

## استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان

زهرا سعیدی زاده<sup>۱</sup>، دکتر اردشیر طالبی<sup>۲</sup>، دکتر علیرضا مهری دهنوی<sup>۳</sup>، دکتر حسین ربانی<sup>۴</sup>، امید صراف زاده<sup>۴</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** پلاسماسل‌ها، از نوعی گلوبول سفید خون به نام لنفوسیت B در مغز استخوان ساخته می‌شوند و کار آن‌ها، تولید پادتن‌ها است که به دفاع علیه عفونت‌ها کمک می‌کنند. تکثیر زیاد و بدخیم پلاسماسل‌ها (میلوماسل‌ها) در مغز استخوان نشان دهنده بیماری سرطان خون از نوع میلوم متعدد است. گاهی وجود عفونت در بدن، منجر به افزایش زیاد پلاسماسل‌ها می‌شود که در بعضی موارد، با سرطان میلوم متعدد اشتباه گرفته می‌شود. تشخیص میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم بر اساس عواملی از جمله نسبت هسته به سیتوپلاسم، تراکم کروماتین‌های هسته، هاله‌ی روشن اطراف هسته و غیره انجام می‌شود که به دلیل واگذاری تصمیم نهایی به چشم و نظر انسان گاهی سبب تشخیص اشتباه می‌شود. مطالعه‌ی حاضر با هدف فراهم‌سازی امکان شناسایی دقیق میلوماسل توسط نرم‌افزار و با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام شد.

**روش‌ها:** در این پژوهش، ابتدا با استفاده از الگوریتم بهبود کنتراست و خوشه‌بندی K- میانگین (K-means clustering)، هسته و سیتوپلاسم سلول‌ها به طور کامل استخراج شدند. سپس برای جداسازی هسته‌ها و سلول‌های به هم چسبیده، به ترتیب از دو الگوریتم تنگنا و آب پخش استفاده شد. در پایان، با استخراج ویژگی از هسته و سیتوپلاسم سلول‌های استخراج شده، میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم افتراق داده شدند.

**یافته‌ها:** این مطالعه بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی، شامل ۶۴ سلول پلاسماسل طبیعی و ۷۳ سلول میلوماسل، انجام شد و در افتراق میلوماسل و پلاسماسل‌های طبیعی، صحت ۹۹/۲۷ درصد حاصل گردید.

**نتیجه‌گیری:** در این پژوهش، روشی نیمه اتوماتیک جهت تشخیص پلاسماسل‌ها و تفکیک پلاسماسل‌های بدخیم از پلاسماسل‌های سالم در تصاویر میکروسکوپی مغز استخوان ارائه شد.

**واژگان کلیدی:** B سل‌ها، پلاسماسل میلوما، آنالیز تصاویر

**ارجاع:** سعیدی زاده زهرا، طالبی اردشیر، مهری دهنوی علیرضا، ربانی حسین، صراف زاده امید. استخراج و شناسایی میلوماسل در تصاویر

میکروسکوپی اسپیراسیون مغز استخوان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۰): ۱۹۸۴-۱۹۷۶

## مقدمه

دستگاه‌های بسیار پیشرفته در زمینه‌ی تشخیص و شمارش انواع گوناگون سلول‌های خونی نظر مستقیم پزشک بر روی لام خون محیطی، حرف آخر را در زمینه‌ی تشخیص و به دنبال آن درمان می‌زند. یکی از

از حیث دفاع در برابر عوامل خارجی، گلوبول‌های سفید در پیشانی جبهه‌ی جنگ با عوامل بیگانه‌ی نفوذی به بدن قرار دارند (۱). امروزه با وجود

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

۲- دانشیار، گروه باتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه بیوالکترونیک و مهندسی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین علوم پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: talebi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر اردشیر طالبی

پلاسماسلی، نتایج قابل قبولی داشته باشد، حداقل به عنوان مشاور و ابزار کمکی برای پاتولوژیست، برداشتن گام مهمی در راستای کاربرد دانش مهندسی در زمینه‌ی علم پزشکی محسوب می‌شود. در این مطالعه، با استفاده از تکنیک‌های بهبود تصویر، کنتراست مابین پلاسماسل‌ها و گلبول‌های قرمز افزایش داده شد و سپس از کنتراست ایجاد شده و جداسازی رنگ‌ها، برای استخراج هسته و سیتوپلاسم پلاسماسل‌ها از تصویر استفاده گردید. در ادامه الگوریتم‌های پیشنهادی برای جداسازی هسته‌ها و سیتوپلاسم‌های به هم چسبیده ارایه و ویژگی‌های مفید برای افتراق مابین میلوماسل‌ها و پلاسماسل‌های طبیعی مطرح شد. در پایان، روش پیشنهادی بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی اعمال شد و برای تعیین دقت آن، تعداد میلوماسل‌های تشخیصی با تعداد میلوماسل‌های تعیین شده توسط پزشک متخصص مقایسه گردید.

### روش‌ها

برای اجرای این مطالعه از آن جایی که حجم جامعه نامشخص بود، حجم نمونه با توجه به فرمول حجم نمونه‌ی کوکران (Cochran) به صورت معادله‌ی تعریف شد. در ضریب اطمینان ۹۵ درصد،  $Z = 1/96$  بود و به دلیل این که در این جا نمونه‌ها به دو گروه پلاسماسل طبیعی و بدخیم تقسیم می‌شدند،  $p = q = 0/5$  خواهد بود. بنابراین برای میزان خطای مجاز،  $0/14$  مقدار حجم نمونه برابر با ۵۰ نمونه حاصل گردید.

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2} \quad \text{معادله‌ی ۱}$$

در این مطالعه با همکاری بخش پاتولوژی

زمینه‌هایی که نظر پزشک به صورت مستقیم بر اسمیر مغز استخوان بسیار حیاتی است، تشخیص و افتراق میان پلاسماسل بدخیم و پلاسماسل طبیعی است. بنابراین وجود روش‌هایی که با استفاده از الگوریتم‌ها بینایی ماشین (Machine vision) بتوانند این تمایز را مشخص کنند، حداقل به عنوان مشاور برای پاتولوژیست، بسیار ارزشمند خواهد بود. پلاسماسل‌ها، از نوعی گلبول سفید خون به نام لنفوسیت B در مغز استخوان ساخته می‌شوند و کار آن‌ها تولید پادتن‌ها است که به دفاع علیه عفونت‌ها کمک می‌کنند. تکثیر زیاد و بدخیم پلاسماسل‌ها در مغز استخوان، نشان دهنده‌ی بیماری سرطان خون از نوع میلوم متعدد (Multiple myeloma) است (۲).

ارزیابی میزان درگیری مغز استخوان توسط پلاسماسل‌های بدخیم یکی از عوامل مهم در تشخیص و درمان بیماری میلوم متعدد و دیگر ناهنجاری‌های پلاسماسل است. احتمال وجود خطا در تشخیص میلوماسل‌ها از پلاسماسل‌های سالم به دلیل وابسته بودن به مهارت پاتولوژیست وجود دارد که در روش‌های اتوماتیک سعی در برطرف کردن این مشکلات است. استفاده از تشخیص کامپیوتری که مبتنی بر تکنیک‌های پردازش تصویر و نرم‌افزاری می‌باشد، علاوه بر سادگی و ارزانی، سبب صرفه جویی در زمان و افزایش دقت در تشخیص بیماری می‌گردد.

پژوهش حاضر با هدف فراهم‌سازی امکان شناسایی دقیق و شمارش پلاسماسل‌ها توسط نرم‌افزار و با استفاده از تکنیک‌های نوین پردازش تصویر انجام شد. لازم به ذکر است که تولید نرم‌افزاری که بتواند در زمینه‌ی تشخیص بدخیمی

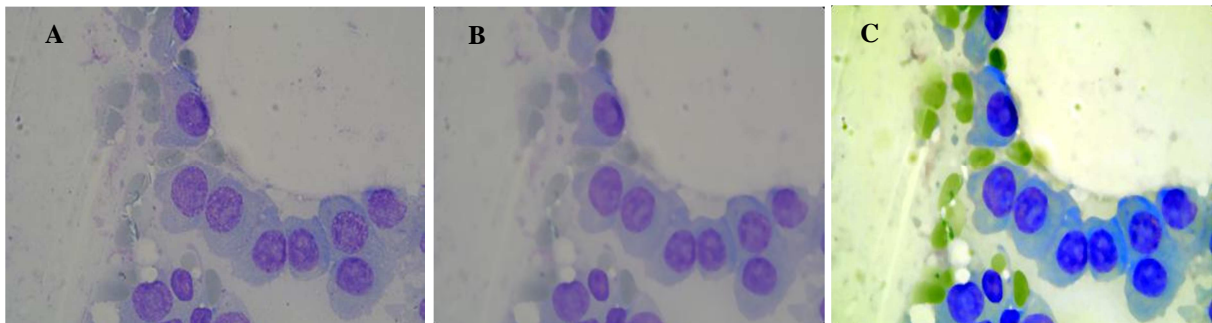
پس از انتقال تصاویر به رایانه، مراحل نرم‌افزاری پردازش تصاویر به شرح زیر انجام شدند:

### (۱) پیش پردازش

در این مرحله، به منظور کاهش نویز نقطه‌ای، یک فیلتر میانه (Median Filter) بر روی تصویر رنگی اعمال گردید. جهت جلوگیری از کاهش کیفیت لبه‌های تصویر، از اعمال فیلتر پایین‌گذر صرف نظر شد. پس از اعمال فیلتر، به منظور افزایش کنتراست از تابع کشش خطی کنتراست (Linear contrast stretching) (۳) بر روی هر سه زیر باندهای تصویر رنگی RGB (Red-green-blue) استفاده شد. این تابع به صورت معادله‌ی ۲ تعریف می‌شود و بر اساس آن، ورودی‌های کمتر از  $m$  به محدوده‌ی باریک و تاریک و ورودی‌های بزرگ‌تر از  $m$  به محدوده‌ی باریک و روشن فشرده می‌شوند و نتیجه‌ی آن، کنتراست بالاتر تصویر است. در این معادله،  $r$  مربوط به شدت تصویر ورودی و  $S$  مربوط به شدت تصویر خروجی است و  $E$  شیب تابع را کنترل می‌کند. نتایج حاصل از اعمال فیلتر میانه و اثر بهبود کنتراست در شکل ۱ آمده است.

$$S = T(r) = \frac{1}{1 + \left(\frac{m}{r}\right)^E} \quad \text{معادله‌ی ۲}$$

بیمارستان‌های الزهرا (س) و سیدالشهدا (ع)، ۳ اسمیر آسپیراسیون مغز استخوان مبتلا به بیماری میلو م متعدد و ۳ اسمیر آسپیراسیون مغز استخوان طبیعی و راکتیو (Reactive) تهیه شد. از آن جایی که هدف این تحقیق طراحی اولیه نرم‌افزار بود، بنابراین تعداد بیمار و لام در طراحی اولیه چندان مورد نظر نبود. مسلم است که برای تکمیل طرح در آینده‌ی نزدیک، تعداد بیشتر بیمار و لام جهت افزایش پایگاه داده و بهبود نتایج عملی مورد نیاز است. از اسمیرهای به دست آمده، توسط دوربین دیجیتال Nikon ۱ V۱ که بر روی میکروسکوپ نوری Nikon Eclipse ۵۰i با بزرگ‌نمایی (Magnification) نهایی ۱۰۰۰ سوار است، ۳۰ تصویر رنگی با رزولوشن (Resolution) بالا گرفته شد و سپس برای پردازش به رایانه منتقل گردید. تشخیص طبیعی یا مبتلا به سرطان بودن اسمیرهای پیش‌گفته، علاوه بر پزشک متخصص توسط فلوسایتومتری (Flow cytometry) نیز تأیید شد. لازم به ذکر است که تصاویر استفاده شده برای این مطالعه در [http://misp.mui.ac.ir/fa/plasma\\_cell\\_lineage images](http://misp.mui.ac.ir/fa/plasma_cell_lineage_images) قابل دانلود می‌باشد.



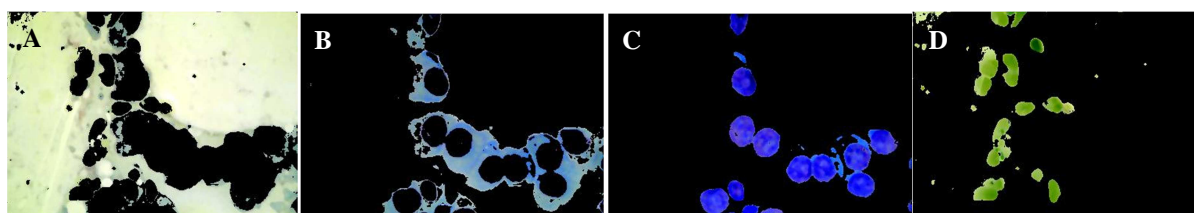
شکل ۱. نتایج پیش پردازش: (A) تصویر اصلی، (B) بعد از اعمال فیلتر میانه، (C) بعد از بهبود کنتراست

## ۲) بخش‌بندی هسته و سیتوپلاسم

در این مرحله از تفاوت رنگ ایجاد شده برای جداسازی هسته و سیتوپلاسم از سایر اجزای تصویر استفاده شد. برای این منظور، ابتدا سیستم رنگ تصویر به سیستم رنگ (Luminance-chrominance a and b) تغییر یافت. علت انجام این کار، این بود که میزان همبستگی رنگ‌ها در این نوع سیستم رنگ به یکدیگر کمتر می‌باشد و این امر، به تشخیص اجزای سلول به صورت مستقل کمک می‌کند. برای استخراج هسته و سیتوپلاسم از روش خوشه‌بندی K- میانگین (K-means clustering) با چهار کلاس استفاده شد (۴-۶). برای چهار کلاس ایجاد شده، میانگین زیر باند سبز محاسبه گردید. کلاسی که بیشترین مقدار میانگین را در زیر باند سبز داشت، متعلق به پس زمینه‌ی تصویر و حاوی مقادیر بالای روشنایی بود. کلاسی که در رده‌ی دوم قرار داشت، به گلبول‌های قرمز تعلق داشت که با بهبود کنتراست در مرحله‌ی قبل، به رنگ سبز متمایل می‌شد. کلاس بعدی، متعلق

به سیتوپلاسم‌های تصویر بود که دارای رنگ آبی روشن بودند و در نهایت، کلاسی که کمترین مقدار میانگین را در زیر باند سبز داشت، متعلق به هسته‌های تصویر بود که به رنگ آبی تیره مایل به بنفش مشاهده می‌شدند. شکل ۲ چهار کلاس خروجی حاصل از خوشه‌بندی K- میانگین را نشان می‌دهد.

در گام بعدی، به منظور کاهش نویزهای نقطه‌ای و خالص نمودن ماسک هسته، تصویر هسته‌ها با استفاده از عملگرهای شکل‌شناسی (Morphological operation) (۷-۸) یک بار با فیلتر دیسکی شکل (Disk shape) به قطر ۲ پیکسل بسته شد و سپس با همان فیلتر به قطر ۸ پیکسل باز گردید. در پایان، تمامی اشیایی را که در تصویر مساحتی کمتر از ۱۰۰ پیکسل داشتند، از تصویر حذف شدند. به این ترتیب، تصویر ماسک هسته‌ها ساخته شد. تمام این مراحل برای ساخت تصویر ماسک سیتوپلاسم نیز انجام گردید؛ با این تفاوت که مقادیر پیکسل فیلترها به ترتیب زیر تغییر یافت: ۳، ۵ و ۱۰۰۰. شکل ۳ نتیجه‌ی خروجی این مرحله را نمایش می‌دهد.



شکل ۲. چهار کلاس به دست آمده از روش خوشه‌بندی K- میانگین



شکل ۳. نتایج بخش‌بندی هسته و سیتوپلاسم: (A) تصویر اصلی، (B) ماسک سیتوپلاسم، (C) ماسک هسته

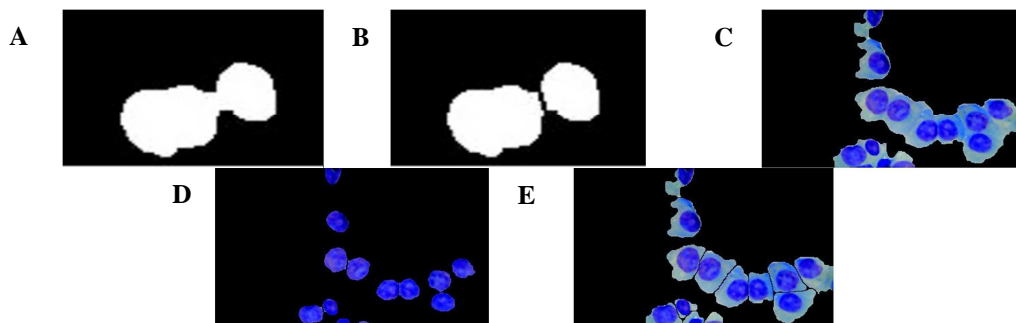
است قبل از اعمال تبدیل آب پخشان، یک سری پردازش‌هایی روی تصویر انجام شود تا ناحیه‌هایی با تغییرات کوچک در شدت که مقادیر گرادیان کوچکی دارند، حذف شوند تا با اعمال تبدیل آب پخشان، قطعه‌بندی به طور صحیح انجام گیرد (۳).

هسته‌ها نیز به دلیل وجود کروماتین دارای سطوح شدت روشنایی مختلف هستند و به همین دلیل، دارای گرادیان‌های مختلف نیز می‌باشند. برای غلبه بر این مشکل، از تبدیل آب پخشان کنترل شده با نشانگر استفاده می‌شود (۱۱-۱۰).

در این جا ابتدا تصویر رنگی سیتوپلاسم‌های متراکم به تصویر سطح خاکستری (Gray scale) تبدیل می‌شود و سپس تصویر گرادیان آن به دست می‌آید. سپس گرادیان‌های ضعیف حذف و تصویر ماسک هسته‌های جدا شده به آن اعمال می‌شود. این عمل، سبب می‌شود که از بیش قطعه‌بندی بعد از اعمال تبدیل آب پخشان جلوگیری شود. در نهایت، خطوط ایجاد شده از تبدیل آب پخشان به تصویر اصلی اعمال می‌شود. شکل ۴ نتایج حاصل از جداسازی هسته‌های به هم چسبیده و سیتوپلاسم‌های متراکم را نشان می‌دهد.

۲-۱) جداسازی هسته‌های به هم چسبیده برای استخراج ویژگی از هسته‌ها، نیاز است که هسته‌های متصل به هم از یکدیگر جدا شوند. برای این کار، روشی بر مبنای الگوریتم تنگنا (Bottleneck algorithm) (۹) ارایه شد. الگوریتم تنگنا از دو قسمت اصلی تشکیل شده است. برای قسمت اول روی توده‌ای که شامل دو یا تعداد بیشتری شیء به هم چسبیده است، تمرکز می‌شود. نقاط شکاف در باریک‌ترین بخش توده به نام تنگنا قرار دارند. پس از تعیین نقاط شکاف، در قسمت دوم این نقاط توسط خط به یکدیگر متصل می‌شوند تا توده به دو قسمت تقسیم شود.

۲-۲) جداسازی سیتوپلاسم‌های به هم چسبیده جداسازی سیتوپلاسم‌های متراکم نیاز به الگوریتمی دارد که از گرادیان (Gradient) مابین سیتوپلاسم‌های متراکم برای جداسازی استفاده کند. بنابراین از الگوریتم آب پخشان (Watershed algorithm) (۷) برای این منظور استفاده شد. کاربرد مستقیم الگوریتم آب پخشان به دلیل نویز و سایر بی‌نظمی‌های گرادیان، به طور معمول منجر به بیش قطعه‌بندی (Over segmentation) می‌شود. به همین دلیل، لازم



شکل ۴. نتایج جداسازی: (A) تصویر دو هسته به هم چسبیده، (B) هسته‌های جدا شده توسط الگوریتم تنگنا، (C) تصویر سلول‌های متراکم، (D) تصویر کاملی از هسته‌های جدا شده توسط الگوریتم تنگنا، (E) سلول‌های جدا شده توسط اعمال تصویر هسته‌های جدا شده و الگوریتم آب پخشان

Standard Deviation:  $\sigma_i =$ 

$$\sqrt{\frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N (I_i(x,y) - \mu)^2}{M \times N}} \quad \text{معادله ۳}$$

$$\text{Entropy: } \text{ent}_i = \frac{\sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N I_i(x,y) (-\ln I_i(x,y))}{M \times N}$$

معادله ۴

## یافته‌ها

الگوریتم پیش گفته جهت استخراج و جداسازی هسته و سیتوپلاسم بر روی ۳۰ تصویر میکروسکوپی، منجر به استخراج ۲۳۶ سلول شد. از این میان، ۷۳ سلول پلاسماسل‌های بدخیم، ۶۴ سلول پلاسماسل‌های طبیعی و ۹۹ سلول سایر سلول‌های مغز استخوان و همچنین پلاسماسل‌های مورد شک از نظر طبیعی یا بدخیم بودن را شامل می‌شدند. همان‌طور که اشاره شد، این الگوریتم طرح اولیه‌ی نرم‌افزار بود که بر روی تعداد نمونه‌های کم نیز نتایج قابل قبولی داشت. افزایش تعداد بیمار و لام جهت تکمیل پایگاه داده، گام بعدی در زمینه‌ی تکمیل نرم‌افزار است که به عنوان Future work در آینده‌ی نزدیک انجام خواهد گرفت. در این مطالعه فقط بر روی دو گروه پلاسماسل‌های طبیعی و بدخیم طبقه‌بندی صورت پذیرفت. بنابراین دو ویژگی استخراج شده از این ۱۳۷ سلول، به طبقه‌بندی کننده‌ی SVM (۱۳-۱۲) فرستاده شد تا بر اساس آن‌ها، پلاسماسل‌های بدخیم از طبیعی تفکیک گردد. به منظور بررسی دقت و صحت نتایج به دست آمده در طبقه‌بندی به صورت آماری، پارامترهایی چون حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity) و صحت (Accuracy) برای نتایج به دست آمده محاسبه شدند. این مقادیر با توجه به معادله‌های ۵ تا ۷ به صورت زیر به دست آمد (۱۴):

$$\text{معادله ۵} \quad \text{حساسیت} = \frac{Tp}{Tp+Fn}$$

## ۳) استخراج ویژگی و طبقه‌بندی

بعد از استخراج هسته و سیتوپلاسم و جداسازی کامل آن‌ها، گام بعدی به دست آوردن ویژگی‌هایی بود که بتوان از آن‌ها برای طبقه‌بندی پلاسماسل‌های سالم از بدخیم استفاده کرد. یک سری ویژگی‌هایی که در این مرحله استخراج می‌شود، ویژگی‌هایی است که پزشک به صورت چشمی برای تفکیک پلاسماسل‌های سالم از بدخیم استفاده می‌کند. هاله‌ی روشن اطراف هسته، هسته با کروماتین شبیه چرخ درشکه در پلاسماسل‌ها، تغییر رنگ هسته و سیتوپلاسم از جمله این ویژگی‌ها هستند. از جمله ویژگی‌های دیگر، می‌توان به ویژگی‌های هندسی سلول مانند گرد بودن هسته، مرکزی نبودن هسته، میزان کشیدگی سیتوپلاسم و ویژگی‌های آماری مانند آنترپی (Entropy)، میانگین و انحراف معیار (Standard deviation) (۷) اشاره کرد. از بین ویژگی‌های پیش گفته، دو ویژگی آماری آنترپی و انحراف معیار که نشان دهنده‌ی پراکندگی داده‌ها از توزیع طبیعی هستند، بهترین نتیجه در تمییز پلاسماسل‌های بدخیم از طبیعی را دارا هستند. مقادیر این ویژگی‌ها در هسته و سیتوپلاسم، به ترتیب نشان دهنده‌ی تغییرات نامنظم شدت روشنایی و رنگ در هسته به دلیل کروماتین‌های متراکم شبیه چرخ درشکه و تغییرات روشنایی سیتوپلاسم حاصل از هاله‌ی روشن اطراف هسته بود. مقادیر این ویژگی‌ها در هسته و سیتوپلاسم و در زیر باند V در سیستم رنگ HSV (Hue-saturation-value) و در زیر باند B در فضای رنگ RGB محاسبه شد و برای طبقه‌بندی پلاسماسل‌های بدخیم از سالم به طبقه‌بندی کننده‌ی SVM (Support vector machine) ارسال گردید.

و انحراف معیار بر روی هسته و سیتوپلاسم سلول ها محاسبه و مقادیر به دست آمده به طبقه بندی کننده‌ی SVM فرستاده و صحت کار انجام شده اندازه گیری شد. همان طور که در جدول ۱ آمده است، ویژگی آنروپی کمترین خطا را در تشخیص میلوماسل ها در هر دو زیر باندها V و B دارد. از بین ۷۳ سلول میلوماسل، همه به درستی به عنوان میلوماسل شناخته شدند، اما از بین ۶۴ سلول پلاسماسل طبیعی، ۶۳ سلول به درستی پلاسماسل طبیعی و ۱ سلول به اشتباه میلوماسل تشخیص داده شد. بنابراین از بین دو ویژگی آنروپی و انحراف معیار هسته و سیتوپلاسم، آنروپی به عنوان ویژگی برتر در تشخیص میلوماسل ها در هر دو زیر باندها V و B با صحت ۹۹/۲۷ انتخاب می شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد زهرا سعیدی زاده به شماره‌ی ۳۹۲۵۰۹ مصوب دانشکده‌ی فناوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد. بدین وسیله از زحمات استادان محترم گروه مهندسی پزشکی (بیوالکتریک) دانشکده‌ی فن آوری‌های نوین علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که ما را در انجام این طرح تحقیقاتی یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

$$\text{معادله ۶} \quad \text{ویژگی} = \frac{Tn}{Tn+Fp}$$

$$\text{معادله ۷} \quad \text{صحت} = \frac{Tp + Tn}{Tp + Tn + Fp + Fn}$$

**Tp:** تعداد پلاسماسل های بدخیم که توسط الگوریتم نیز به درستی، بدخیم شناسایی می شوند.  
**Tn:** تعداد پلاسماسل های طبیعی که توسط الگوریتم نیز به درستی، طبیعی شناسایی می شوند.  
**Fp:** تعداد پلاسماسل های طبیعی که توسط الگوریتم به اشتباه، بدخیم شناسایی می شوند.  
**Fn:** تعداد پلاسماسل های بدخیم که توسط الگوریتم به اشتباه، طبیعی شناسایی می شوند.  
 نتایج حاصل از طبقه بندی کننده در جدول ۱ آمده است.

### بحث

در این مطالعه، روشی نیمه اتوماتیک جهت تشخیص و بخش بندی هسته و سیتوپلاسم ارایه گردید. در این روش با استفاده از تکنیک افزایش کنتراست و روش مبتنی بر خوشه بندی  $k$ - میانگین، هسته و سیتوپلاسم از سایر اجزای تصویر استخراج شد. سپس برای جداسازی هسته و سیتوپلاسم های متصل به هم، به ترتیب الگوریتم های تنگنا و آب پخشان کنترل شده با نشانگر مورد استفاده قرار گرفت.  
 در پایان، برای افتراق بین پلاسماسل های بدخیم از پلاسماسل های سالم، دو ویژگی مهم مانند آنروپی

جدول ۱. نتایج حاصل از طبقه بندی کننده بر اساس ویژگی های آنروپی و انحراف معیار

ویژگی	آنروپی سلول در زیر باندها V و B	انحراف معیار سلول در زیر باندها B	آنروپی سلول در زیر باندها B	انحراف معیار سلول در زیر باندها V	آنروپی سلول در زیر باندها V
صحت (درصد)	۹۹/۲۷	۸۱/۷۵	۹۹/۲۷	۶۴/۹۶	۹۳/۴۳
حساسیت (درصد)	۱۰۰/۰۰	۷۳/۹۷	۱۰۰/۰۰	۶۵/۷۵	۹۰/۴۱
ویژگی (درصد)	۹۸/۴۴	۹۰/۶۳	۹۸/۴۴	۶۴/۰۶	۹۶/۸۸

## References

1. Guyton CA. Textbook of medical physiology. 11<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2005.
2. Minges Wols HA. Plasma cells. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons; 2006.
3. Mokhtar NR, Harun NH, Mashor MY, Roseline H, Mustafa N, Adollah R, et al. Image enhancement techniques using local, global, bright, dark and partial contrast stretching for acute leukemia images. World Congress on Engineering 2009; 1: 807.
4. Soltanzadeh R, Rabbani H, Talebi A. Extraction of nucleolus candidate zone in white blood cells of peripheral blood smear images using curvelet transform. Computational and Mathematical Methods in Medicine 2012; 2012: 1-12.
5. Chitade AZ, Katiyar S. Colour based image segmentation using k-means clustering. International Journal of Engineering Science and Technology 2010; 2(10): 5319-25.
6. Ravichandran K, Ananthi B. Color skin segmentation using K-means cluster. International Journal of Computational and Applied Mathematics 2009; 4(2): 153-7.
7. Gonzalez RC, Woods RE. Digital image processing. 2<sup>nd</sup> ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 2002. p. 299-300.
8. Meyer F, Beucher S. Morphological segmentation. Journal of Visual Communication and Image Representation 1990; 1(1): 21-46.
9. Wang H, Zhang H, Ray N. Clump splitting via bottleneck detection and shape classification. Pattern Recognition 2012; 45(7): 2780-7.
10. Bala A. An Improved watershed image segmentation technique using MATLAB. International Journal of Scientific and Engineering Research 2012; 3(6): 1-4.
11. Acharjya PP, Ghoshal D. A modified watershed segmentation algorithm using distances transform for image segmentation. International Journal of Computer Applications 2012; 52(12): 46-50.
12. Chang CC, Lin CJ. LIBSVM: a library for support vector machines. ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology (TIST) 2011; 2(3): 27.
13. Smola A, Scholkopf B. A tutorial on support vector regression. Statistics and Computing 2004; 14(3): 199-222.
14. Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bossuyt PM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. J Clin Epidemiol 2003; 56(11): 1129-35.



## Extraction and Recognition of Myeloma Cells in Microscopic Images of Bone Marrow Aspiration

Zahra Saeedizadeh<sup>1</sup>, Ardeshir Talebi MD<sup>2</sup>, Alireza Mehri-Dehnavi PhD<sup>3</sup>,  
Hossein Rabbani PhD<sup>3</sup>, Omid Sarrafzadeh MSc<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Plasma cells are developed from B lymphocytes, a type of white blood cells generated in the bone marrow. The plasma cells produce antibodies to fight bacteria and viruses and stop infection and disease. In multiple myeloma, a cancer of plasma cells, collections of abnormal plasma cells (myeloma cells) accumulate in the bone marrow. Sometimes, existence of infection in body causes plasma cells increment, which could be diagnosed wrongly as multiple myeloma. Diagnosis of myeloma cells is mainly based on nucleus to cytoplasm ratio, compression of chromatin at nucleus, perinuclear zone in cytoplasm and etc.; so, because of depending final decision on human's eye and opinion, error risk in decision may be occurred. In this study, we presented an automatic method using image-processing techniques for myeloma cells diagnosis from bone marrow smears.

**Methods:** First, via contrast enhancement algorithm and k-means clustering, nucleus and cytoplasm of cells were completely extracted from bone marrow images. Then, for splitting connected nuclei and clump cells, two algorithms based on bottleneck and watershed methods were applied. Finally, via feature extraction from the nucleus and cytoplasm, myeloma cells were separated from normal plasma cells.

**Findings:** The algorithm was applied on 30 digital images contained 64 normal plasma cells and 73 myeloma cells. Applying the automatic identification of myeloma cells on provided database showed the accuracy of 99.27%.

**Conclusion:** In this study, an automatic method for detection and classification of plasma cells from myeloma cells in microscopic images of bone marrow aspiration was proposed.

**Keywords:** B-Cells, Plasma cell myeloma, Image analysis

**Citation:** Saeedizadeh Z, Talebi A, Mehri-Dehnavi A, Rabbani H, Sarrafzadeh O. **Extraction and Recognition of Myeloma Cells in Microscopic Images of Bone Marrow Aspiration.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1976-84

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

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

3- Associate Professor, Bioelectric and Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- PhD Student, Department of Biomedical Engineering, School of Advanced Medical Technologies AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Ardeshir Talebi MD, Email: talebi@med.mui.ac.ir