

## طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن به روش نیمه خودکار پردازش

## تصاویر میکروسکوپی

نرجس قانع<sup>۱</sup>، علیرضا ورد<sup>۲</sup>، اردشیر طالبی<sup>۳</sup>، پردیس نعمت‌الهی<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** لوسمی میلوئیدی مزمن (Chronic myeloid leukemia یا CML)، نوعی بیماری سرطان خون است که اغلب، بزرگسالان را درگیر می‌کند. آزمایش خون، شمارش و بررسی سلول‌های شناور خون، اولین گام جهت تشخیص لوسمی است. تشخیص و شمارش سلول‌ها از روی لام خون محیطی، توسط پاتولوژیست با استفاده از میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد. این امر، فرایندی زمان‌بر و پرهزینه است و نیاز به تجربه و فرد خبره در این زمینه دارد. همچنین، عوامل دیگری از قبیل خستگی و شرایط کاری، می‌تواند در این ارزیابی تأثیر منفی داشته باشد. بنابراین، وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور کمک در روند تشخیص، می‌تواند بسیار سودمند باشد. در این راستا، این پژوهش یک ابزار نرم‌افزاری جدید را برای تشخیص و طبقه‌بندی سلول‌های CML ارائه می‌کند.

**روش‌ها:** در روش پیشنهادی، پس از بخش‌بندی دستی دقیق سلول‌ها، با استفاده از تکنیک‌های پردازش تصویر، ویژگی‌های مختلف هندسی از سلول و هسته‌ی سلول‌های سفید رده‌ی نوتروفیل استخراج شدند. سپس، با به کارگیری این ویژگی‌های به دست آمده، سلول‌ها با استفاده از یک طبقه‌بندی کننده‌ی درختی طراحی شده‌ی جدید، به شش گروه دسته‌بندی شدند.

**یافته‌ها:** روش پیشنهادی بر روی ۱۲۰ تصویر میکروسکوپی شامل ۷۱۴ سلول سفید مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، برای هر شش گروه صحت بالاتر از ۹۷ درصد، ویژگی بالاتر از ۹۸ درصد و حساسیت بالاتر از ۹۱ درصد را نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** در این پژوهش، روشی نیمه اتوماتیک جهت طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن از تصاویر میکروسکوپی با به کارگیری روش‌های پردازش تصویر ارائه گردید.

**واژگان کلیدی:** لوسمی میلوئیدی مزمن، طبقه‌بندی، رده‌ی نوتروفیل، پردازش تصاویر میکروسکوپی

**ارجاع:** قانع نرجس، ورد علیرضا، طالبی اردشیر، نعمت‌الهی پردیس. طبقه‌بندی سلول‌های مؤثر در تشخیص سرطان میلوئیدی مزمن به روش نیمه

خودکار پردازش تصاویر میکروسکوپی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۵): ۱۳۱۰-۱۳۰۴

است. این سلول‌ها، سلول‌های قرمز خون، سلول‌های سفید خون و پلاکت‌ها هستند. سلول‌های سفید خون، بخش مهمی از سیستم ایمنی بدن می‌باشد (۱).

شمارش سلول‌های سفید، یک موضوع مهم در حوزه‌ی تشخیص بیماری‌های مختلف از جمله لوسمی است. بنابراین، استخراج اطلاعات از آن‌ها برای پاتولوژیست‌ها با ارزش است. آزمایش خون و شمارش و بررسی سلول‌های شناور خون، اولین گام جهت تشخیص لوسمی است. تشخیص و شمارش سلول‌ها در مسیر تکاملی

## مقدمه

لوسمی، عنوان گروهی از انواع سرطان است که به لوسمی لنفوئیدی مزمن (Chronic lymphocytic leukemia یا CLL)، لوسمی میلوئیدی مزمن (Chronic myeloid leukemia یا CML)، لوسمی لنفوئیدی حاد (Acute lymphocytic leukemia یا ALL) و لوسمی میلوئیدی حاد (Acute myeloid leukemia یا AML) تقسیم‌بندی می‌گردد و به طور معمول، از مغز استخوان شروع می‌شود. مغز استخوان، بافت انعطاف‌پذیری متشکل از سه نوع سلول خونی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوالکتریک و مهندسی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوالکتریک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

بدون گرانول (دانه‌های ظریف) است. گاهی در این سلول، تجمع گرانول‌های اولیه دیده می‌شود. پرومیلویت، به طور معمول بزرگ است و قطری حدود ۲۱-۱۵ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول، همچنان بزرگ، گرد یا بیضی‌شکل با کروماتین ظریف و یکنواخت است. ممکن است در داخل هسته‌ی آن، ۳-۱ هستک دیده شود. رنگ سیتوپلاسم سلول، آبی روشن است. وسعت سیتوپلاسم سلول، کمی بیشتر و همراه با گرانول می‌باشد. میلویت، قطری حدود ۱۸-۱۲ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول گرد یا بیضی‌شکل همراه با افزایش تراکم کروماتین و بدون هستک است. سیتوپلاسم سلول، نسبت به مرحله‌ی قبل وسیع‌تر شده است و گرانول‌های ثانویه در درون سیتوپلاسم سلول مشاهده می‌گردد. متامیلوسیت، قطری حدود ۱۸-۱۰ میکرون دارد. کروماتین هسته متراکم شده و همراه با فرورفتگی هلالی شکل است. رنگ سیتوپلاسم صورتی و دارای گرانول‌های ثانویه است. سلول باند، با قطری حدود ۱۶-۱۰ میکرون، دارای هسته‌ی نعلی شکل می‌باشد. سیتوپلاسم سلول، دارای گرانول‌های صورتی رنگ است. سلول نوتروفیل، دارای قطری حدود ۱۶-۱۰ میکرون و هسته‌ی چند لوبه است. کروماتین هسته، متراکم شده است. تعداد لوب‌های هسته ۵-۲ عدد می‌باشد. لوب‌ها، توسط رشته‌های نازک کروماتین به هم متصل می‌شوند. سیتوپلاسم نوتروفیل، صورتی رنگ و دارای گرانول‌های ثانویه می‌باشد (۳).

در چند سال اخیر، مقالاتی در زمینه‌ی جداسازی و طبقه‌بندی سلول‌های سفید مغز استخوان به روش‌های مختلف (۱۱-۴) مبتنی بر ویژگی‌های هندسی، ویژگی‌های بافت، ویژگی‌های آماری و ویژگی‌های رنگ با طبقه‌بندی کننده‌های مختلف انجام شده است، اما به طور خاص، در زمینه‌ی تشخیص و شمارش نمونه‌های CML مقاله‌ای گزارش نشده است. در روش پیشنهادی پس از برچسب‌گذاری، ۷۱۴ سلول توسط پاتولوژیست، بخش‌بندی سلول‌ها به صورت دستی انجام گردید. در ادامه، با به کارگیری روش‌های پردازش تصویر، ویژگی‌های مختلف هندسی، از هسته و سلول نمونه‌های CML استخراج شد.

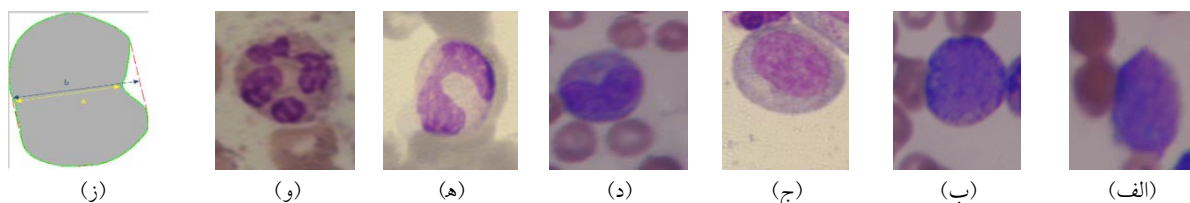
گرانولوسیت‌ها از روی لام خون محیطی، توسط فرد خبره (پاتولوژیست) با میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد.

این امر، با وجود نیاز داشتن به تجربه و فرد خبره در این زمینه، برای انجام آزمایش‌های تکمیلی با فلوسیتومتری نیاز به صرف زمان و هزینه دارد. به علاوه، این روش مبتنی بر ادراکات ذهنی است و پاتولوژیست‌های مختلف، ممکن است تفسیرهای مختلفی داشته باشند. عوامل دیگر نظیر خستگی، شرایط کاری و غیره در این ارزیابی تأثیرگذار هستند. به همین دلیل، وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور بالا بردن صحت و سرعت در تشخیص تأثیرگذار است.

به طور کلی، سلول‌های سفید خون حاوی هسته و سیتوپلاسم هستند که می‌توان آن‌ها را به دو گروه اصلی، گرانولوسیت‌ها و آگرانولوسیت‌ها تقسیم نمود. گرانولوسیت‌ها شامل سه نوع نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل هستند و آگرانولوسیت‌ها شامل لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها می‌باشند. مراحل بلوغ نوتروفیل سلول‌های گرانولوسیت، به صورت میلو بلاست (MB یا Myeloblast)، پرومیلویت (PM یا Promyelocyte)، میلویت (M یا Myelocyte)، متامیلوسیت (MM یا Meta myelocyte)، باند (B یا Band) و نوتروفیل (N یا Neutrophil) مطابق شکل ۱ (الف-و) می‌باشند.

لوسمی میلوئیدی مزمن، بر اثر افزایش تعداد سلول‌های سفید که به طور عمده از رده‌ی بعد از میلو بلاست‌ها هستند، به وجود می‌آید (۲). پژوهش حاضر، برای شناسایی دقیق سلول‌های گرانولوسیت به منظور وجود ابزاری در کنار پاتولوژیست به منظور بالا بردن صحت و سرعت در تشخیص با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام گردید.

برای شناسایی ویژگی‌های سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی، ویژگی‌های این سلول‌ها در جدول ۱ آمده است. میلو بلاست، اولین و نابالغ‌ترین سلول از رده‌ی نوتروفیلی است که به طور معمول بزرگ است و قطری حدود ۲۰-۱۵ میکرون دارد. هسته‌ی این سلول بزرگ، گرد یا بیضی‌شکل با کروماتین ظریف و بنفش روشن و تعداد ۵-۲ هستک واضح می‌باشد. مقدار سیتوپلاسم آن کم و آبی نیلگون



شکل ۱. از راست به چپ: (الف) میلو بلاست، (ب) پرومیلویت، (ج) میلویت، (د) متامیلوسیت، (ه) باند، (و) نوتروفیل، (ز) نسبت کمینه‌ی پهنای هسته (a) به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته (b)

جدول ۱. ویژگی‌های سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی

سلول	اندازه ( $\mu\text{m}$ )	شکل هسته	کروماتین هسته	رنگ سیتوپلاسم	هستک	نسبت هسته به سیتوپلاسم	گرانول
MB	۱۵-۲۰	دایره یا بیضی	ظریف	آبی	۱ یا بیشتر	۶ به ۱	ندارد- گاهی گرانول‌های اولیه
PM	۱۵-۲۱	دایره یا بیضی	متراکم‌تر از MB	آبی روشن	۱ یا بیشتر	۴ به ۱	گرانول‌های اولیه
M	۱۲-۱۸	دایره یا بیضی	متراکم‌تر از PM	صورتی	ندارد	۳ به ۱	گرانول‌های ثانویه ظاهر شده است
MM	۱۰-۱۸	کلیه ای شکل	متراکم	صورتی	ندارد	۳ به ۲	گرانول‌های ثانویه
B	۱۰-۱۶	نعلی شکل	متراکم	صورتی	ندارد	۱ به ۲	گرانول‌های ثانویه
N	۱۰-۱۶	چند لوبه	خشن و توده توده	صورتی	ندارد	۱ به ۳	گرانول‌های ثانویه

MB: میلوبلاست (Myeloblast); PM: پرومیلو سیت (Promyelocyte); M: میلو سیت (Myelocyte); MM: متامیلوسیت (Meta myelocyte); B: بانند (Band); N: نوتروفیل (Neutrophil)

ویژگی‌ها (یا بردار ویژگی) است که به طور اساسی حاوی اطلاعات مفیدی از آن تصویر است (۱۲). در این مطالعه، هدف به دست آوردن ویژگی‌هایی بود که بتوان از آن‌ها برای طبقه‌بندی انواع سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی استفاده کرد. در این راستا و پس از بررسی ویژگی‌های مختلف، در این مطالعه بهترین ویژگی‌های استخراج شده‌ی هندسی تعیین شدند.

مطابق با تغییرات زیاد شکل هسته در این رده و ویژگی‌هایی که پزشک به صورت چشمی برای شناسایی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی استفاده می‌کند، ویژگی‌های هندسی شامل تعداد لوب‌های هسته، محیط هسته، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff (۱۳) بین هسته و سلول و نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته تعیین شدند که هر کدام در ادامه توضیح داده می‌شود:

تعداد هسته: پس از جداسازی هسته از سلول، شمارش تعداد اجزای جدا از هم در تصویر باینری هسته، تعداد لوب‌های هسته می‌باشد. ردیف آخر از شکل ۱ (و) نشان دهنده‌ی یک سلول با هسته‌ی چند لوبه است.

محیط: محیط هر شیء با شمارش پیکسل‌های روی مرز آن به دست می‌آید.

نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته: برای محاسبه‌ی این ویژگی از الگوریتم تنگنا (۱۴) بر روی هسته و Convexity هسته، به منظور محاسبه‌ی میزان فرورفتگی هسته مطابق شکل ۱ (ز) استفاده می‌گردد.

نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول: از ویژگی نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول (دورترین فاصله بین مرز هسته و مرز سلول) برای جداسازی دو گروه بلاست و پرومیلو سیت از میلو سیت استفاده می‌گردد.

پس از بررسی ویژگی‌های به دست آمده از سلول‌ها، بهترین ویژگی‌ها انتخاب شدند. در نهایت، با به کارگیری یک طبقه‌بندی کننده‌ی درختی جدید، دسته‌بندی سلول‌ها انجام گردید.

## روش‌ها

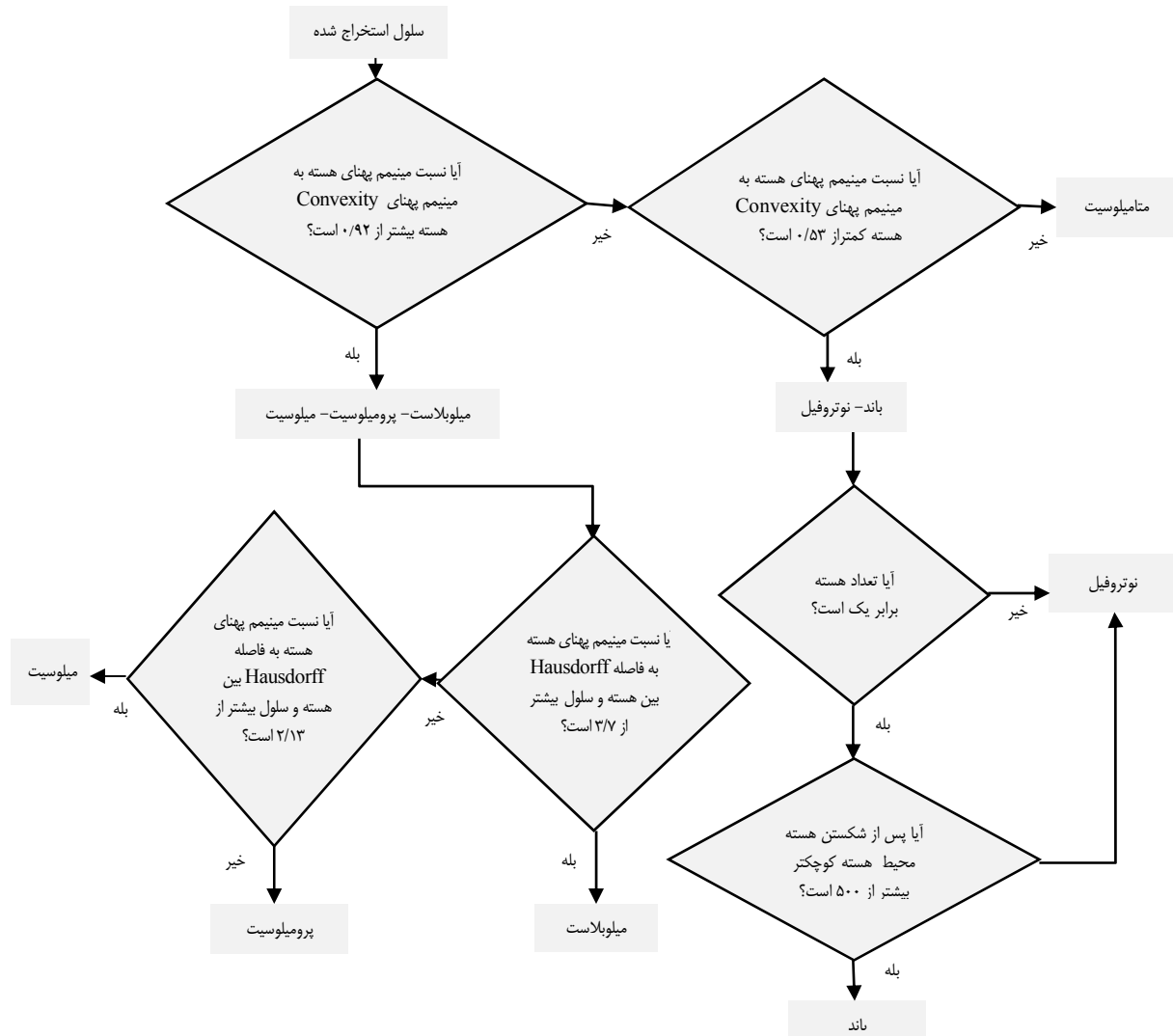
برای میزان خطای مجاز ۰/۰۹، مقدار حجم نمونه برابر با ۱۲۰ تصویر تعیین گردید. در این مطالعه که با همکاری بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء (س) اصفهان انجام شد، ۶ اسمیر اسپیراسیون مغز استخوان طبیعی تهیه گردید. جهت انتخاب نمونه‌های مورد، تشخیص طبیعی یا مبتلا به سرطان بودن اسمیرها، علاوه بر پزشک متخصص با استفاده از روش فلوسایتومتری (Flow cytometry) نیز تأیید شد. سپس، با کمک پزشک متخصص گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، از نواحی مختلف لام‌ها پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا، تصویربرداری شد.

تصویربرداری از لام‌های آزمایشگاهی، با میکروسکوپ نوری مدل Nikon Eclipse 50i با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ و دوربین عکس‌برداری Nikon ۱ V1 که بر روی آن نصب شد، انجام گردید. تمامی تصاویر، رنگی در حوزه‌ی RGB و با اندازه‌ی ۴۰۳۲ × ۳۰۲۴ پیکسل بودند. پس از انتقال این تصاویر به رایانه، مراحل نرم‌افزاری به این صورت انجام شد که در ابتدا، مرز سلول‌های مد نظر به همراه هسته‌ی آن‌ها به منظور کاهش خطا به صورت دستی تعیین شد.

در ادامه و پس از انجام عملیات پیش پردازش، سلول و هسته‌ی استخراج شده، وارد مرحله‌ی استخراج ویژگی به منظور طبقه‌بندی سلول‌ها شدند. پس از انتخاب ویژگی‌های مناسب، با به کارگیری یک نمودار درختی طراحی شده (شکل ۲)، دسته‌بندی سلول‌ها انجام گردید.

## پیش پردازش و استخراج ویژگی

بعد از استخراج سلول و جداسازی کامل هسته، گام بعدی مرحله‌ی استخراج ویژگی بود. استخراج ویژگی در پردازش تصویر به عنوان تکنیکی برای کاهش مقدار زیادی از اطلاعات اضافی به یک مجموعه



شکل ۲. درخت طراحی شده جهت طبقه‌بندی

کمینه‌ی پهنای Convexity هسته با مقدار کمتر از ۰/۹۲ از سه گروه MB، PM و M با مقدار بیشتر از ۰/۹۲ جدا شدند. پس از تعیین حد آستانه بین ۰/۵۳ و ۰/۹۲ برای این ویژگی، سلول‌های MM جدا شد و سلول‌های دارای مقدار کمتر از ۰/۵۳ در دو گروه B یا N قرار گرفتند. برای جداسازی نوتروفیل‌ها و باندها، پس از اعمال الگوریتم تنگنا به منظور به دست آوردن کمینه‌ی پهنای هسته، محیط قسمت کوچک‌تر به دست آمد. این مقدار، برای نوتروفیل‌های کوچک‌تر از ۵۰۰ و برای باندها بیشتر از ۵۰۰ بود.

همان‌طور که در جدول ۱ آمده است، نسبت هسته به سیتوپلاسم و اندازه‌ی هسته از سلول نابالغ به سمت سلول بالغ کاهش یافت، اما با توجه به پیدا نکردن مقدار بهینه برای این ویژگی‌ها، از نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول با مقدار کمتر از ۲/۱۳ به منظور جداسازی M از MB و PM استفاده گردید. برای جداسازی PM بازه‌ی بین ۲/۱۳ و ۳/۷ انتخاب شد و

### طبقه‌بندی

هدف اصلی طبقه‌بندی کننده، دسته‌بندی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی در گروه خود می‌باشد. برای انجام این کار، تمام ویژگی‌های به دست آمده در مرحله‌ی قبل به عنوان ورودی به طبقه‌بندی کننده‌ی درختی طراحی شده ارسال می‌شوند که در آن جا با توجه به مقادیر آستانه‌ی تعیین شده، هر گروه از سلول‌ها جداسازی می‌شوند. در این تحقیق، ۷۱۴ سلول MB، PM، M، MM، B و N برچسب‌گذاری شده، مورد استفاده قرار گرفتند. ماتریس ویژگی داده‌ها به صورت  $۷۱۴ \times ۴$  شامل ویژگی‌های هندسی می‌باشد. ویژگی‌های استخراج شده، به صورت مجزا مورد بررسی قرار گرفتند و بهترین ساختار درختی مطابق شکل ۲ برای جداسازی آن‌ها طراحی گردید.

با توجه به ویژگی‌های مطرح شده در جدول ۱، شکل سه گروه آخر MB، B و N دارای انحنای بودند. بنابراین، مطابق با جدول ۱، این سه گروه با استفاده از ویژگی نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به

$$\text{حساسیت} = \frac{T_p}{T_p + F_n} \quad (1)$$

$$\text{ویژگی} = \frac{T_p}{T_p + F_p} \quad (2)$$

$$\text{صحت} = \frac{T_p + T_n}{T_p + T_n + F_p + F_n} \quad (3)$$

که در آن  $T_p$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر می‌باشند و توسط الگوریتم به درستی به عنوان سلول مد نظر شناخته شده‌اند.  $T_n$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر نمی‌باشند و توسط الگوریتم به درستی به عنوان سلول مد نظر شناخته نشده‌اند.  $F_p$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک سلول مد نظر نمی‌باشند و توسط الگوریتم به اشتباه به عنوان سلول مد نظر شناخته شده‌اند و  $F_n$  بیانگر سلول‌هایی است که با توجه به نظر پزشک، سلول مد نظر می‌باشند و توسط الگوریتم به اشتباه به عنوان سلول مد نظر شناخته نشده‌اند. جدول ۲ بیانگر پارامترهای ویژگی، حساسیت و صحت از طبقه‌بندی سلول‌های مد نظر می‌باشد.

### بحث

CML نوعی بیماری است که به طور عمده بزرگ‌سالان را درگیر می‌کند. CML آن دسته از سلول‌های بلاستی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که قرار است به گرانولوسیت (نوعی از سلول‌های سفید) تبدیل شوند. تشخیص به موقع و دقیق بیماری، می‌تواند از صرف زمان و هزینه‌ی زیاد جلوگیری کند. در این مطالعه، روشی نیمه اتوماتیک برای تشخیص سلول‌های مؤثر در تشخیص CML ارائه شد. بدین منظور، پس از بخش‌بندی دستی، ویژگی‌های مختلف تصویری مطابق با جدول ۱، استخراج گردید و پس بررسی و انجام آزمایش‌های مختلف، ویژگی‌های هندسی استخراج شده شامل تعداد لوب‌های هسته، محیط هسته، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به فاصله‌ی Hausdorff بین هسته و سلول، نسبت کمینه‌ی پهنای هسته به کمینه‌ی پهنای Convexity هسته به عنوان بهترین ویژگی‌ها تعیین شدند. سپس، الگوریتم طبقه‌بندی پیشنهادی برای این ویژگی‌های هندسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده، در جدول ۳ ارائه گردیده است.

همان‌طور که در جدول ۳ دیده می‌شود، از میان ۶۱ سلول MB، ۵۶ سلول به درستی MB و ۵ سلول به اشتباه PB تشخیص داده شدند. از میان ۳۳ سلول PB، ۳۱ سلول به درستی PB، ۱ سلول به اشتباه M و ۱ سلول به اشتباه MB تشخیص داده شدند. از میان ۲۱۰ سلول M، ۲۰۲ سلول به درستی M و ۸ سلول به اشتباه PB تشخیص داده شده است. از میان ۱۶۸ سلول MM، ۱۶۷ سلول به درستی MM

برای جداسازی MB مقادیر بیشتر از ۳/۷ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

الگوریتم طراحی شده برای طبقه‌بندی سلول‌های رده‌ی نوتروفیلی بر روی ۷۱۴ سلول استخراج شده از ۱۲۰ تصویر میکروسکوپی آزمایش گردید. تعداد هر گروه سلولی در جدول ۲ آمده است. به منظور ارزیابی نتیجه‌ی طبقه‌بندی همه‌ی سلول‌ها، ماتریس Confusion (۱۵) برای ویژگی‌های هندسی مطابق جدول ۳ ترسیم شده است.

جدول ۲. نتایج الگوریتم تشخیصی برای ویژگی‌های هندسی

نوع تشخیص	تعداد سلول‌ها	صحت	ویژگی	حساسیت
MB	۶۱	۹۹	۹۹	۹۱
PM	۳۳	۹۷	۹۸	۹۳
M	۲۱۰	۹۸	۹۹	۹۶
MM	۱۶۸	۹۹	۹۹	۹۹
B	۱۴۱	۹۹	۹۹	۹۸
N	۱۰۱	۹۹	۹۹	۹۹

ماتریس Confusion صحت بین نتیجه‌ی خروجی طبقه‌بندی و برچسب‌های درست برای هر سلول را نشان می‌دهد. در این ماتریس ۶ × ۶ ردیف‌ها، نشان دهنده‌ی برچسب‌های درست برای هر گروه سلول و ستون‌ها، نشان دهنده‌ی نتیجه‌ی طبقه‌بندی الگوریتم طراحی شده می‌باشد.

جدول ۳. ماتریس Confusion برای ویژگی‌های هندسی

نتیجه‌ی خروجی الگوریتم							برچسب صحیح
N	B	MM	M	PM	MB		
۰	۰	۰	۰	۵	۵۶	MB	
۰	۰	۰	۱	۳۱	۱	PM	
۰	۰	۰	۲۰۲	۸	۰	M	
۰	۱	۱۶۷	۰	۰	۰	MM	
۱	۱۳۹	۱	۰	۰	۰	B	
۱۰۰	۱	۰	۰	۰	۰	N	

در انتها، این نتایج با نظر مشترک دو پزشک متخصص مقایسه شدند. به منظور بررسی صحت نتایج به دست آمده به صورت آماری، پارامترهایی مانند ویژگی (Specificity)، حساسیت (Sensitivity) و صحت (Accuracy) (۱۶) از داده‌های به دست آمده، محاسبه گردید. این مقادیر، با توجه به روابط (۱)، (۲) و (۳) به دست می‌آیند.

سلول‌های مشابه داشته باشند.

در پایان، تأکید می‌شود این روش، روشی کمکی است و نمی‌تواند به صورت کامل جایگزین بررسی مورفولوژیک توسط پاتولوژیست خبره و روش‌های آزمایشگاهی تکمیلی مانند فلوسیتومتری شود، اما با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، استفاده از ویژگی‌های هندسی و طبقه‌بندی کننده‌ی درختی روشی مناسب برای تشخیص سلول‌های مد نظر می‌باشد که علاوه بر صحت بالا، موجب کاهش هزینه، زمان و خستگی پزشک می‌گردد. به همین منظور، برای ادامه‌ی کار در آینده، می‌توان با افزایش داده‌ها الگوریتم طراحی شده را ارزیابی دقیق‌تر کرد و در صورت نیاز ویژگی‌های جدیدی به آن اضافه نمود. همچنین، می‌توان اتوماتیک کردن قسمت بخش‌بندی را مورد بررسی قرار داد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب به شماره‌ی ۳۹۴۳۲۵ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

و ۱ سلول به اشتباه B تشخیص داده شدند. از میان ۱۴۱ سلول B، ۱۳۹ سلول به درستی B، ۱ سلول به اشتباه MM و ۱ سلول به اشتباه N تشخیص داده شدند. از میان ۱۰۱ سلول N، ۱۰۰ سلول به درستی N و ۱ سلول به اشتباه B تشخیص داده شدند. مطابق با نتایج به دست آمده در جدول ۲، پارامترهای صحت، ویژگی و حساسیت برای هر شش گروه به ترتیب ۹۹، ۹۹ و ۹۱ درصد برای MB، ۹۷، ۹۸ و ۹۳ درصد برای PM، ۹۹، ۹۸ و ۹۶ درصد برای M، ۹۹، ۹۹ و ۹۹ درصد برای MM، ۹۹، ۹۹ و ۹۸ درصد برای B، ۹۹، ۹۹ و ۹۹ درصد برای N به دست آمد.

برای تشخیص لوسمی میلوئیدی مزمن، تنها تشخیص سلول‌ها منجر به تشخیص بیماری نمی‌شود و شمارش این سلول‌ها نیز لازم است. از بین ۲۰۰ سلول شناسایی شده در اسمیر خون محیطی در لوسمی میلوئیدی مزمن، حداکثر تا ۱۰ درصد میلوبلاست مجاز است و بیشترین تعداد سلول‌های رده‌ی میلوئید باید میلوپوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها باشند. اگر تنها تشخیص نوع سلول داده شود، لوسمی میلوئیدی حاد نوع M2 و واکنش لوکموئید هم ممکن است

### References

- Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Essential hematology. Hoboken, NJ: Blackwell; 2006. p. 20-7.
- Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM. Atlas of blood cells: Function and pathology. Milan, Italy: Edi Ermes; 1988.
- Löffler H, Rastetter J. Atlas of clinical hematology. 5<sup>th</sup> ed. New York, NY: Springer; 2000.
- Habibzadeh M, Krzyzak A, Fevens T. Analysis of white blood cell differential counts using dual-tree complex wavelet transform and support vector machine classifier. In: Bolc L, Tadeusiewicz R, Chmielewski LJ, Wojciechowski K, editors. Computer Vision and Graphics: International Conference, ICCVG 2012, Warsaw, Poland, September 24-26, 2012. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 414-22.
- Laosai J, Chamnongthai K. Acute leukemia classification by using SVM and K-Means clustering. Proceedings of the International Electrical Engineering Congress (iEECON 2014); 2014 Mar 19-21; Chonburi, Thailand.
- Piuri V, Scotti F. Morphological classification of blood leucocytes by microscope images. Proceedings of the IEEE International Conference on Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications (CIMS A 2004); 2004 Jul 14-16; Boston, MA, USA.
- Rezatofighi SH, Soltanian-Zadeh H. Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood. Computerized Medical Imaging and Graphics 35(4): 333-43.
- Ross NE, Pritchard CJ, Rubin DM, Duse AG. Automated image processing method for the diagnosis and classification of malaria on thin blood smears. Med Biol Eng Comput 2006; 44(5): 427-36.
- Sabino DMU, da Fontoura Costa L, Gil Rizzatti E, Antonio Zago M. A texture approach to leukocyte recognition. Real-Time Imaging 2004; 10(4): 205-16.
- Soltanzadeh R, Rabbani H. Classification of three types of red blood cells in peripheral blood smear based on morphology. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Conference on Signal Processing (ICSP 2010); 2010 Oct 24-28; Beijing, China.
- Saeedizadeh Z, Mehri DA, Talebi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O, Vard A. Automatic recognition of myeloma cells in microscopic images using bottleneck algorithm, modified watershed and SVM classifier. J Microsc 2016; 261(1): 46-56.
- Chora RS. Image feature extraction techniques and their applications for CBIR and biometrics systems. Int J Biol Biomed Eng 2007; 1(1): 6-16.
- Huttenlocher DP, Klanderman GA, Rucklidge WA. Comparing Images Using the Hausdorff Distance. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell 1993; 15(9): 850-63.
- Wang H, Zhang H, Ray N. Clump splitting via bottleneck detection and shape classification. Pattern Recognit 2012; 45(7): 2780-7.
- Amin MM, Kermani S, Talebi A, Oghli MG. Recognition of acute lymphoblastic leukemia cells in microscopic images using k-means clustering and support vector machine classifier. J Med Signals Sens 2015; 5(1): 49-58.
- Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bonsel GJ, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. J Clin Epidemiol 2003; 56(11): 1129-35.

## Classification of Effective Cells in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Using Semi-automatic Image Processing of Microscopic Images

Narjes Ghane<sup>1</sup>, Alireza Vard<sup>2</sup>, Ardeshir Talebi<sup>3</sup>, Pardis Nematollahy<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Chronic myelogenous leukemia (CML) is a type of blood cancers that usually occur in adults. The first step for diagnosis of leukemia is blood test and counting cells. Diagnosis and counting cells from blood smear are done by pathologist using optical microscope. This is a time-consuming and costly process and needs experience and expert in this field. Besides, other factors such as fatigue and working conditions can negatively affect the diagnostic evaluation. Thus, an aid tool for pathologists to help in the diagnostic process can be so useful. This research proposed a novel software tool to diagnose and classify of chronic myeloid leukemia cells.

**Methods:** In the proposed method, after accurate manual segmentation, various geometric features of cell and nucleus were extracted from neutrophils cells using image processing techniques. Then, applying these features by a new designed tree classifier, cells were categorized in to six groups.

**Findings:** The proposed method was evaluated on 120 blood smear microscopic images including 714 white blood cells (WBCs). An accuracy of over 97%, specificity of over 98% and sensitivity of over 91% for all of six groups were achieved.

**Conclusion:** In this study, a semi-automatic method was proposed for detection and classification of effective cells in diagnosis of chronic myeloid leukemia in microscopic images utilizing image processing methods.

**Keywords:** Chronic myeloid leukemia, Classification, Granulocytic category, Image processing

**Citation:** Ghane N, Vard A, Talebi A, Nematollahy P. **Classification of Effective Cells in Diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Using Semi-automatic Image Processing of Microscopic Images.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(405): 1304-10.

1- MSc Student, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering AND Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Alireza Vard, Email: vard@amt.mui.ac.ir