

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการนับเรติคูลोไซต์โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นและโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน

Performance Comparison of Reticulocyte Count using Multilayer Perceptron and Convolution Neural Networks

คมสัน สายันท์ (Komsan Saiyan)* ดร.นวกัศ เอื้ออนันต์ (Dr.Nawapak Eua-anant)^{1**}

ดร.ณัฐยา แซ่อึ้ง (Dr.Nattaya Sae-ung)***

(Received: January 9, 2023; Revised: March 13, 2023; Accepted: March 14, 2023)

บทคัดย่อ

การนับเรติคูลอไซต์ที่ตรวจพบในกระแสเลือดช่วยบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการสร้างเม็ดเลือดแดงของไขกระดูกซึ่งใช้ประกอบการวินิจฉัยและติดตามการรักษาได้ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิธีการนับเรติคูลอไซต์จากภาพสเมียร์เลือดที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa โดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลในการแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงและใช้โครงข่ายประสาทเทียมในการนับเรติคูลอไซต์ ผลการศึกษพบว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นที่ใช้ฮิสโตแกรมของค่า hue และ saturation ของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้ามีประสิทธิภาพในการนับเรติคูลอไซต์ดีกว่า ใช้จำนวนพารามิเตอร์ที่น้อยกว่า ใช้เวลาฝึกสอนและประมวลผลน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันที่ใช้ภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้า การนับเรติคูลอไซต์โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นมี accuracy 98.83%, precision 0.80, recall 0.88 และ F₁-score 0.84 ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าฮิสโตแกรมของสารสนเทศสีของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นคุณลักษณะที่สำคัญสำหรับการแยกแยะเรติคูลอไซต์ โปรแกรมนี้ควรพัฒนาเพื่อใช้งานในห้องปฏิบัติการในอนาคต

ABSTRACT

The reticulocyte count detected in the blood stream indicates the red blood cell production efficiency of the bone marrow which can be used for diagnosis and treatment monitoring. This research studied a method for counting reticulocytes from blood smear images stained with brilliant cresyle blue and counterstained with Wright-giemsa dye. We performed digital image processing techniques to segment red blood cell images and artificial neural networks to count reticulocytes. The results show that multilayer perceptron networks (MLP) using histograms of hue and saturation values of red blood cell images as inputs were more efficient in reticulocyte counting. This MLP used a smaller number of parameters and took less training and processing time compared artificial neural networks (CNN) that used red blood cell image as inputs. The MLP had a reticulocyte discrimination with 98.83% accuracy, 0.80 precision, 0.88 recall and 0.84 F₁-score. This study indicates that the histograms of color information of red blood cell images are important features for reticulocyte discrimination. This program should be developed for use in laboratory in the future.

คำสำคัญ: การนับเรติคูลอไซต์ เพอร์เซปตรอนหลายชั้น โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน

Keywords: Reticulocyte count, Multilayer perceptron, Convolutional neural network

¹Corresponding author: nawapak@kku.ac.th

*นักศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Student, Master of Engineering Program in Computer Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University

**อาจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Lecturer, Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University

***รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Associate Professor, Medical Technology Branch, Faculty of Medical Technology, Khon Kaen University

บทนำ

เรติคูลocyte (Reticulocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่ไม่มีนิวเคลียสแต่ยังมีกรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid; RNA) เหลืออยู่ในไซโทพลาสซึม เรติคูลocyte สร้างจากเซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูกและถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดประมาณ 1 วันก็จะเจริญเป็นเม็ดเลือดแดงเต็มวัยที่ไม่มี RNA [1] ค่าปกติของเรติคูลocyte ในกระแสเลือดผู้ใหญ่และเด็กเท่ากับ 0.5-2.5% ส่วนทารกแรกเกิดและเลือดสายสะดือทารกเท่ากับ 2-5% [2] ในสภาวะเลือดจางไขกระดูกจะปล่อยเรติคูลocyte ออกสู่กระแสเลือดเร็วกว่าปกติ ส่งผลให้เรติคูลocyte มีอายุอยู่ในไขกระดูกสั้นลงและอยู่ในกระแสเลือดนานขึ้น [1-2] ดังนั้นผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดจางจึงมีการปรับแก้ค่าเรติคูลocyte ด้วยภาวะเลือดจางก่อนนำไปใช้ในการวินิจฉัยผู้ป่วย ซึ่งเรียกว่า corrected reticulocyte (CR) และ reticulocyte production index (RPI) [3] ค่า CR จะถูกนำไปใช้ในการจำแนกสาเหตุของการเกิดภาวะเลือดจางที่มีเรติคูลocyte ต่ำหรือสูงในกระแสเลือดได้ [4] ส่วนค่า RPI จะใช้ในการบ่งชี้การทำงานของไขกระดูกในการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงในภาวะเลือดจางได้เพียงพอหรือไม่ [3] ภาวะที่มีเรติคูลocyte ต่ำในกระแสเลือด (CR <2%) ได้แก่ โรคไขกระดูกฝ่อ โรคไขกระดูกล้มเหลว ไขกระดูกทำงานผิดปกติเนื่องจากการติดเชื้อโรคไวรัสรุนแรง โรคขาดธาตุเหล็ก เป็นต้น ภาวะที่มีเรติคูลocyte สูงในกระแสเลือด (CR >2%) ได้แก่ ภาวะที่มีการเสียเลือดออกจากร่างกาย ภาวะที่มีการทำลายเม็ดเลือดแดงในร่างกาย ภาวะที่ร่างกายขาดออกซิเจน ระยะฟื้นตัวจากการให้เคมีบำบัดหรือรังสีรักษา เป็นต้น

การนับเรติคูลocyte ในปัจจุบัน มีทั้งวิธีที่นับโดยใช้คนและวิธีที่นับด้วยเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ อย่างไรก็ตามวิธีมาตรฐานของการตรวจนับเรติคูลocyte คือวิธีการนับโดยใช้คน [5] ซึ่งทำโดยใช้สีย้อมที่มีคุณสมบัติย้อมเซลล์มีชีวิต (supravital stain) ย้อม RNA ของเรติคูลocyte สีย้อมนิยมใช้ ได้แก่ สี new methylene blue และ สี brilliant cresyl blue ลักษณะของเรติคูลocyte ที่ถูกย้อมเมื่อนำไปส่องกล้องเป็นฟิล์มบางแล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบเซลล์ที่มี RNA ถูกย้อมสีมีลักษณะเป็นร่างแหสีน้ำเงินกระจายอยู่ภายในเซลล์หรือพบเป็นแกรนูลตั้งแต่ 2 จุดขึ้นไป เรติคูลocyte จะรายงานเป็นร้อยละจากการนับเม็ดเลือดแดง 1,000 เซลล์ การนับเรติคูลocyte ด้วยวิธีนี้จะใช้เวลาค่อนข้างนานและมีความแปรปรวนในตัวอย่างเลือด วิธีการนับเซลล์ที่ต่างกัน และความแปรปรวนระหว่างผู้ทำค่อนข้างมาก [6] สำหรับการนับเรติคูลocyte ด้วยเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติมีทั้งหลักการ flow cytometry และ optical light scatter [1] โดยเครื่องที่ใช้สองหลักการนี้จะมีขั้นตอนการย้อม RNA ในเรติคูลocyte ต่างกัน ก่อนที่จะมีการนับเซลล์ตามวิธีการของแต่ละเครื่อง การนับเรติคูลocyte ด้วยเครื่องอัตโนมัติจะมีความแม่นยำมากกว่าวิธีการนับโดยใช้คนและเครื่องแต่ละยี่ห้อจะมีการรายงานค่าพารามิเตอร์ของเรติคูลocyte ได้ต่างกัน [1] ห้องปฏิบัติการบางแห่งมีการนำเครื่องอัตโนมัติมาใช้แทนวิธีที่นับโดยใช้คนเพื่อช่วยลดเวลาและลดความผิดพลาดในการนับทำให้ได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำขึ้น แต่เนื่องจากเครื่องอัตโนมัติมีราคาแพงและไม่แพร่หลาย ห้องปฏิบัติการทั่วไปจึงยังคงใช้วิธีการนับเรติคูลocyte โดยใช้คนแม้จะต้องใช้เวลานาน

ในปัจจุบันนี้ ได้มีการประยุกต์ใช้งานเทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัล (digital image processing) และการเรียนรู้ของเครื่อง (machine learning) ในงานด้านการตรวจนับเซลล์บนสเมียร์เลือดที่ย้อมสี Wright-Giemsa ตัวอย่างเช่น เครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ CellaVision® DM96 system [7-8] สามารถจำแนกชนิดเซลล์เม็ดเลือดขาว นับแยกเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างผิดปกติและนับเกล็ดเลือดโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural network) อย่างไรก็ตามเนื่องจากการนับเรติคูลocyte ด้วยวิธีการนับโดยใช้คนต้องใช้เวลาในการนับนานและมีความแปรปรวนในการนับสูง อีกทั้งสเมียร์ของเรติคูลocyte ที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue สามารถถูกย้อมทับ (counterstain) ด้วยสี Wright-Giemsa และเห็นเม็ดเลือดแดงติดสีชมพูและร่างแหของ RNA ติดสีน้ำเงินอมม่วงชัดเจนขึ้นและสามารถเก็บสเมียร์ไว้ได้นาน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนับเรติคูลocyte โดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพดิจิทัลร่วมกับโครงข่ายประสาทเทียม งานวิจัยนี้จึงต้องการพัฒนาอัลกอริทึมสำหรับการแยกส่วนภาพและนับเซลล์เม็ดเลือด

แดงและเรติคูลูไลต์จากภาพถ่ายสเมียร์เลือดที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa ซึ่งถ่ายโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลร่วมกับโครงข่ายประสาทเทียม ในศาสตร์ด้านการเรียนรู้ของเครื่องในปัจจุบันมีโครงข่ายประสาทเทียมหลากหลายประเภท [12] โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้น (Multilayer Perceptron; MLP) เป็นที่นิยมใช้งานรู้จำรูปแบบทั่วไปที่ข้อมูลมีขนาดไม่ใหญ่มาก [12-13] ในขณะที่โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน (Convolutional Neural Network; CNN) เป็นที่นิยมใช้ในงานด้านการรู้จำภาพและสัญญาณต่างๆ [14] ในการประยุกต์ใช้งานด้านการรู้จำข้อมูลภาพ ข้อแตกต่างที่สำคัญระหว่างโครงข่ายประสาทเทียมสองประเภทนี้ในด้านสถาปัตยกรรมคือโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจะประกอบไปด้วยชั้นการคำนวณแบบคอนโวลูชันในชั้นแรกๆ ที่ทำหน้าที่เสมือนเป็นตัวกรองเชิงพื้นที่ (spatial filter) จำนวนมากซึ่งโครงข่ายแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นจะไม่มีในส่วนนี้ ดังนั้นโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจะมีจำนวนชั้นและโหนดที่มากกว่าโครงข่ายแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นมากและถูกเรียกว่าเป็นการเรียนรู้เชิงลึก ส่วนในแง่การใช้งานนั้น ในโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นผู้ใช้งานต้องทำการแยกส่วนภาพ (image segmentation) และสกัดข้อมูลคุณลักษณะ (feature extraction) ที่เหมาะสมจากข้อมูลภาพตั้งต้นเพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลนำเข้าให้กับโครงข่ายด้วยตนเอง [15] ในขณะที่โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันสามารถใช้ข้อมูลภาพตั้งต้นเป็นข้อมูลนำเข้าได้โดยตรงโดยที่โครงข่ายจะทำการสกัดข้อมูลคุณลักษณะได้เองในชั้นการคำนวณแบบคอนโวลูชันที่มี spatial mask จำนวนมากทำหน้าที่กรองภาพและให้ผลลัพธ์ออกมาเป็นภาพ feature map หลายๆ ภาพโดยอัตโนมัติ นอกจากนี้โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันบางรูปแบบ [16] ยังสามารถตรวจจับวัตถุและแยกแยะชนิดของวัตถุได้ในตัวเองโดยไม่ต้องมีการนำภาพตั้งต้นมาผ่านกระบวนการแยกส่วนภาพก่อน โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจึงมีความสะดวกในการใช้งานมากกว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้น นอกจากนี้เนื่องจากภาพ feature map ที่ได้จากชั้นการคำนวณแบบคอนโวลูชันเป็นข้อมูลคุณลักษณะเชิงพื้นที่ ซึ่งเกี่ยวข้องกับลักษณะรูปร่างของแต่ละส่วนประกอบในภาพ ดังนั้นโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจึงเด่นในด้านการตรวจจับและแยกแยะวัตถุในภาพที่ต้องใช้ข้อมูลด้านรูปร่างลักษณะทางกายภาพเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจ อย่างไรก็ตามในงานบางประเภท ข้อมูลที่เหมาะสมจะใช้ในการตัดสินใจอาจไม่ได้อยู่ในรูปข้อมูลเชิงพื้นที่เพียงอย่างเดียว แต่อาจเป็นข้อมูลในรูปแบบอื่นๆ ได้ เช่น ข้อมูลเชิงสถิติ ได้แก่ ฮิสโตแกรม (histogram) เป็นต้น [17] ในการประมวลผลข้อมูลในกรณีหลังนี้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นจะมีความเหมาะสมมากกว่า นอกจากนี้ด้วยจำนวนชั้นและจำนวนภาพ feature map ที่มีมากของโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันทำให้โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันต้องการจำนวนพารามิเตอร์ที่มากกว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นหลายเท่าตัว โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจึงต้องใช้ทรัพยากรในการคำนวณมหาศาลทำให้เป็นอุปสรรคสำคัญในการใช้งานโครงข่ายประสาทเทียมประเภทนี้

สำหรับงานวิจัยด้านการวิเคราะห์ภาพถ่ายเซลล์เม็ดเลือด มีงานวิจัยจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันในการวิเคราะห์ภาพถ่ายเซลล์เม็ดเลือดได้แก่ การแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือด การแยกแยะเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด การนับเม็ดเลือด [10, 18] การแยกแยะชนิดของเซลล์เม็ดเลือดแดงตามรูปร่างของเซลล์ [9, 11, 19] การแยกแยะชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว [10, 20] งานวิจัยเหล่านี้ใช้ภาพสเมียร์เลือดเป็นข้อมูลนำเข้าโดยตรง อย่างไรก็ตามลักษณะเด่นของเรติคูลูไลต์ในภาพสเมียร์ที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa คือเซลล์เม็ดเลือดแดงทั่วไปจะติดสีชมพูในขณะที่ร่างแหของ RNA ในเรติคูลูไลต์จะติดสีน้ำเงินอมม่วงชัดเจนดังแสดงในภาพที่ 1 (ในภาพ crop image แถวบน) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าข้อมูลทางสถิติของสารสนเทศสีของเซลล์เม็ดเลือดแดงเช่น ฮิสโตแกรมของค่าสี มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการแยกแยะระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติกับเรติคูลูไลต์ ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบว่าวิธีการใดมีประสิทธิภาพ

มากกว่ากันระหว่างการใช้สารสนเทศทางสถิติของสีของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับการใช้ภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยตรงเป็นข้อมูลนำเข้า ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลไฮไซต์โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นที่ใช้ข้อมูลนำเข้าเป็นฮิสโตแกรมของสีของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันที่ใช้ข้อมูลนำเข้าเป็นภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยตรง โดยอ้างอิงกับผลการตรวจนับเรติคูลไฮไซต์โดยผู้เชี่ยวชาญ ผลศึกษาจากงานวิจัยนี้จะทำให้ผู้ออกแบบโครงข่ายประสาทเทียมมีองค์ความรู้ในการเลือกใช้คุณลักษณะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจนับเรติคูลไฮไซต์

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาขั้นตอนวิธีการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลไฮไซต์ในภาพสเมียร์เลือดที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa ซึ่งถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1000 เท่าโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลในการแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงและใช้โครงข่ายประสาทเทียมในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลไฮไซต์
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลไฮไซต์โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นที่ใช้ข้อมูลนำเข้าเป็นฮิสโตแกรมของค่า hue และ saturation ของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันที่ใช้ข้อมูลนำเข้าเป็นภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยตรง

วิธีการวิจัย

การถ่ายภาพสเมียร์เลือดเพื่อนับเรติคูลไฮไซต์

ในงานวิจัยนี้ การถ่ายภาพสเมียร์เลือดเริ่มจากการนำสไลด์สเมียร์เลือดที่ย้อมสี brilliant cresyl blue และย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa [21] ไปถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล Olympus BX30 ซึ่งต่อกับกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า และใช้โปรแกรม Cell-A ในการถ่ายภาพโดยเลือกถ่ายในบริเวณที่มีเม็ดเลือดแดงเรียงตัวไม่ซ้อนทับกัน ภาพเหล่านี้จะถูกนำไปนับจำนวนเรติคูลไฮไซต์โดยผู้เชี่ยวชาญและใช้ในการวิจัยนี้

การแยกส่วนภาพ

ในงานวิจัยด้านการวิเคราะห์ภาพสเมียร์เลือดโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลส่วนใหญ่ ขั้นตอนแรกภายหลังจากการรับภาพเข้ามาคือการปรับปรุงภาพ เช่น การกำจัดสัญญาณรบกวนโดยใช้ตัวกรองภาพความถี่ต่ำแบบเกาส์เซียน ตามด้วยขั้นตอนการแยกส่วนภาพ โดยเนื่องจากสีของเซลล์เม็ดเลือดแดงทั่วไปจะเป็นสีชมพู สีของเซลล์เม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดจะมีสีน้ำเงินอมม่วงไปจนถึงสีม่วงอมแดง ในขณะที่สีของพื้นหลังจะเป็นสีโทนอ่อนเช่นสีเทาอ่อน สีเหล่านี้มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นการแยกส่วนภาพในขั้นต้นเพื่อแยกเม็ดเลือดแดงออกจากส่วนประกอบอื่นๆ ในภาพจึงสามารถทำได้โดยใช้วิธีการอย่างง่ายเช่น การแปลงสี (color conversion) [22] หรือการเลือกระนาบสี (color plane) แล้วตามด้วยการทำ thresholding [23] ซึ่งสำหรับภาพสีแบบ RGB ระนาบสีที่เหมาะสมในการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจากพื้นหลังคือระนาบสีแดง หลังจากแยกเม็ดเลือดแดงได้แล้วภาพเม็ดเลือดแดงที่ได้จะมีทั้งเซลล์ที่แยกจากเซลล์อื่นๆ และเซลล์ที่ติดกันหรือทับซ้อนกัน ขั้นตอนถัดมาจะเป็นการแยกภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงออกมาเป็นภาพเซลล์เดี่ยว โดยพิกเซลที่เป็นเส้นขอบของเซลล์จะถูกสกัดออกมาด้วยวิธีการตรวจจับขอบ (edge detection) [24] หรือการสกัดเส้น contour พิกเซลเหล่านี้จะถูกใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการตรวจจับตำแหน่งของเซลล์เม็ดเลือดแดง วิธีส่วนใหญ่ที่ใช้ตรวจจับตำแหน่งของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะอาศัยลักษณะพิเศษของเม็ดเลือดแดงปกติที่เป็นภาพคล้ายวงกลมเป็นพื้นฐานสำคัญเช่น การใช้ circular Hough transform [22-23, 25-26] การตรวจจับวงกลมแบบสุ่ม [27] วิธีการเหล่านี้สามารถ

ตรวจจับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ซ้อนทับกันได้ นอกจากนี้ยังมีการ watershed segmentation [22] ที่อาศัยประโยชน์จากความเป็นภาพทรงนูน (convex) ของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติในการแยกเซลล์เม็ดเลือดแดง

สำหรับงานวิจัยนี้ เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงในภาพสเมียร์เลือดที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีสีชมพูแกซึ่งแตกต่างจากสีของพื้นหลังที่เป็นสีขาวอมชมพูอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ภาพมีสัญญาณรบกวนน้อย และเซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีการกระจายตัวค่อนข้างดี เซลล์ที่ติดกันมีจำนวนน้อย งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้วิธีการแยกส่วนภาพโดยการทำ intensity thresholding กับภาพระบบสีแดง ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย ไม่ซับซ้อน ใช้ได้ดีกับภาพที่วัตถุและฉากหลังมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จากนั้นจึงเป็นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็กด้วยการทำ morphological opening operation ตามด้วยการทำ morphological erosion operation เพื่อกัดกร่อนพิกเซลที่ขอบของเซลล์เม็ดเลือดแดง ขั้นตอนสุดท้ายในการแยกส่วนภาพเป็นการใส่ฉลากหมายเลข (labelling) ให้กับพิกเซลที่ติดกันของเซลล์เม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ที่ได้จากการแยกส่วนภาพ ผลลัพธ์ที่ได้จะอยู่ในภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์ที่ถูกนำพื้นหลังออกไปและถูกตัดให้มีขนาด 128x128 พิกเซล ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลที่ใช้ในการแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ใช้ในงานวิจัยนี้

การสกัดคุณลักษณะ

ในงานวิจัยนี้ เนื่องจากเรติคูโลไซด์จะมี RNA หลงเหลือในเซลล์ซึ่งจะติดสีย้อมที่เป็นสีน้ำเงิน ทำให้มีบางพิกเซลเป็นสีน้ำเงิน ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจะไม่มีการติดสีที่เป็นสีน้ำเงิน ความแตกต่างของสีเหล่านี้สามารถเห็นได้ชัดเมื่อแสดงผลในระบบสี HSV ที่ประกอบด้วยองค์ประกอบ 3 ค่า ได้แก่ hue (H) หมายถึงสีหลัก (dominant color) saturation (S) หมายถึงความอิ่มตัวของสี และ value (V) หมายถึงค่าความสว่างของสีนั้นๆ โดยค่า hue และ saturation จัดเป็นข้อมูลสารสนเทศด้านสี (color information) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ตั้งสมมุติฐานว่าฮิสโตแกรมของค่า hue และค่า saturation ของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับของเรติคูโลไซด์มีความแตกต่างกันและสามารถนำมาใช้เป็นคุณลักษณะสำหรับการแยกแยะระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติกับเรติคูโลไซด์ได้

ในระบบสี HSV ค่า hue ของสีนั้นจะแบ่งตามองศาของวงล้อสี เริ่มจากสีแดงคือ 0 องศา ถัดมาเป็น สีเหลือง สีเขียว สีฟ้า สีน้ำเงิน จนถึงสีม่วงแดง ตามลำดับจนครบ 360 องศา ซึ่งพิกเซลของเซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่จะมีสีออกไปทางสีชมพู สีแดง จนถึงสีม่วงแดง ดังนั้นค่า hue ของพิกเซลส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0-30 และ 330-360 องศา เมื่อนำกราฟฮิสโตแกรมของค่า hue ไปแสดงผล จะได้กราฟที่ขาดช่วงทำให้ไม่เหมาะในการนำไปวิเคราะห์ แต่เนื่องจากพิสัยของค่า hue เป็นแบบ circular ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้วิธีเลื่อนกราฟฮิสโตแกรมแบบวงกลม (histogram circular shift) ไป 180 องศาโดยการสลับครึ่งหน้าและครึ่งหลังของกราฟฮิสโตแกรมต้นฉบับ ผลลัพธ์ที่ได้จะได้กราฟฮิสโตแกรมที่ต่อเนื่องซึ่งจะสะดวกในการวิเคราะห์มากกว่ากราฟฮิสโตแกรมต้นฉบับ

ภาพที่ 2 แสดงฮิสโตแกรมของค่า hue ของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติและเรติคูโลไซด์อย่างละ 50 ภาพพล็อตแบบซ้อนทับกันตามลำดับ ในภาพ 2 (a) จะเห็นได้ว่าฮิสโตแกรมของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจะมีลักษณะเป็นกราฟแบบฐานนิยมเดียว (unimodal) ซึ่งมีจุดยอดที่เด่นชัดจุดเดียว ในขณะที่ฮิสโตแกรมของเรติคูโลไซด์ในภาพที่ 2 (b) จะมีลักษณะเบี่ยงไปทางซ้ายโดยฐานด้านซ้ายจะกว้างกว่าฐานด้านขวาอย่างชัดเจน นอกจากนี้ในบางกราฟยังมีจุดยอดจุดที่สองตั้งอยู่ทางซ้ายของจุดยอดหลักอย่างชัดเจน ภาพที่ 3 แสดงฮิสโตแกรมของค่า saturation ของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติและเรติคูโลไซด์อย่างละ 50 ภาพพล็อตแบบซ้อนทับกันตามลำดับ ในภาพ 3 (a) จะเห็นได้ว่าฮิสโตแกรมของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจะมีลักษณะเป็นกราฟแบบฐานนิยมเดียวโดยมีจุดยอดที่เด่นชัดเพียงจุดเดียวและสมมาตรกับจุดยอดหลัก ในขณะที่ในภาพ 3 (b) ฮิสโตแกรมของเรติคูโลไซด์จะมีลักษณะเบี่ยงไปทางขวาเล็กน้อย โดยมีบางกราฟมีจุดยอดจุดที่สองอยู่ทางขวาของจุดยอดหลักอย่างชัดเจน

ดังนั้นเพื่อทดสอบว่าข้อมูลภาพแบบใดเหมาะสมสำหรับใช้ในการแยกแยะระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติกับเรติคูลอไซต์ งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ข้อมูลฮิสโตแกรมของค่า hue และ saturation ของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลคุณลักษณะสำหรับนำเข้าโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้น และใช้ภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้าสำหรับโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน

โครงข่ายประสาทเทียมที่ใช้ในงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นประกอบด้วยโหนดในชั้นนำเข้าจำนวน 436 โหนดเพื่อรองรับฮิสโตแกรมของค่า hue จำนวน 180 จุดและฮิสโตแกรมของค่า saturation จำนวน 256 จุด ชั้นซ่อนของโครงข่ายมี 5 ชั้น แต่ละชั้นประกอบด้วยโหนด 100 โหนดที่มี activation function เป็น rectified linear unit และมีการเชื่อมต่อระหว่างชั้นเป็นแบบทั่วถึงทั้งหมด ส่วนโหนดในชั้นส่งออกมีจำนวน 1 โหนดและมี activation function เป็น sigmoid function รวมมีจำนวนพารามิเตอร์ทั้งสิ้น 83,600 พารามิเตอร์ ในขณะที่โครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันที่ถูกเลือกใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ MobileNetV2 [28] ResNet152V2 [29] และ DenseNet201 [29] โดยโครงข่ายแต่ละชนิดมีจำนวนชั้นเป็น 154 566 และ 709 ตามลำดับและมีจำนวนพารามิเตอร์เป็น 2,260,546 58,335,746 และ 18,325,826 พารามิเตอร์ตามลำดับ

การแบ่งชุดข้อมูลภาพ

ภาพสเมียร์เลือดที่ย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue แล้วย้อมทับด้วยสี Wright-Giemsa ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีจำนวน 200 ภาพ หลังจากทำการแยกส่วนภาพแล้วได้ภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวน 18,160 ภาพและภาพเดี่ยวของเรติคูลอไซต์จำนวน 644 ภาพ ในการแบ่งกลุ่มภาพเพื่อการฝึกสอนและทดสอบโครงข่ายประสาทเทียม เพื่อให้การวัดประสิทธิภาพของโครงข่ายประสาทเทียมมีความน่าเชื่อถืองานวิจัยนี้จึงได้ใช้วิธีการ 10-fold cross validation โดยภาพทั้งหมดจะถูกแบ่งเป็นชุดข้อมูลภาพ 10 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจำนวน 1816 ภาพและภาพเรติคูลอไซต์จำนวน 64 ภาพ และมีการทดสอบประสิทธิภาพของโครงข่ายประสาทเทียม 10 ครั้ง การทดสอบแต่ละครั้งจะมีการเลือกชุดข้อมูลภาพมา 1 กลุ่มสำหรับใช้ทดสอบในขณะที่ชุดข้อมูลภาพที่เหลืออีก 9 กลุ่มจะใช้ในการฝึกสอนโครงข่ายประสาทเทียม และในการทดสอบครั้งต่อไปจะมีการสลับกลุ่มของชุดข้อมูลภาพสำหรับใช้ทดสอบจนครบทั้ง 10 กลุ่มโดยไม่ซ้ำกัน นอกจากนี้เนื่องจากจำนวนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติมากกว่าจำนวนภาพเรติคูลอไซต์มาก คิดเป็นอัตราส่วน 28:1 หากใช้อัตราส่วนนี้ในการฝึกสอน จะทำให้โครงข่ายประสาทเทียมมีโอกาสที่จะฝึกฝนการรู้จำภาพเรติคูลอไซต์เพียงร้อยละ 3.5 เทียบกับการฝึกฝนการรู้จำภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการเพิ่มจำนวนภาพเรติคูลอไซต์ให้ใกล้เคียงกับจำนวนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติโดยการคัดลอกภาพต้นฉบับของเรติคูลอไซต์ขึ้นมาเป็นภาพใหม่จำนวน 28 เท่า ทำให้ได้อัตราส่วนจำนวนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติต่อจำนวนภาพเรติคูลอไซต์ในชุดข้อมูลสำหรับฝึกสอนโครงข่ายประสาทเทียมเป็น 1816:1792

ผลการวิจัย

การประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลและโครงข่ายประสาทเทียมทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัยนี้พัฒนาขึ้นโดยใช้ภาษา Python version 3.9.7 ร่วมกับ Tensorflow library version 2.8.0 และ run บนระบบปฏิบัติการ Microsoft Windows 10 บนเครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลที่มี CPU เป็น AMD Ryzen 7 PRO 1700X ทำงานที่ความถี่นาฬิกา 3.4 GHz มีหน่วยความจำ 16 GBytes และมี graphics card ยี่ห้อ Nvidia รุ่น GTX 1070ti ในการฝึกสอนโครงข่ายประสาทเทียมที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ค่า Learning rate ที่ใช้คือ 0.001 ตารางที่ 1 แสดงจำนวนพารามิเตอร์ เวลาที่ใช้ในการฝึกสอน และเวลาที่ใช้ในการประมวลผลของโครงข่ายประสาทเทียมแต่ละภาพแบบ ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างภาพผลการตรวจจับและนับ

เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติและเรติคูลุโลไซต์โดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลและใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นที่พัฒนาขึ้นโดยใช้ข้อมูลฮิสโตแกรมของค่า hue และ saturation ของภาพเดี่ยวของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้า

ร้อยละของการนับเรติคูลุโลไซต์

การวัดค่าความถูกต้องของการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลุโลไซต์โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมได้มาจากการเปรียบเทียบผลการทำนายที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมกับผลเฉลยที่ได้จากการนับด้วยสายตาของผู้เชี่ยวชาญ ในทางการแพทย์การนับเรติคูลุโลไซต์นิยมแสดงในภาพร้อยละของการนับเรติคูลุโลไซต์ (percent reticulocyte count; PRC) ต่อภาพสเมียร์เลือด 1 ภาพ โดยมีนิยามคือ

$$PRC = \frac{\text{จำนวนเรติคูลุโลไซต์ที่นับได้}}{\text{จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับทั้งหมด}} \times 100$$

ในการวัดความลงรอยกัน (agreement) ระหว่างการวัด 2 วิธี งานวิจัยนี้ได้ใช้กราฟ Bland-Altman เพื่อแสดงแนวโน้มของความแตกต่างระหว่างค่า PRC ที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมและค่า PRC ที่ได้จากการนับโดยผู้เชี่ยวชาญ ภาพที่ 5 แสดงกราฟ Bland-Altman ของค่า PRC ของภาพสเมียร์เลือดจำนวน 200 ภาพที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมทั้ง 4 ภาพแบบเทียบกับค่า PRC ที่ได้จากการนับโดยผู้เชี่ยวชาญ โดยแกน x คือค่า PRC ของภาพสเมียร์เลือดแต่ละภาพ และแกน y คือผลต่างระหว่างค่า PRC ที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมกับค่า PRC ที่ได้จากการนับของผู้เชี่ยวชาญของภาพสเมียร์เลือดแต่ละภาพ ในภาพที่ 5 (a) ความแตกต่างของค่า PRC ที่นับโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นกับค่าที่นับโดยผู้เชี่ยวชาญจะกระจุกตัวอยู่ในช่วง +1.78 ถึง -2.94 และมีค่าเฉลี่ยที่ -1 ในขณะที่ในภาพที่ 5 (b) ความแตกต่างของค่า PRC ที่นับโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบ MobileNetV2 จะกระจุกตัวอยู่ในช่วง +3.77 ถึง -10.75 และมีค่าเฉลี่ยที่ -3 ในภาพที่ 5 (c) ความแตกต่างของค่า PRC ที่นับโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบ ResNet152V2 จะกระจุกตัวอยู่ในช่วง +5.74 ถึง -17.5 และมีค่าเฉลี่ยที่ -3 และในภาพที่ 5 (d) ความแตกต่างของค่า PRC ที่นับโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบ DenseNet201 จะกระจุกตัวอยู่ในช่วง +6.01 ถึง -9.84 และมีค่าเฉลี่ยที่ -2 จากภาพที่ 5 จะเห็นได้ชัดว่าค่า PRC ที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการนับโดยผู้เชี่ยวชาญมากที่สุดเมื่อเทียบกับค่า PRC ที่ได้จากโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันทั้ง 3 แบบ

ประสิทธิภาพของโครงข่ายประสาทเทียมในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงและเรติคูลุโลไซต์

ในการวัดประสิทธิภาพของโครงข่ายประสาทเทียม มาตรวัดที่นิยมใช้ได้แก่คือ precision, recall, F_1 -score และ accuracy ซึ่งคำนวณได้จากสมการที่ 1-4

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP + FP} \quad (1)$$

$$\text{Recall} = \frac{TP}{TP + FN} \quad (2)$$

$$F_1\text{-score} = \frac{2 \times \text{Precision} \times \text{Recall}}{\text{Precision} + \text{Recall}} \quad (3)$$

$$\text{Accuracy} = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (4)$$

โดย TP คือข้อมูลที่ทำนายตรงกับข้อมูลจริงชนิดที่กำลังพิจารณา FP คือข้อมูลที่ทำนายผิดว่าเป็นชนิดที่กำลังพิจารณา TN คือข้อมูลที่ทำนายตรงกับข้อมูลจริงว่าไม่ใช่ชนิดที่กำลังพิจารณาและ FN คือข้อมูลที่ทำนายผิดว่าไม่ใช่ชนิดที่กำลังพิจารณา ตารางที่ 2 แสดงผลการวัดประสิทธิภาพโดยเฉลี่ยของโครงข่ายประสาทเทียมทั้ง 4 ภาพแบบจากการทำ 10-fold cross validation จากตารางจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการนับเซลล์เม็ดเลือดแดงของโครงข่ายประสาทเทียมทั้ง 4 ภาพแบบมีความใกล้เคียงกันโดยโครงข่ายแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดที่ F_1 -score 0.99 ส่วนในการนับเรติคูลไซต์ ผลการทดลองพบว่าโครงข่ายแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันทั้ง 3 ภาพแบบอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยโครงข่ายแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดที่ F_1 -score 0.84 ในขณะที่โครงข่ายประสาทเทียมแบบ MobileNetV2, ResNet152V2 และ DenseNet201 ให้ค่า F_1 -score เป็น 0.77, 0.61 และ 0.62 ตามลำดับ ความถูกต้องโดยรวมของโครงข่ายประสาทเทียมแบบ MLP, MobileNetV2, ResNet152V2 และ DenseNet201 คิดเป็นร้อยละ 98.83, 98.19, 95.46 และ 96.51 ตามลำดับ

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการตรวจจับเซลล์เม็ดเลือดแดงของโครงข่ายประสาทเทียมทั้ง 4 ภาพแบบไม่ได้มีความแตกต่างกัน แต่ในการตรวจจับเรติคูลไซต์ โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นที่ใช้ฮิสโตแกรมของค่า hue และค่า saturation ของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้ามีความถูกต้องมากกว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันที่ใช้ข้อมูลภาพของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นข้อมูลนำเข้าอย่างเห็นได้ชัด ในขณะเดียวกันโครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้นยังใช้จำนวนพารามิเตอร์ที่น้อยกว่าและใช้เวลาในการฝึกสอนน้อยกว่า 3.3 ถึง 24 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชัน แม้ว่าโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันจะมีความสะดวกในการทำงานในแง่ที่ผู้ใช้ไม่ต้องกำหนดคุณลักษณะที่จะใช้เป็นข้อมูลนำเข้าให้กับโครงข่ายเนื่องจากโครงข่ายประสาทเทียมแบบคอนโวลูชันสามารถใช้ข้อมูลภาพเป็นข้อมูลนำเข้าโดยตรงได้ แต่งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสนเทศทางสถิติด้านสีของเซลล์เม็ดเลือดแดงยังคงมีความสำคัญโดยสามารถใช้เป็นข้อมูลในการตรวจจับเรติคูลไซต์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าและใช้ทรัพยากรในการคำนวณน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ข้อมูลภาพโดยตรง สำหรับงานวิจัยในอนาคตเป็นที่น่าสนใจว่าการใช้ประโยชน์จากสารสนเทศทางสถิติด้านสีร่วมกับข้อมูลภาพตั้งต้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงน่าจะทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของการแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงและการนับเรติคูลไซต์ รวมถึงการรู้จำเซลล์เม็ดเลือดประเภทอื่นๆดีขึ้น อย่างไรก็ตามจะต้องมีการพัฒนาสถาปัตยกรรมภาพแบบใหม่ของโครงข่ายประสาทเทียมที่สามารถรองรับการใช้ข้อมูลภาพร่วมกับข้อมูลสารสนเทศทางสถิติด้านสีเพื่อเป็นข้อมูลนำเข้าได้

เอกสารอ้างอิง

1. Riley RS, Ben-Ezra JM, Goel R, Tidwell A. Reticulocytes and reticulocyte enumeration. J Clin Lab Anal. 2001; 15: 267-294.
2. Briggs C, Bain BJ. Basic haematological techniques. In: Brain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM, editors. Dacie's and Lewis practical haematology. 11th ed. Elsevier Churchill Livingstone. 2012: p 33-36.
3. Bracho FJ, Osorio IA. Evaluation of reticulocyte production index in pediatric population. Am J Clin Pathol. 2020; 154: 70-77.

4. Marks PW. Approach to anemia in the adult and child. In: Hoffman R, Benz, Jr EJ, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J, editors. Hematology: basic principles and practice. 6th ed. Elsevier Saunders. 2013: p 418-426.
5. NCCLS. Methods for reticulocyte counting (automated blood cell counters, flow cytometry and supravital dyes). Approved guideline. 2nd ed. Document H44-A2, Wayne PA: NCCLS; 2004.
6. Piva E, Brugnara C, Chiandetti L, Plebani M, Automated reticulocyte count: state of the art and clinical application in the evaluation of erythropoiesis. Clin Chem Lab Med. 2010; 48: 1369-1380.
7. Kratz A, Bengtsson H, Casey JE, Keefe JK, Beatrice GH, Grzybek DY, et al., Performance evaluation of the CellaVision DM96 system: WBC differentials by automated digital image analysis supported by an artificial neural network. Am J Clin Pathol. 2005; 124(5): 770-781.
8. Park SJ, Yoon J, Kwon JA, Yoon S. Evaluation of the CellaVision advanced RBC application for detecting red blood cell morphological abnormalities. Anal Lab Med. 2021; 41: 44-50.
9. Kratz A, Bengtsson H, Casey JE, Keefe JK, Beatrice GH, Grzybek DY, et al. Performance evaluation of the CellaVision DM96 system: WBC differentials by automated digital image analysis supported by an artificial neural network. Am J Clin Pathol. 2005; 124(5): 770-781.
10. Horn CL, Mansoor A, Wood B, Nelson H, Higa D, Lee LH, et al., Performance of the CellaVision® DM96 system for detecting red blood cell morphologic abnormalities. J Pathol Inform. 2015; 6: 11.
11. Park SJ, Yoon J, Kwon JA, Yoon S. Evaluation of the CellaVision advanced RBC application for detecting red blood cell morphological abnormalities. Anal Lab Med. 2021; 41: 44-50.
12. Abiodun OI, Jantan A, Omolara AE, Dada KV, Mohamed NA, Arshad H. State of the art in artificial neural network applications: a survey. Heliyon. 2018; 4(11): e00938.
13. Kaur J, Singh M, Bains PS, Singh G. Analysis of multi layer perceptron network. Inter J Comput Tech. 2013; 7(2): 600-606.
14. Ajit A, Acharya K, Samanta A. A review of convolutional neural networks. International Conference on Emerging Trends in Information Technology and Engineering; 2020 Feb 24-25; Vellore, India. IEEE; 2020. p. 1-5.
15. Ting FF, Sim KS. Self-regulated multilayer perceptron neural network for breast cancer classification. International Conference on Robotics, Automation and Sciences; 2017 Nov 27-29; Multimedia University, Melaka, Malaysia. IEEE; 2017. p. 1-5.
16. Maity M, Banerjee S, Sinha Chaudhuri S. Faster R-CNN and YOLO based vehicle detection: a survey. 5th International Conference on Computing Methodologies and Communication; 2021 April 8-10; Erode, India. IEEE; 2021. p. 1442-1447.
17. Rachmawati E, Khodra ML, Supriana I. Histogram based color pattern identification of multiclass fruit using feature selection. International Conference on Electrical Engineering and Informatics; 2015 Aug 10-11; Denpasar, Bali, Indonesia. IEEE; 2015. p. 43-48.

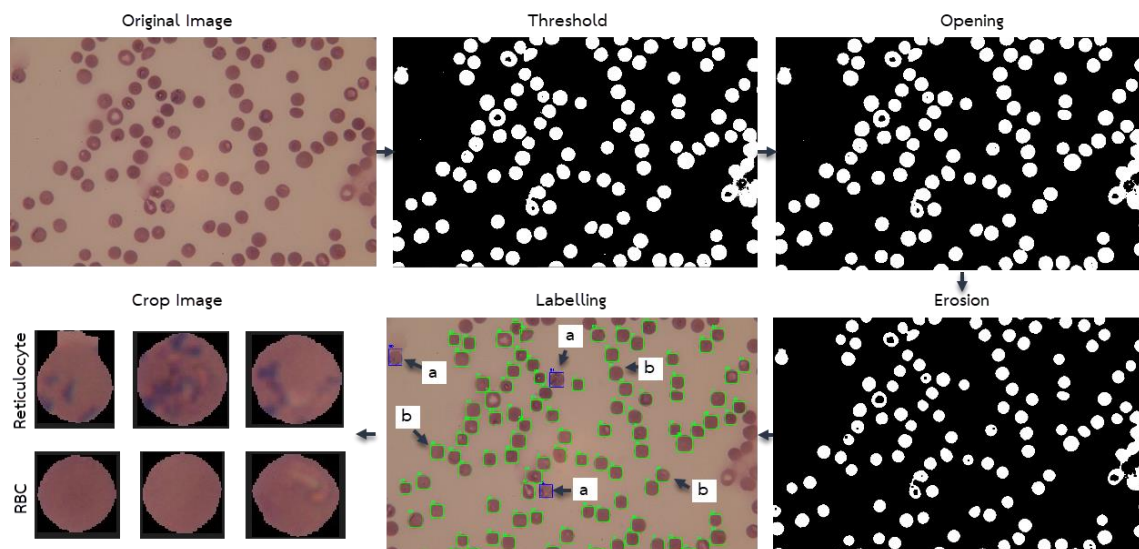
18. Drakus G, Mazur D, Czml A. Automatic detection and counting of blood bells in smear images using RetinaNet. Entropy. 2021; 23(11): 1522.
19. Lamberti WF. Blood cell classification using interpretable shape features: a comparative study of SVM models and CNN-Based approaches. Computer Methods Programs Biomed Up. 2021;1:100023.
20. Parab MA, Mehendale ND. Red blood cell classification using image processing and CNN. SN Computer Sci. 2021; 2(2): 70.
21. Kitchen SF. The demonstration of reticulocyte with wright's stain. Stain Technology 1938; 13: 107-109.
22. Yeldhos M, Peeyush KP. Red blood cell counter using embedded image processing techniques. Research Reports. 2018: e1-e5.
23. Thejashwini M, Padma MC. Counting of RBC's and WBC's using image processing technique. Int J Recent Innov Trends Comput Commun. 2015; 3(5): 2948-2953.
24. Maitra M, Kumar Gupta R, Mukherjee M. Detection and counting of red blood cells in blood cell images using Hough transform. Inter J Comput App. 2012. 53(16): 13-17.
25. Dvanesh VD, Lakshmi PS, Reddy K, Vasavi AS. Blood cell count using digital image processing. International Conference on Current Trends towards Converging Technologies; 2018 Mar 1-3; Coimbatore, Tamil Nadu, India. IEEE; 2018. p. 1-7.
26. Mazalan SM, Mahmood NH, Razak MAA. Automated red blood cells counting in peripheral blood smear image using circular Hough transform. 1st International Conference on Artificial Intelligence, Modelling and Simulation; 2013 Dec 3-5; Kota Kinabalu, Malaysia. IEEE; 2013. p. 320-324.
27. Alomari YM, Sheikh Abdullah SNH, Zaharatul Azma R, Omar K. Automatic detection and quantification of WBCs and RBCs using iterative structured circle detection algorithm. Comput Math Methods Med. 2014; 2014: 1-17.
28. Howard AG, Zhu M, Chen B, Kalenichenko D, Wang W, Weyand T, et al., MobileNets: efficient convolutional neural networks for mobile vision applications. arXiv:1704.04861v1. Web 17 Apr 2017
29. Huang G, Liu Z, van der Maaten L, Weinberger KQ. Densely connected convolutional networks. arXiv:1608.06993v5. Web 28 Jan 2018.

ตารางที่ 1 จำนวนพารามิเตอร์ เวลาที่ใช้ในการฝึกสอนและเวลาที่ใช้ในการประมวลผลของโครงข่ายประสาทเทียม

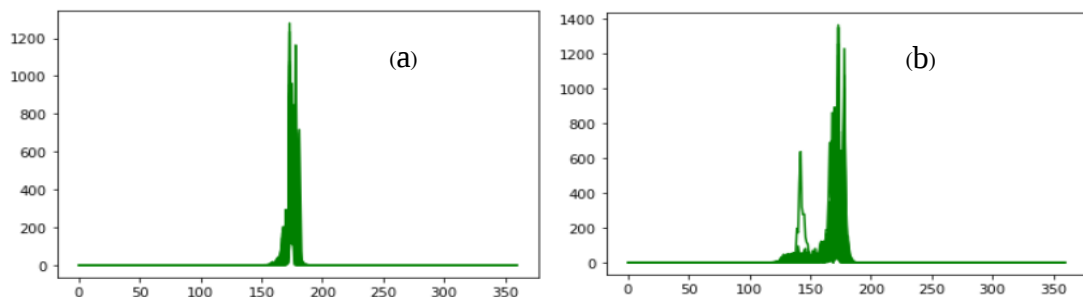
ชื่อโครงข่ายประสาทเทียม	จำนวนพารามิเตอร์	เวลาในการฝึกสอน (วินาที)	เวลาในการทดสอบภาพ (วินาทีต่อภาพ)
MLP-histogram	83,600	58.68	1
MobileNetV2	2,260,546	192	25
ResNet152V2	58,335,746	1,404	35
DenseNet201	18,325,826	1,134	32

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพโดยเฉลี่ยของโครงข่ายประสาทเทียมทั้ง 4 รูปแบบจากการทำ 10-fold cross validation แบ่งข้อมูล 10 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวน 1816 ภาพและเรติคูลโลไซต์จำนวน 64 ภาพ

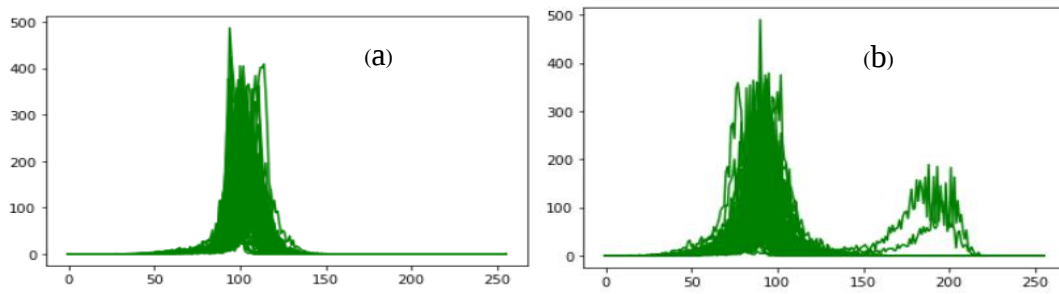
ANN Model	RBC			Reticulocyte			Accuracy (SD)
	precision	recall	F ₁ -score	precision	recall	F ₁ -score	
MLP-histogram	0.99	0.99	0.99	0.69	0.84	0.75	98.06 (1.038)
MobileNetV2	1	0.94	0.97	0.38	0.88	0.52	93.98 (2.697)
ResNet152V2	1	0.95	0.97	0.47	0.94	0.60	95.11 (2.984)
DenseNet201	1	0.95	0.97	0.49	0.92	0.61	95.17 (3.545)



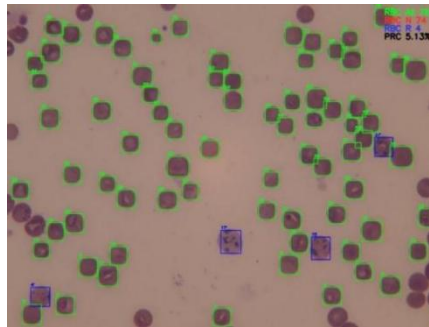
ภาพที่ 1 ขั้นตอนการประมวลผลภาพเชิงดิจิทัลที่ใช้ในการแยกส่วนภาพเซลล์เม็ดเลือดแดง โดย a คือตัวอย่างเรติคูลโลไซต์ที่มี RNA ติดสีย้อมสีน้ำเงินอยู่ภายในเซลล์และ b คือตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติที่ไม่ติดสีย้อมสีน้ำเงินภายในเซลล์



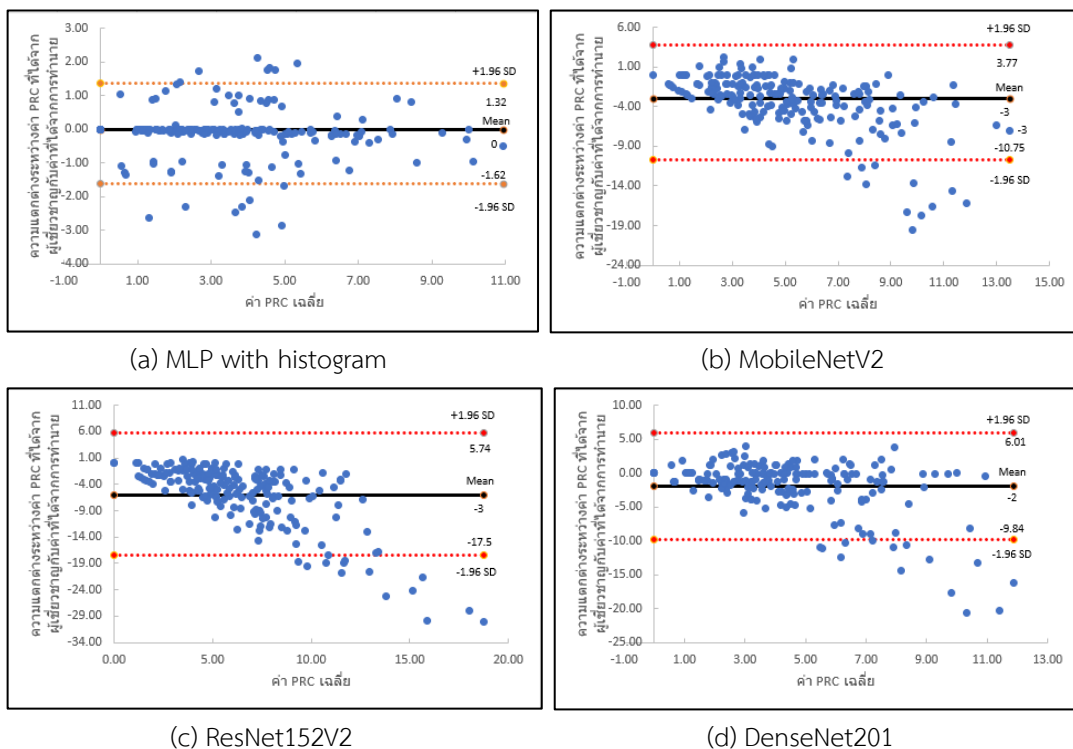
ภาพที่ 2 ฮิสโตแกรมของค่า hue ภายหลังการทำ histogram circular shift (a) ของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดง และ (b) ของเรติคูลโลไซต์



ภาพที่ 3 ฮิสโตแกรมของค่า saturation (a) ของภาพเซลล์เม็ดเลือดแดง และ (b) ของเรติคูโลไซด์



ภาพที่ 4 ตัวอย่างภาพผลการตรวจนับและนับเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบเพอร์เซปตรอนหลายชั้น เซลล์ในกรอบสีเขียวเป็นเม็ดเลือดแดงส่วนเซลล์ในกรอบสีน้ำเงินเป็นเรติคูโลไซด์ที่ตรวจจับได้



ภาพที่ 5 กราฟ Bland-Altman ของความแตกต่างในการตรวจนับเรติคูโลไซด์โดยใช้ (a) MLP with histogram, (b) MobileNetV2, (c) ResNet152V2 และ (d) DenseNet201 เทียบกับการนับของผู้เชี่ยวชาญ