet hücrenin 33 tanesini doğru 3 tanesini yanlış sınıflandırmaktadır. Böylece sınıflandırma başarı oranı %91.6 olarak belirlenmektedir.

Hematoloji uzmanına göre Bilgisayar Destekli Akut Lenfosit Tarama sisteminin; zaman kazandırma, tanıda destekleyici, maliyet düşürücü ve uzman yetiştirici gibi birçok avantajlı özelliği bulunmaktadır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1 Sonuçlar

Yapılan test sonuçları gösteriyor ki, beyaz kan hücrelerini bölütleme aşamasında hücreler birbirine temas etmiyorsa veya Şekil 5.1(a)'daki gibi yoğun bir temas yoksa hücrelerin alt görüntülere ayrılarak işlenmesi ile bütün olarak işlenmesi arasında herhangi bir fark görülmemektedir. Ancak hücreler Şekil 5.1(b)'deki gibi yoğun bir şekilde temas ediyorsa geleneksel yöntem yoğun temas eden bölgedeki hücreleri ayırmakta başarısız olmaktadır.

Şekil 5.1(b)'deki görüntü bütün olarak işlendiğinde yoğun bir şekilde temas eden hücreler başarılı bir şekilde birbirinden ayrılmaktadır. Bu tür çalışmalarda hücrelerin sitoplazma ve çekirdekleri ayrıştırılırken görüntü bütün olarak işlenirse işaretçi kontrollü su-seddi algoritmasından daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Beyaz kan hücrelerine ait görüntüler bir bütün olarak işlendiğinde hücreler daha başarılı bir şekilde bölütlenmektedir.

Farklı çekirdek fonksiyonları kullanılarak, veri seti üzerindeki en iyi sonucu veren çekirdek fonksiyonu tespit edilmektedir. Çalışmamızda veri seti üzerinde en iyi sonucu veren çekirdek fonksiyonu "Polynomial" olarak tespit edilmiştir.

Sınıflandırma aşamasında en iyi sonucu veren çekirdek fonksiyonu ve parametreler farklı veri setleri üzerinde test edilmektedir. Sınıflandırma modelinin ALL tanısı konmuş hastadan elde edilen hücreler üzerindeki sınıflandırma başarısı bu çalışmanın ALL tanısında kullanılabileceğini desteklemektedir.

Sınıflandırma aşamasında destek vektör makinesinin başarısı seçilen çekirdek fonksiyonuna ve eğitim aşamasında kullanılan hücre sayısına bağlıdır. Eğitim veri setindeki kanserli ve sağlıklı hücre sayısı arttıkça daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Çalışmada hücreler bölütlenirken renk özelliği kullanılmaktadır, buna bağlı olarak sitoplazma ve çekirdeklerin birbirinden başarılı bir şekilde ayrılması ve hücrelerin başarılı bir şekilde sınıflandırılması için preparatların kaliteli bir boyama işleminden geçmiş olmasına bağlıdır.

6.2 Öneriler

Hastanelerde preparat incelemelerinde MGS'lerin yaygınlaşmasıyla görüntüler çok kolay bir şekilde ve zaman kaybetmeden kaydedilebilir. Bu görüntüler üzerindeki

kanserli ve sağlıklı hücreler etiketlenerek büyük bir veri seti oluşturulabilir. Bu veri seti kullanılarak farklı hastanelerdeki lösemi veya preparat incelemesiyle teşhisi konan hastalıkların daha objektif, daha ekonomik, uzman doktorların iş yükünü azaltacak tıbbi araçlar geliştirilebilir.

Preparat tarama programının ve hareketli mikroskop tablasının fonksiyonları artırılabilir, çözünürlüğü daha yüksek adım motorlar kullanılarak daha hassas taramalar yapılabilir. Hareketli mikroskop tablasının tarama alanı genişletilerek sırasıyla arka arkaya birçok preparat taranabilir.



KAYNAKLAR

- Abdulhay, E., Mohammed, M. A., Ibrahim, D. A., Arunkumar, N. ve Venkatraman, V., 2018, Computer Aided Solution for Automatic Segmenting and Measurements of Blood Leucocytes Using Static Microscope Images, Journal of medical systems, 42 (4), 58.
- Arslan, S., 2012, Perceptual watersheds for cell segmentation in fluorescence microscopy images, bilkent university.
- Ayhan, S. ve Erdoğan, Ş., 2014, Destek vektör makineleriyle sınıflandırma problemlerinin çözümü için çekirdek fonksiyonu seçimi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi, 9 (1).
- Begum, A. J. ve Razak, T. A., 2017, A Proposed Novel Method for Detection and Classification of Leukemia using Blood Microscopic Images, International Journal of Advanced Research in Computer Science, 8 (3).
- China Valdés, L. ve Lorenzo-Ginori, J., 2011, Evaluation of Distance Transform-based alternatives for image segmentation of overlapping objects, p.
- Fındık, S. ve Oltulu, P., 2018, Kemik iliği biyopsi raporlamada zaman tasarrufu sağlayan pratik yaklaşım: şablon kullanım, Abant Tıp Dergisi, 7 (1), 15-21.
- Hakim, R. Y. S. ve Mohamed, Y. M. A., 2017, Segmentation of White Blood Cells for Detection of Leukemia, AlMughtaribeen university.
- Karthikeyan, T. ve Poornima, N., 2017, Microscopic Image Segmentation Using Fuzzy C Means for Leukemia Diagnosis, Leukemia, 4 (1).
- Kasım, Ö. ve Kuzucuoğlu, A. E., 2015, Lökosit Hücrelerinin Preparat Görüntüsünden Tespiti ve Sınıflandırılması, Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, 30 (1).
- Kaur, A., 2014, Aayushi, "Image Segmentation Using Watershed Transform", International Journal of Soft Computing and Engineering (IJDCE), 4, 5-8.
- Kavzoğlu, T. ve Çölkesen, İ., 2010, Destek vektör makineleri ile uydu görüntülerinin sınıflandırılmasında kernel fonksiyonlarının etkilerinin incelenmesi, Harita Dergisi, 144 (7), 73-82.
- Khashman, A. ve Al-Zgoul, E., 2010, Image segmentation of blood cells in leukemia patients, Recent Advances in Computer Engineering and Applications, 104-109.
- Madhloom, H. T., Kareem, S. A. ve Ariffin, H., 2012, An image processing application for the localization and segmentation of lymphoblast cell using peripheral blood images, Journal of medical systems, 36 (4), 2149-2158.

- Mohapatra, S., Patra, D. ve Satpathy, S., 2014, An ensemble classifier system for early diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in blood microscopic images, *Neural Computing and Applications*, 24 (7), 1887-1904.
- Negm, A. S., Hassan, O. A. ve Kandil, A. H., 2017, A decision support system for Acute Leukaemia classification based on digital microscopic images, *Alexandria Engineering Journal*.
- Oowski, S., Siroic, R., Markiewicz, T. ve Siwek, K., 2009, Application of support vector machine and genetic algorithm for improved blood cell recognition, *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 58 (7), 2159-2168.
- Özcan, A. ve Selek, M., 2019, Görüntü İşleme Yöntemiyle Akut Lenfosit Lösemi Taraması, *International Science and Academic Congress(INSAC 2019)*, KONYA, 71-82.
- Özen, F. ve Parmaksız, E., 2011, Akut Lenfosit Lösemi Teşhisinde Yeni Bir Yöntem: Destek Vektör Makineleri Tabanlı Sınıflandırma (in Turkish), p.
- Patel, K. ve Prajapati, R. B., 2018, Segmentation and Classification Techniques of Acute Myeloid Leukemia using Image Processing: A Survey.
- Patel, N. ve Mishra, A., 2015, Automated leukaemia detection using microscopic images, *Procedia Computer Science*, 58, 635-642.
- Putzu, L., Caocci, G. ve Di Ruberto, C., 2014, Leucocyte classification for leukaemia detection using image processing techniques, *Artificial intelligence in medicine*, 62 (3), 179-191.
- Reta, C., Robles, L. A., Gonzalez, J. A., Diaz, R. ve Guichard, J. S., 2010, Segmentation of Bone Marrow Cell Images for Morphological Classification of Acute Leukemia, *FLAIRS Conference*, 142-147.
- Scotti, F., 2005, Automatic morphological analysis for acute leukemia identification in peripheral blood microscope images, *Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications, 2005. CIMSA. 2005 IEEE International Conference on*, 96-101.
- Shahin, A., Guo, Y., Amin, K. ve Sharawi, A. A., 2017, White blood cells identification system based on convolutional deep neural learning networks, *Computer methods and programs in biomedicine*.
- Soille, P. ve Vincent, L. M., 1990, Determining watersheds in digital pictures via flooding simulations, *SPIE*, p. VC.
- Solak, S. ve Altınışık, U., 2018, Görüntü işleme teknikleri ve kümeleme yöntemleri kullanılarak fındık meyvesinin tespit ve sınıflandırılması, *Sakarya University Journal of Science*, 22 (1), 56-65.

- Theera-Umpon, N. ve Dhompongsa, S., 2007, Morphological granulometric features of nucleus in automatic bone marrow white blood cell classification, *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*, 11 (3), 353-359.
- Uzunhan, T. A. ve Karakaş, Z., 2012, Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi, *Çocuk Dergisi*, 12 (1), 6-15.
- Vaghela, H. P., Modi, H., Pandya, M. ve Potdar, M., 2015, Leukemia detection using digital image processing techniques, *Leukemia*, 10 (1), 43-51.
- Yang, X., Li, H. ve Zhou, X., 2006, Nuclei Segmentation Using Marker-Controlled Watershed, Tracking Using Mean-Shift, and Kalman Filter in Time-Lapse Microscopy, p.
- Yıldız, K., Çamurcu, Y. ve Doğan, B., 2010, Veri Madenciliğinde Temel Bileşenler Analizi ve Negatifsiz Matris Çarpanlarına Ayırma Tekniklerinin Karşılaştırmalı Analizi, *Akademik Bilişim*.
- Yöntem, A. ve Bayram, İ., 2018, Çocukluk Çağında Akut Lenfoblastik Lösemi, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 27 (4), 483-499.
- Zhao, L. ve Yue, P., 2016, Study on Chaotic Neural Network and its Application in Blood Cell Classification of Medical Image, *CHEMICAL ENGINEERING*, 51.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ahmet Özcan
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Ekinözü 24.11.1990
Telefon : 05446026346
Faks :
e-mail : ahmetoz_can@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Şehit İdari Ateşe Galip Özmen Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Kahramanmaraş	2009
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Bilgisayar Sistemleri Öğretmenliği, Konya	2014
Yüksek Lisans	:	
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014-2018	Milli Eğitim Bakanlığı Sarıkamış Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi	Öğretmen
2018-2019	Milli Eğitim Bakanlığı Palu Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi	Öğretmen

YAYINLAR

Görüntü İşleme Yöntemiyle Akut Lenfosit Lösemi Taraması