

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİSTOPATOLOJİ İMGELERİNİN BİLGİSAYAR DESTEKLİ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

MUSTAFA NURMUHAMMED

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİLGİSAYAR MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ŞUBAT 2015

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİSTOPATOLOJİ İMGELERİNİN BİLGİSAYAR DESTEKLİ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

MUSTAFA NURMUHAMMED

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİLGİSAYAR MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ŞUBAT 2015

Tezin Başlığı: Histopatoloji İmgelerinin Bilgisayar Destekli Değerlendirilmesi

Tezi Hazırlayan: Mustafa Nurmuhammed

Sınav Tarihi: 20.02.2015

Yukarıda adı gecen tez, jürimizce değerlendirilerek bilgisayar mühendisliği anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Mehmet GÜL
İnönü Üniversitesi

Doç. Dr. Celaleddin YEROĞLU
İnönü Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Metin ERTÜRKLER
(Tez Danışmanı)
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Alaattin ESEN
Enstitü müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduđum “Histopatoloji İmgelerinin Bilgisayar Destekli Deđerlendirilmesi” bařlıklı bu çalıřmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dűşecek bir yardıma bařvurmaksızın tarafımdan yazıldıđını ve yararlandıđım bűtűn kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yűntemine uygun biçimde gűsterilenlerden oluřtuđunu belirtir, bunu onurumla dođrularım.

Mustafa Nurmammed

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HİSTOPATOLOJİ İMGELERİNİN BİLGİSAYAR DESTEKLİ DEĞERLENDİRİLMESİ

Mustafa Nurmuhammed

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı

63+ xi sayfa

2015

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Metin ERTÜRKLER

Sinir hücrelerindeki hasar ve zedelenmeler kaza, travma, tümörler, cerrahi müdahaleler ve inflamatuvar hastalıklar gibi faktörler nedeniyle oluşur. Sinir hücrelerindeki bu hasar sinir tarafından innerve edilen kas hücrelerini etkiler. Sinir hasarını doğrudan gözlemlene her durumda mümkün olmayabilir. Sinir hücrelerinde oluşan hasarın etkisini gözlemlemek için sinir hücreleri ile bağlantılı olan kas hücrelerinin histomorfolojik olarak değerlendirilmesi gerekir.

Sinir hasarlarının tedavisinde bu hasarlı bölgenin yerine sinir otograft (kesilen sinirin tekrar yerine konulması), damar grefti, damar + kıkırdak, kıkırdak gibi dokuların konulmasıyla sinir rejenerasyonunun artırılması hedeflenmektedir. Ancak sinir hücrelerinde yenilenmenin yani rejenerasyonun çok az olduğu bilinmektedir. Bu rejenerasyonun başarısı kas hücrelerine ait histopatolojik doku örneklerinin mikroskopik analizi ile gözlemlenmektedir. Ancak bu yaklaşım kişiye bağımlı, yavaş, hata eğilimli ve tekrar üretilmeyen sonuçlar içerebilir.

Bu çalışma, sinir hücrelerinden doğrudan etkilenen kas hücre dokularına ait imgelerin nicel olarak incelenmesini sağlayan bir Bilgisayar Destekli Tanılama (BDT) sistemi sunmaktadır. Önerilen yaklaşım imgelerde morfolojik işlemler uygulayarak doku içerisindeki kas hücre çekirdeği sayısı ve yoğunluğu, çekirdeklerin doku bileşenlerine olan paralellik oranı, hücre çekirdeğinin uzunluğu, çekirdek boyanmasındaki renk yoğunluğu gibi nicel değerleri uzmana sunarak uzmanın sinir rejenerasyonunda önerilen farklı alternatifleri değerlendirmesinde subjektifliği azaltmayı amaçlamaktadır.

Bu çalışmada Wistar albino sıçanlardan alınmış dört hasarlı ve bir sağlıklı kontrol grubuna ait 530 adet kas hücre dokularından elde edilmiş imgeler üzerinde çalışılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Sinir rejenerasyonu, sinir otograft, kas hücre çekirdeği segmentasyon, imge eşikleme, bilgisayar destekli tanı, kas hücreleri üzerinde imge işleme

ABSTRACT

Master Thesis

COMPUTER ASSISTED ASSESSMENT OF HISTOPATHOLOGY IMAGES

Mustafa Nurmammed

İnönü University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Computer Engineering

63+ xi pages

2015

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Metin ERTÜRKLER

Nerve damage occurs in various ways such as accidents, traumas, surgical operations and inflammatory diseases. Damages in the nerve cells affect muscle cells that are innervated by the nerves. Directly observing the nerve damage may not be possible in all circumstances. To observe the effect of the nerve damage, muscle cells that are connected to the nerve cells need to be histomorphologically evaluated.

In treatment of nerve damages, nerve regeneration is aimed to be enhanced by placing tissues such as nerve auto graft (replacing the cut nerve to its original place), vessel, vessel + cartilage, cartilage in place of the damaged area. However, regeneration in nerve cells is known to be very minimal. The success of regeneration is measured using microscopic analysis of histopathological tissue samples. However, this approach is slow, error prone, irreproducible and also depends on the expert's personal assessment.

This study presents a Computer Aided Diagnosis (CAD) system that enables quantitative assessment of muscle cell tissues that are directly affected by a nerve damage. Proposed approach aims to reduce subjectivity in assessment of various regeneration alternatives by performing morphological operations on images and providing quantitative results of muscle cell nuclei counts and density, the ratio of nucleus' parallelism to the other tissue components, the length of cell nuclei, and the color density of nuclei staining.

This study is carried on 530 images of muscle cell tissues containing four damaged and one healthy control group acquired from Wistar albino rats.

KEYWORDS: Nerve regeneration, nerve autograft, muscle cell nucleus segmentation, image thresholding, computer assisted diagnosis, image processing on muscle cells.

TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın her aşamasında her tŸrlŸ yardım, öneri ve desteklerini esirgemeyen tez danıőmanım Yrd. Doç. Dr. Metin ERTŸRKLER'e;

Tıbbi bilgilerin edinilmesi, histopatoloji imgelerinin elde edilmesi ve uygulamalar sonucu elde edilen sonuçların değerlendirilmesi konularındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Mehmet GŸL, Dr. Yılmaz GEYİK, Doç. Dr. Cemal FIRAT'a;

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak incelenmesindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Cemil ÇOLAK'a;

Ayrıca yŸksek lisans çalıőmalarım sŸresince desteğini esirgemeyen AİLEM'e ve özellikle bu çalışmanın bitimini göremeden vefat eden babam Op. Dr. Muhsin NURMUHAMMED'e

teőekkŸr ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. SAYISAL HİSTOPATOLOJİK İMGELER’İN ELDE EDİLMESİ	4
2.1. Sayısal İmge	4
2.2. Histopatolojik İmgelerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik.....	5
2.2.1. Kas’ın yapısı ve kas hücreleri	5
2.2.2. Sinir hücrelerinin kas hücrelerine etkisi.....	7
2.2.3. Doku hazırlama süreci.....	7
3. İMGE BÖLÜTLEME TEKNİKLERİ ve FİLTRELER.....	15
3.1.1. K-means	15
3.1.2. Watershed.....	16
3.1.3. Alan bazlı bölütleme (Region-based segmentation)	17
3.1.4. Eşikleme (Threshold)	19
4. ÖNERİLEN BDT SİSTEMİ	22
4.1. BDT Sisteminde K-Means Algoritmasının Kullanımı.....	23
4.2. Önerilen BDT Sistemi.....	27
4.3. Ortalama Çekirdek Sayımı.....	28
4.3.1. Çekirdek sayımı için gereken ön işlemler	30
4.3.1.1. İmgenin tümleyenini alma.....	32

4.3.1.2.	RGB imgesini gri tonlamaya dönüştürme.....	33
4.3.1.3.	Kontrast sınırlı adaptif histogram eşitleme (CLAHE)	33
4.3.1.4.	İmge yoğunluk değerlerini ayarlama	34
4.3.1.5.	Bağlı bileşenlerin etiketlenmesi	35
4.3.1.6.	İmge bölgelerinin özelliklerini ölçme	35
4.3.1.7.	Çekirdek olmayan bileşenleri filtreleme	36
4.3.1.8.	Hücre çekirdeklerinin RGB renk değerlerine göre filtrelenmesi	37
4.3.1.9.	RGB imgesini siyah beyaza dönüştürme	38
4.3.1.10.	İmge içerisinden gürültü bileşenlerinin silinmesi	39
4.3.1.11.	1.ve 2. aşama sonucunda elde edilen imgelerin birleştirilmesi.....	40
4.3.1.12.	Bileşenlerdeki boşlukların doldurulması	41
4.3.2.	Çekirdek sayımı için özellik çıkarımı	42
4.3.2.1.	İmge bileşenlerinin özelliklerini çıkarma.....	42
4.3.2.2.	RGB, alan ve şekil özelliklerini kullanarak hücre çekirdeği olmayan bileşenleri ayıklama	42
4.3.2.3.	Ortalama hücre çekirdek sayısını ve uzunluğunu hesaplama	43
4.3.2.4.	Üst üste gelen çekirdekleri hesaplama	44
4.3.3.	Hücre Olmayan Alanları Çıkarma	44
4.3.3.1.	Çekirdek sayısının doku alanına oranını hesaplama	44
4.4.	Ortalama Paralel Çekirdek Oranı	48
4.5.	RGB Renk Modelinde Mavi Renk Yoğunluğu.....	51
5.	DENEYSEL SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	54
6.	SONUÇLAR	58
7.	KAYNAKLAR	60
8.	ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 768x576 piksel çözünürlüğünde sayısal bir imge	4
Şekil 2.2. Kas kesitinin detaylı görünümü	5
Şekil 2.3. Doku takip cihazı	9
Şekil 2.4. Bloklama cihazı.....	9
Şekil 2.5. Parafin ile bloklanmış dokular	10
Şekil 2.6. Mikrotom cihazı	10
Şekil 2.7. Doku boyama cihazı.....	11
Şekil 2.8. Hematoksilen eosin ile boyanmış iskelet kas dokusu preparat örnekleri. 11	
Şekil 2.9. Işık mikroskobu.....	12
Şekil 2.10. Dijital kamera.....	12
Şekil 2.11. Ölçek satırı içeren orijinal imge.....	13
Şekil 2.12. Ölçek çizgisi olmayan bir imge	14
Şekil 3.1. Watershed uygulamasının bir örneği	17
Şekil 3.2. Alan bazlı bölütleme, a) Orijinal imge b) Bölütlenmiş imge.....	19
Şekil 3.3. Doğru eşik değeri ile bölütlenmiş imge	20
Şekil 3.4. Doğru eşik değeri kullanılmaması sonucu elde edilen imgeler	21
Şekil 4.1. Grup 2'den alınan bir imgenin K-Means ile bölütlenmesi.....	24
Şekil 4.2. Grup 2'den alınan bir imgenin K-Means ile üç kümeli bölütlenmesi.....	25
Şekil 4.3. Grup 2'den alınan imgenin K-Means ile dört kümeli bölütlenmesi	26
Şekil 4.4. Kontrol grubundan alınan bir imgenin K-Means ile dört kümeli bölütlenmesi	27
Şekil 4.5. Ortalama hücre sayısı ve uzunluğunu bulmak için kullanılan akış diyagramı.....	29
Şekil 4.6. Grup 2'den alınan bir imge	30
Şekil 4.7. Şekil 4.6'da gösterilen imgenin ölçek çizgisi kaldırılmış hali.....	31
Şekil 4.8. Tümleyeni alınmış imge.....	32
Şekil 4.9. Gri tonlamaya dönüştürülmüş imge	33
Şekil 4.10. Kontrast sınırlı adaptif histogram eşitleme (CLAHE) uygulanmış imge.....	34
Şekil 4.11. Kontrast değeri ayarlanmış imge	35
Şekil 4.12. Çekirdeğe ait olmayan bileşenleri kaldırmak için uygulanan işlemlerden sonraki imge	36

Şekil 4.13. Filtre kullanılarak elde edilen imge.....	37
Şekil 4.14. İmgenin, siyah beyaz imge formatına dönüştürülmüş hali	39
Şekil 4.15. 2. aşama sonucunda elde edilen imge	40
Şekil 4.16. 1. ve 2. aşama sonucunda elde edilen imgeler arasındaki AND operasyonunun sonucu	41
Şekil 4.17. Hücre çekirdeklerindeki boşlukların doldurulması sonucu oluşan imge.	42
Şekil 4.18. Hücre çekirdeklerini içeren diğer bileşenler, arka plan ve gürültüden arındırılmış imge	43
Şekil 4.19. Tespit edilen çekirdekler orijinal imge üzerinde kırmızı daire ile gösterilmiştir.	44
Şekil 4.20. Perimisyum alanları beyaz, endomisyum alanları ise siyah oklar ile gösterilmiştir	45
Şekil 4.21. Perimisyum alanlarını hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı	46
Şekil 4.22. İmgedeki perimisyum alanları	47
Şekil 4.23. Ortalama paralel çekirdek oranını hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı.....	49
Şekil 4.24. İmgenin ortalama açısı yeşil çizgi ile gösterilmiştir	50
Şekil 4.25. Mavi renk yoğunluğunu hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı	52
Şekil 4.26. Sadece mavi tonlarına sahip hücre çekirdeklerini gösteren imge	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1. Sonuçların matematiksel gösterimi	55
Çizelge 5.2. Rastgele seçilmiş beş imgenin elle ve BDT sistemiyle elde edilen sonuçların karşılaştırılması	56
Çizelge 5.3. El ile ve BDT sistemi ile sayım arasındaki farkın gruplara göre ortalamaları	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

BDT	Bilgisayar Destekli Tanılama
CAD	Computer Aided Diagnosis (Bilgisayar Destekli Tanılama)
CT	Computed Tomography (Bilgisayarlı Tomografi)
RGB	Red Green Blue (Kırmızı Yeşil Mavi)
CLAHE	Contrast-limited adaptive histogram equalization (Kontrast Sınırlı Adaptif Histogram Eşitleme)
AND	Mantıksal VE (AND) işlemi
PÇY	Paralel çekirdek yüzdesi
PÇS	Paralel çekirdek sayısı
TÇS	Toplam çekirdek sayısı
PDF	Gaussian olasılık dağılım fonksiyonu (Probability Distribution Function)
p	Olasılık-probability

1. GİRİŞ

Teknolojik ilerlemeler insan hayatında yer almaya başladığından beri yaşamı birçok alanda etkilemekte ve daha yeni teknolojilerin ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır. Teknolojik ilerlemeler sağladığı faydalar ile insan hayatını kolaylaştırmaktadır. İnşaat'tan sağlığa, denizcilikten askeri alana kadar birçok sektörde teknoloji hayatın vazgeçilmez bir parçası olmuştur.

İnsan hayatının en önemli unsurlarından biri sağlıktır. Birçok faaliyeti gerçekleştirebilmek için insan sağlığının iyi bir düzeyde olması gerekmektedir. Bilim insanları sağlık üzerine çalışmalar yaparak genel olarak yaşam kalitesini artırmayı hedeflemektedirler. Bu çalışmalar neticesinde sağlık ile ilgili bir teknoloji sektörü ortaya çıkmıştır.

Teknoloji sağlık sektöründe de birçok alana ayrılmıştır. Örneğin radyoloji bölümünde görüntüleme ağırlıklı cihazlar kullanılırken, laboratuvar bölümündeki cihazlar veri üreterek doktorlara hastalıkla ilgili emareler sağlamaktadırlar. Öte yandan cerrahi anlamda da sistemler geliştirilmiş ve bir cerrahın bir şehirden başka bir şehirdeki hastayı ameliyat edebilmesi mümkün hale gelmiştir. Hastaların tıbbi geçmişleri elektronik ortamda saklanarak uzun vadede bu bilgiler ışığında teşhisler konulabilmektedir. Görüldüğü gibi bilgisayarlı sistemler tıp alanındaki birçok ilerlemeye öncülük ederek yeni sistemlerin araştırılmasına ve geliştirilmesine imkân sağlamıştır.

Teknoloji ve bilgisayar sistemlerinin sağlık sektöründe önemli olduğu alanlardan biri de tanılama sistemleridir. Tanılama sistemlerinin etkin olarak kullanımı ilk olarak 1960'lı yıllarda başlamıştır. Özellikle 1990'lı yıllarda dünyada yaşanan teknoloji devrimiyle, bilgisayar sistemleri çok hızlı bir şekilde gelişmiş ve tıbbi alanda yapılan sistemlerin etkinliği ve yaygınlığı artmıştır. Doktorların hastalığı teşhis etmede kullandıkları tetkikler, görüntüler, tahlil sonuçları gibi birçok veri artık bilgisayar sistemleri ile üretilmektedir. Bu gelişmeler sonucu ortaya çıkan Bilgisayar Destekli Tanılama Sistemleri, BDT (Computer Aided Diagnosis), doktorlara nicel veriler sunarak bir yandan iş yüklerini azaltmakta öte yandan ise hastalıkların doğru teşhisi için gerekli çok önemli nicel veriler sunmaktadır. Aynı zamanda BDT sistemi ile elde edilen bu değerler bir tanılamamanın karar verme sürecinde doktorlara daha fazla güven sağlamaktadır. Ayrıca, BDT sistemlerinin kullanılması ile birlikte iş yükü azalmakta, tanılama ve tedavi süreci ise hızlanmaktadır. Günümüzde, uzmanlar

değerli vakitlerinin çoğunu rutin vakalar için harcamaktadırlar. Örneğin, her yıl ABD'de gerçekleştirilen 1 (bir) milyon prostat biyopsisinin yaklaşık % 80'i iyi huyludur ve bu iyi huylu dokuyu elemek için harcanan süre uzmanların yaklaşık mesaisinin % 80'ine eşittir [1]. Bu tür vakalar için harcanan iş yükü azaltılabilirse, uzmanlar tanılması zor olan diğer karışık vakalara daha fazla zaman ayırabilirler.

Bilgisayar Destekli Tanılama sistemleri verileri sayısal olarak hesaplayıp işlediğinden hata payını minimize etmektedir. Fakat unutulmamalıdır ki sayısal sistemlerde de bazı durumlarda kullanıcı veya cihaz kaynaklı hatalar veya aksaklıklar oluşabilir, cihazların bakımları zamanında yapılmayabilir ve bu gibi durumlarda ise ölçümlene ayarları bozulup hatalı sonuç üretebilirler. Bu hata oranları sistemden sisteme farklılık gösterebilir. Hata payı az da olsa mevcut olabileceğinden uzmanlar tarafından sonuçlar hatalara karşı incelenmelidir. Konunun odağında sağlık olduğundan tıbbi görüntülerdeki veya verilerdeki bazı hatalar eğer sistemin düzgün sonuçlar üretmesine engel oluyorsa, doktorlar bu problemi görüp hatalı bir karar vermekten kendilerini korumalıdır. Bu yüzden Bilgisayar Destekli Tanılama sistemlerinin ürettiği sonuçlar otomatik olarak kabul edilmemeli ve diğer verilerle veya göz ile inceleme sonucunda tutarlılığı karşılaştırıldıktan sonra karar verilmelidir.

BDT sistemleri çeşitli hastalıkların tanısı için önerilmektedir ve özellikle kanserin erken tanısında önemli olabilecek veriler sunmaktadır. Örneğin erken evrelerde meme kanserinin tarama ve mamografi ile teşhis edilmesi daha fazla tedavi seçenekleri ve daha yüksek hayatta kalma oranları sağlar [2]. Buna ek olarak, mamografi görüntülerindeki meme mikrokalsifikasyonların algılanması ve sınıflandırılması, kemik iliği preparasyonlarından beyaz hücrelerin farklılaşma sayımı, reaktif histiositik hiperplazi teşhisi için hücre sınıflandırması, doku kesitlerindeki lenfositlerin yüksek verimli topolojik analizi, hematik hücrelerin şekil ve renk olarak sınıflandırılmaları BDT sistemlerinin aktif olarak kullanıldığı çalışma alanları arasındadır [3]. Akciğerdeki kistleri karar ağaçlarını kullanarak bulmaya yarayan bir BDT sistemi önerilmiştir [4]. Bu çalışmada Bilgisayarlı Tomografi (Computed tomography-CT) imgelerindeki morfolojik özellikler ve hastaların bilgileri kullanılarak radyoloji uzmanlarının karar aşamasında kullandıkları küçük kist oluşumlarının tespit edilmesi sağlanmıştır. Başka bir çalışmada ise araştırmacılar troid bezlerinin ultrason görüntülerinde oluşan fazlalıklar veya yapay objeleri otomatik olarak temizlemek için bir BDT sistemi geliştirmişlerdir [5]. Bu

çalışmada fazla veya yapay objelerin histogram özellikleri çıkarılarak otomatik olarak algılanıp ultrason görüntülerinin orijinal hallerine dönüşmesi sağlanmıştır. Yukarıda verilen çalışmalar, BDT sistemlerinin hastalıkların teşhis ve tedavisinde ne kadar avantajlı olabileceğini göstermektedir.

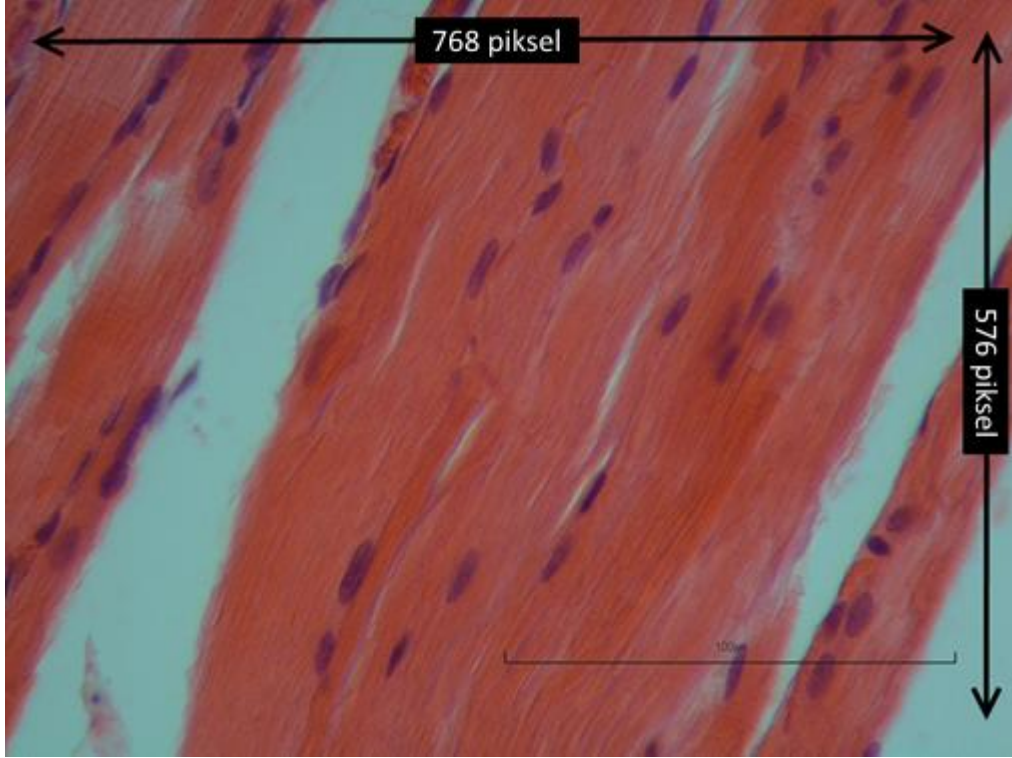
Bu tez çalışmasında daha önce sinir rejenerasyonu ile ilgili olarak gözleme dayalı histopatolojik ve fizyolojik yöntemlerle yapılan bir araştırma için bir BDT sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Daha önce yapılan araştırmada sinir tarafından innerve edilen kas dokularında SFI (The Sciatic Function Indexes), gecikme ve şiddet (güç) parametreleri kullanılarak hangi grubun sağlıklı dokuya en yakın olduğu gözlemlenmeye çalışılmıştır [6]. Önerilen BDT sisteminde, imgelerin morfolojik özelliklerinden elde edilen nicel veriler kullanılarak hangi grubun sağlıklı gruba en yakın değerlere sahip olduğunun bulunması hedeflenmektedir.

BDT sistemleri genel olarak iki ana işlem gerçekleştirirler; segmentasyon ve sınıflandırma. Histopatolojik görüntüleri kullanarak bir doku hasarını tanılamak veya derecelendirmek için genellikle görüntü özelliklerinin belirlenmesi gerekir. Hücrelerin birim alandaki sayıları, genişlik, uzunluk ve görünüşleri dokuların sağlık durumunun önemli göstergelerindedir [1]. Özellikle, hücre sayıları bazı kanser hastalıkları başta olmak üzere belirli koşullarda hastalıkların teşhisinde önem arz edebilir. Bu sayılar, özellikle hastalık derecelendirilmesi ve genel tanılamada önemlidir [7,8]. Bu çalışmada da kas dokusundaki hücre sayısı, hücre çekirdeği morfolojisi ve hücrelerin doku içerisindeki konumuyla ilgili bilgiler kullanılarak, sinir hasarlı gruplar ile sağlıklı kontrol grubu arasındaki benzerlik ölçülmeye çalışılmıştır.

2. SAYISAL HİSTOPATOLOJİK İMGELER'İN ELDE EDİLMESİ

2.1. Sayısal İmge

Sayısal bir imge, piksel olarak adlandırılan elemanlardan oluşan iki boyutlu bir matristir. Bu matris içerisindeki her bir piksel $I(x,y)$ ile tanımlanır. Burada x , pikselin yatay konumunu; y , dikey konumunu ve I ise pikselin parlaklık değerini belirtir. Sayısal bir imgenin kalitesi parlaklığın kaç bit ile temsil edileceği ve imge içerisindeki piksel sayısı ile ilişkilidir. İmge içerisindeki piksel sayısı imge çözünürlüğü olarak da adlandırılır. Sayısal bir imge renkli, gri ve siyah beyaz renk formatlarında oluşabilir. Tez çalışmasında kullanılan 768x576 piksel çözünürlüğündeki sayısal bir imge Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

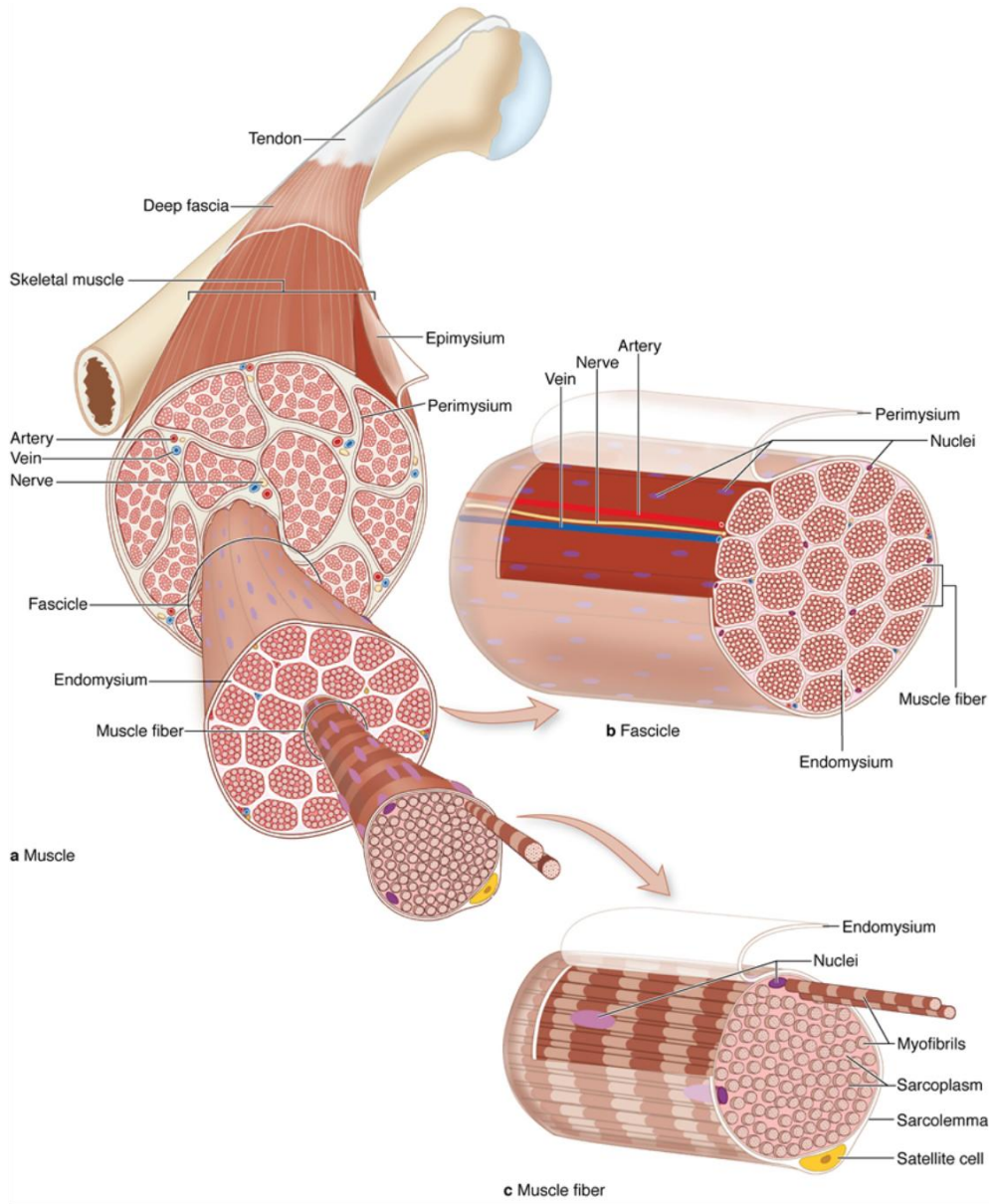


Şekil 2.1. 768x576 piksel çözünürlüğünde sayısal bir imge

2.2. Histopatolojik İmgelerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik

2.2.1. Kas'ın yapısı ve kas hücreleri

İskelet kası dokusu mikroskopik olarak uzun, silindirik şeklinde, enine çizgili kas liflerinden oluşmaktadır. Çoğu kaslarda liflerin boyu kasın boyundan daha kısa olup bir uçları tendon ile bağlantı yaparken öteki uçları kas lifleri arasındaki bağ dokusu septumlarında (bölmelerde) sonlanır. Bu yapı Şekil 2.2 ile gösterilmiştir [9]. Bazı kaslarda lifler kesintiye uğramaksızın kas boyunca da uzanabilirler. Kas liflerinin uzunlukları buldukları kasa göre 0.5 mm ile 10-12 cm arasında değişir. Çapları ise 10 ile 100 mikrometre arasındadır.



Şekil 2.2. Kas kesitinin detaylı görünümü

İskelet kas lifi çok çekirdeklidir ve çekirdek sayısı kas lifinin çeşidine ve uzunluğuna göre değişir. Çekirdekler oval-mekik şekillidirler, kas hücresinin periferik kısmında hücre zarı altında kas lifinin uzun eksenine paralel yerleşmişlerdir. Kas lifi miyofibrilleri, kas lifi içerisinde yerleşik 1-2 mikrometre çapında silindirik yapılar olup uzunlukları lifin uzunluğuna eşittir. Lif boyunca lifin uzun eksenine ve birbirlerine paralel şekilde düzenlenmişlerdir. Işık mikroskopunda uzunlamasına birbirini izleyen farklı yapı ve özelliklere sahip koyu ve açık segmentler şeklinde görülürler. Tespit edilmiş ve boyanmış kesitlerden koyu segment kuvvetli boyanırken bunu izleyen açık segment histolojik boyaları zayıf tutar ve açık renkte boyanır. Polarizasyon mikroskobu ile boyaları kuvvetli tutan koyu renkte boyanan segment ışığı çift kırar (anizotropi) ve buna A segmenti denir. Buna karşılık boyaları zayıf tutan ve açık renkte boyanan segment polarize ışığın düzlemini değiştirmez (izotropi) ve buna I segmenti denir. Çizgili iskelet kası lifi içinde lifin uzun eksenine paralel seyreden bütün miyofibrillerin aynı segmentleri yan yana ve aynı hizada yerleşiktir. Bu nedenle kas lifi birbiri arkasına düzenli sıralanmış, yukarıda belirtilen şekilde boyuna kesitlerde koyu ve açık segmentlere sahip olarak görülürler. Enine kesitlerde ise köşeli poligonal şekilli görülürler.

İskelet kası liflerinin birçoğu birbirine paralel gruplar oluşturarak bağ dokusu ile sarılı primer demetler oluştururlar. 4-5 primer demet sekonder demeti birçok sekonder demet de bir araya gelerek tersiyer kas demetlerini oluştururlar. Kası dıştan saran bağ dokusu tabakasına epimisyum denir. Epimisyum bağ dokusu Şekil 2.2 içerisinde gösterilmiştir. Bu bağ dokusu tabakasından başlayan ince bağ dokusu bölmeler kas içine girerek bütün demetleri kuşatır. Bu demetler etrafındaki bağ dokusu kılıfına da perimisyum denir. Şekil 2.2 içerisinde perimisyum yapısı gösterilmiştir. Primer demetleri içinde ve kas lifleri arasında ise perimisyumdan ilerleyen daha gevşek ve ince bir bağ dokusu kılıf görülür buna da endomisyum denir. Bu şekilde bağ dokusu devamlı bir stroma halinde kasın kontraktıl yapıları olan lifleri ve demetleri birbirine bağlayarak bunların fonksiyonel bütünlüğünü ve sekronizasyonunu sağlar.

İstemli çalışan iskelet kası dokusunun sinirleri serobro-spinal motor ve duyuşal sinirlerdir. Motor sinirler lifler üzerinde motor plaklar denilen sonlanmaları oluştururlar. Motor son plakta başlayan depolarizasyon (uyarılma) kas hücresi yüzeyi boyunca lifin derinlerine doğru yayılır ve kasılma siklusunu (döngüsü) başlatır. Depolarizasyon sona erdiğinde ise kas gevşer.

2.2.2. Sinir hücrelerinin kas hücrelerine etkisi

Tek bir sinir lifi bir kas lifini uyarabilir veya dallanarak 200'e yakın sayıda kas lifinin uyarılmasını sağlayabilir. Çoklu uyarım durumunda bir sinir lifi ve onun uyardığı tüm kaslara motor ünite adı verilir. Çizgili kas lifleri aşamalı kasılma göstermezler. Ya boylu boyunca kasılırlar ya da hiç kasılmazlar. Bir kasın ince hareketler oluşturabilme yeteneği o kasın motor ünitelerinin boyutuna bağlıdır. Örneğin, göz kasları ince kontrol edildiği için her bir lif değişik sınırlar tarafından inerve (uyarılma) edilir. Daha kaba hareketlere sahip olan büyük kaslar ise (ör: Ekstremiteler kasları (kol ve bacak)) tek bir sinir lifi 100'den fazla kas lifini uyarır [10,11].

Kas liflerinin yapısal ve fonksiyonel devamlılığı sinir iletimi ile aldıkları elektriksel sinyaller ve tendonlar aracılığıyla kemiklere bağlanmalarıyla oluşan mekanik gerilime bağlıdır. Dejeneratif kas ve sinir hastalıkları sinir kesileri veya kullanılmamaya bağlı atrofi (dejenere olup küçülme) sırasında progresif bir takım dejenerasyon değişiklikleri oluşmaktadır. Bu dejenerasyon sürecinin temel göstergeleri kas dokusu kaybı kas liflerindeki normal yapılanmadan değişik derecelerde sapmalar, bağ dokusu artışı ve özellikle erken dönemde lökosit geç dönemde ise yağ hücresi infiltrasyonudur. İnervasyonun sonlanması kas dokusunda hızlı bir yıkıma neden olur. İskelet kası atrofisi kas lifi çapının ve/veya kas lifi sayısının kas dokusunun kontraktıl elemanlarının kaybıdır. Sinir uyarı iletiminin kesildiği durumlarda kas hücresi içerisindeki kontraktıl proteinlerinin ve miyofibrillerin yıkım hızı yenilenme hızından daha fazladır. Dolayısıyla bu süreç kas atrofisi şeklinde gelişir. Kas atrofisinin deneysel olarak oluşturmaya yönelik farklı hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller kas atrofisinin fizyopatolojisinin anlaşılmasında ve dolayısıyla da tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi çalışmalarında önemli bir yere sahiptir [12].

2.2.3. Doku hazırlama süreci

Mikroskop altında incelemede kullanılmak üzere imgelerin elde edilmesi için önce sıçanların (Wistar albino) sol tarafı traş edilir ve povidon-iyodin ile temizlenir.

Sonrasında ise temizlenen alana eğik gluteal (ilyeye ait) kesi cerrahi işlemi uygulanmaktadır. Siyatik sinir açığa çıktıktan sonra, sinirden bir santimetrelilik bir

parça alınarak hasar oluşturulur. Dört hasarlı grupta yapılan işlemlerin detayları aşağıdaki gibidir:

- Grup 1: Kesilmiş sinir segmenti otogreft olarak orijinal sinir parçası yerine konuldu.
- Grup 2: Hasarlı alan allojenik aort greft (damar) ile dolduruldu.
- Grup 3: Önce sıçan'ın kulağından bir parça kıkırdak alınarak doğrandı. Daha sonra, allojenik aort greft (damar) içine yerleştirilip, hasarlı bölgeye uygulandı.
- Grup 4: Sıçanın kulağından otojen kıkırdak greft alındı ve bu parça tübülerize edilerek hasarlı bölgeye uygulandı.
- Grup 5: Bu grup kontrol grubu olduğundan herhangi bir işlem yapılmadı.

Cerrahi işlem sonrası sinirlerin rejenerasyonu ve kas hücreleri üzerinde etkisini görmek için 12 haftalık bir süre boyunca beklenilir. Bu 12 haftalık süre sonunda siyatik sinirlerle inerve olan (sinir sistemine bağlanan) kas dokuları incelenmek üzere çıkarılır. Alınan kas doku örnekleri 48 saat süresince %10'luk nötral tamponlanmış formaldehit solisyonunda tespit edilir. Tespit işlemini takiben artan derecelerdeki (%70-%99.9) etil alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon sağlanır. Dehidrate olan kas dokuları ksilen (Xylol) basamaklarından geçirilerek şeffaflaştırılır. Şekil 2.3'te bu işlemleri yapmaya yarayan doku takip cihazı görülmektedir.

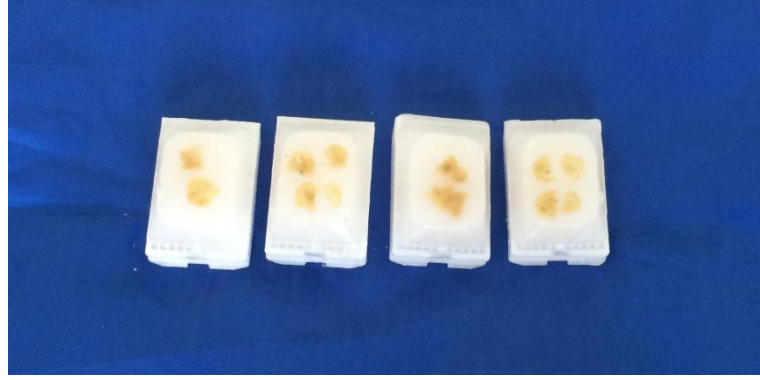


Şekil 2.3. Doku takip cihazı

Şeffaflaşan dokular 60°C derecelik erimiş parafin ile 4 saat süresince muamele edildikten sonra doku örnekleri parafin blokları içerisine gömülür. Kullanılan bloklama cihazı Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Bloklama cihazı



Şekil 2.5. Parafin ile bloklanmış dokular

Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 6 µm kalınlığında kesitler alınarak lamalar üzerine Şekil 2.6'daki gibi yerleştirilir.



Şekil 2.6. Mikrotom cihazı

Alınan kesitler, rutin histolojik doku boyası olan hematoksilin-eosin ile Şekil 2.7'de gösterilen doku boyama cihazı ile boyanır.



Şekil 2.7. Doku boyama cihazı

Boyanan kas dokusu örnekleri aşağıda Şekil 2.8'deki gibi bir görüntüye kavuşur.



Şekil 2.8. Hematoksilen eosin ile boyanmış iskelet kas dokusu preparat örnekleri

Boyanan bu kas doku örnekleri Şekil 2.9'da gösterilen ışık mikroskobunda (Nikon Optiphot-2, Nikon Corporation, Tokyo, Japonya) x40 objektif büyütmede incelenerek fotoğraflar Şekil 2.10'da gösterilen dijital kamera (Nikon DS-Fi2-L3 dijital kamera-1/50 sn pozlama süreli) ile alınır. Tüm görüntüler aynı optik zoom ve ölçek kullanılarak elde edilir.



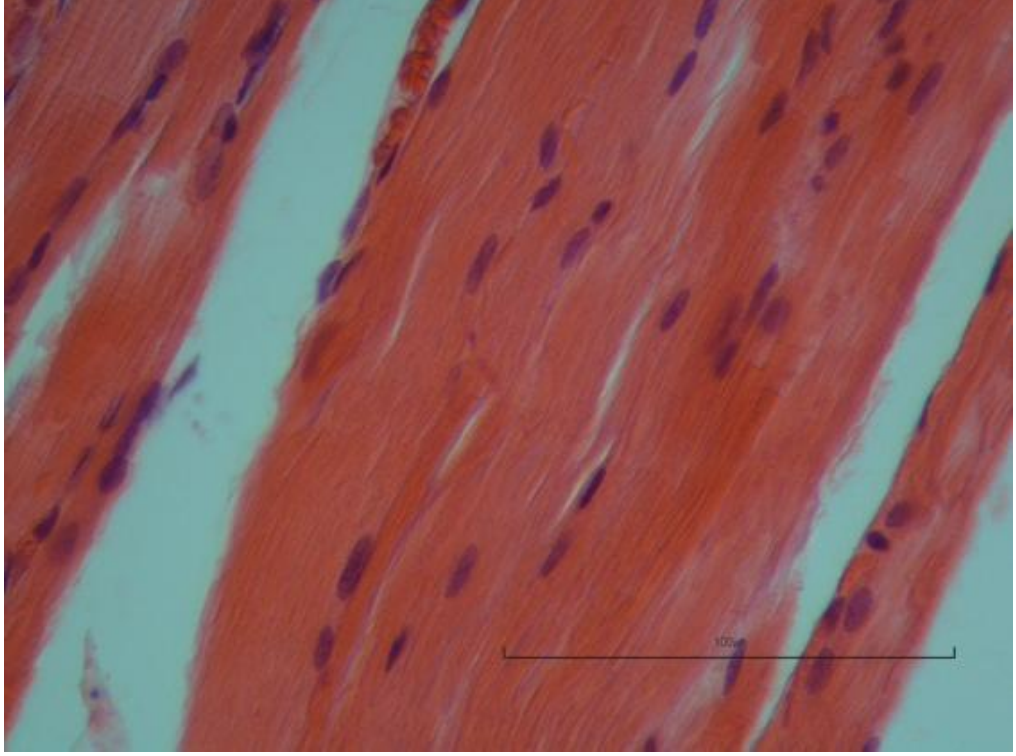
Şekil 2.9. Işık mikroskobu



Şekil 2.10. Dijital kamera

Dijital kamera ile elde edilen orijinal imgeler 2560x1920 piksel çözünürlüğe sahiptir. Uygulamanın çalışma süresini azaltmak ve BDT uygulamasının etkinliğini artırmak için, imgeler 24 bit renk derinliği olan 768x576 piksel çözünürlüğüne dönüştürülmüştür. Ancak aynı imgenin farklı çözünürlüğüne sahip iki versiyonunun uygulama açısından farklı sonuçlara sahip olup olmadığını belirlemek için her iki imge BDT uygulamasında test edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda bir farklılık

oluşmadığı görülmüştür. Deney sonuçları açısından bir fark olmadığı için, uygulamada daha düşük çözünürlüklü imgeler kullanılmıştır. BDT sistemi içerisinde kullanılan bir imge Şekil 2.11'de gösterilmiştir.

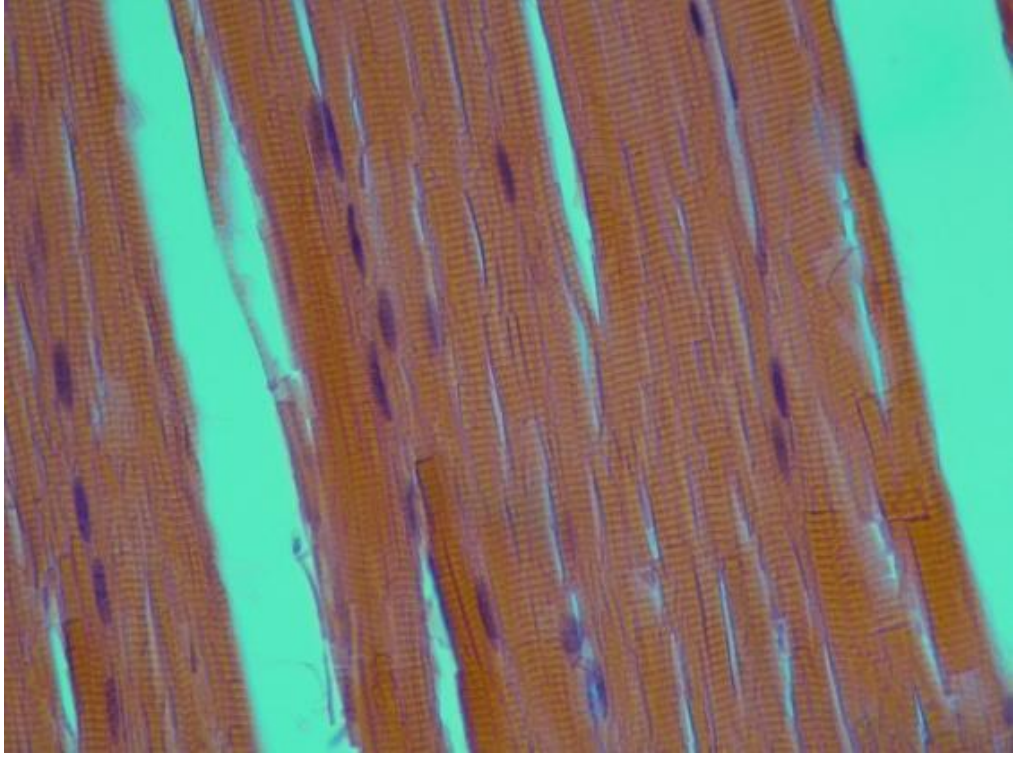


Şekil 2.11. Ölçek satırı içeren orijinal imge

Histopatolojik imgelerin segmentasyonu imgelerin tipik karmaşık yapısından dolayı oldukça zor bir işlemdir. İmge özellikleri incelendiğinde, imgelerden aşağıdaki nitelikler çıkarılmıştır:

- İmgeler aynı çözünürlük değerlerine sahiptir.
- İmgeler farklı boyut ve şekillerde kas hücrelerini ihtiva etmektedir.
- İmgeler, mavi tonlarında hücre çekirdekleri ve beyaz tonlarında renk değerlerine sahip hücresel doku alanları içermektedir. Bu beyaz alanlar Endomisyum, (her kas lifini saran katman) ve Perimisyum (kas lif gruplarını saran katman) adı verilen iki bileşenden oluşur.
- İmgeler hücre çekirdeklerinin yanı sıra, çoğunluğu pembe tonlarında kas hücre stoplazmaları barındırmaktadır.
- Bazı imgelerin sağ alt köşesinde ölçek çizgisi bulunmaktadır.

- İmgeler, yöntem bağımlı kesit kalınlığı ve farklı zamanlarda elde edilmesinden dolayı farklı kontrast değerlerine sahiptir.
- İmgelerdeki bileşenler (çekirdek, sitoplazma vb.) aynı rengin farklı tonlarına sahip olabilmektedir.



Şekil 2.12. Ölçek çizgisi olmayan bir imge

Şekil 2.11 ve Şekil 2.12'den de görülebileceği gibi çalışmada kullanılan imgeler belirtilen özellikler açısından farklılık göstermektedir. Önerilen BDT sistemi imgelere ait morfolojik özellikleri çıkartırken imgelerin farklılık gösteren özelliklerinden etkilenmemesi gerekir.

3. İMGE BÖLÜTLEME TEKNİKLERİ ve FİLTRELER

Histopatolojik imgelerin bölütlenmesi, özellikle hücre bölütlenmesi, son yıllarda üzerinde oldukça çalışılan bir araştırma alanıdır. Bu amaçla literatürde birçok bölütleme algoritması önerilmiştir [13,14-18]. K-means [14,19], Bulanık (Fuzzy) c-means [16], beklenti maksimizasyonu (Expectation Maximization) [19], watershed [14,15] algoritmaları araştırma alanlarında kullanılan popüler segmentasyon algoritmalarından bazılarıdır. Bu algoritmalarından bazıları aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır.

3.1.1. K-means

K-means [19] kümeler arasındaki düşük benzerliklere karşı yüksek benzerlikleri kullanarak bir nesneyi k küme sayısına ayıran ve literatürde yaygın olarak kullanılan bir bölütleme algoritmasıdır. Algoritma küme nesnelere ve küme ortalaması (merkezi) arasındaki toplam mesafeyi minimize etmeyi amaçlar. Bu mesafe, Öklid Mesafe Hesaplama Yöntemi kullanılarak elde edilir. Örneğin iki kümeli bir ortamda, bir nesne belirli bir küme merkezine yakın ise, nesne o kümenin bir üyesi olur.

K-means'in minimize etmeyi amaçladığı J fonksiyonu denklem 3.1'de verilmiştir.

$$J = \sum_{j=1}^K \sum_{i \in S_j} |x_i - \mu_j|_2^2 \quad (3.1)$$

J : n veri noktalarından ilgili küme merkezlerine olan Öklid mesafesinin karesi

x_i : j kümesinden bir veri noktası

μ_j : j kümesinin küme merkezi.

Renkli bölütleme için, x_i (kırmızı, mavi, yeşil) üç boyutlu bir vektörü temsil eder ve bu sayı herhangi bir boyut için artırılabilir [21].

Dezavantajları:

- Genellikle global optimum çözümün yerine, yerel optimal çözüm ile sonuçlanır [20].

- Farklı başlangıç değerleri için farklı çıkış değerleri üretebilir.
- Anormal değerlere karşı duyarlıdır. Bu değerler sonuçları kolayca etkileyebilir.

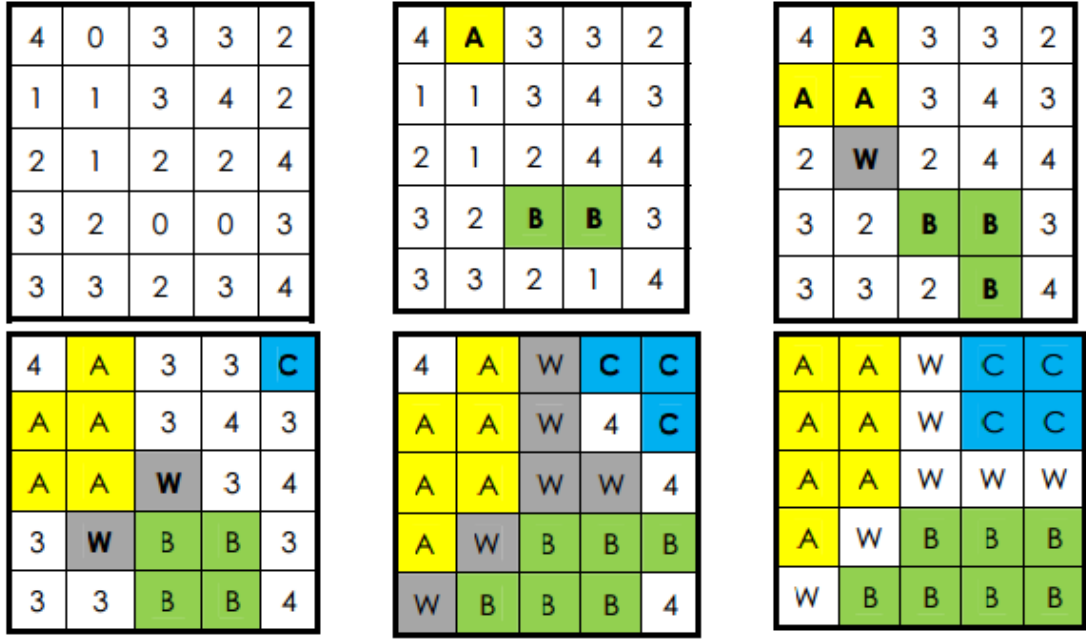
3.1.2. Watershed

Watershed kelime olarak iki nehir veya havza arasındaki set anlamına gelmektedir. Watershed algoritması bir imgedeki nesnenin topolojik özelliğini kullanır. İmgeler dağ ve vadi içeren bir yüzey gibi düşünülerek nesnenin gri değerleri yükseklik olarak düşünülür ve bu noktalar üzerinden nesnenin sınırları belirlenir. Burada imgedeki nesnelerin parlaklık değerleri eğim olarak kabul edilir. Buna göre de farklı eğimler arasındaki alanlar ayrılır.

Aşağıda havuzlama (watershed) yönteminin aşamaları verilmiştir.

1. İmge matrisindeki aynı parlaklık değerine sahip pikseller gruplanır.
2. Parlaklık değeri düşük olan piksel gruplarından başlanarak havzalar oluşturulur. Komşuluk ilişkisi olmayan noktalar farklı havzalar olarak kabul edilir.
3. Havzalarda sekiz yönlü komşuluk bağı aranır. Her iki havzaya komşuluğu bulunanlar sınır olarak kabul edilir.
4. Havzalardan birine komşuluğu olmayan nokta yeni bir havza olarak kabul edilir ve önceki aşama tekrar uygulanır.
5. "1" değeri seviyesindeki bütün pikseller etiketlendirilince watershed noktalarının dört yönlü komşulukları incelenir.
6. Seviye bir artırılır.
7. Tüm piksellerin etiketlendirilmesi bitene kadar bu işlemlere devam edilir.

Uygulamalarda pürüzsüz eğimi olan yüzeylerin bulunması zordur. Genellikle küçük çukurlar veya yüzeyde engebeli sayılabilecek gürültüler mevcuttur. Bu gürültü nedeniyle aşırı bölütleme (over segmentation) durumu yaşanabilmektedir. Bunun önüne geçmek için yüzeylerin gürültüleri minimum değere indirgenmeli veya bazı iç eşik değerlerinin değerlendirme dışı bırakılması gerekmektedir. Şekil 3.1'de Watershed algoritmasının bir uygulaması verilmiştir [22].



Şekil 3.1. Watershed uygulamasının bir örneği

3.1.3. Alan bazlı bölütleme (Region-based segmentation)

Bu algoritma diğerlerinden farklı olarak kenar bulmak yerine direk alan bulmaya yöneliktir. Region-Based Segmentation yani alan bazlı bölütlemenin genel olarak matematiksel formülasyonu aşağıda denklem 3.2-3.6'da verilmiştir [24].

Tüm alan R ve alt alan sayısı n olarak kabul edilirse; R_1, R_2, \dots, R_n gibi

$$\bigcup_{i=1}^n R_i = R \quad (3.2)$$

R_i birbirine bağlı alan $i=1,2,\dots,n$

$$R_i \cap R_j = \emptyset, i \neq j \quad (3.3)$$

$$P(R_i) = \text{doğru} \quad \forall i \quad (3.4)$$

$$\text{Birbirine komşu herhangi } R_i \text{ ve } R_j \text{ için } P(R_i \cup R_j) = \text{yanlış} \quad (3.5)$$

$P(R_k)$: R_k noktalarında tanımlı mantıksal operatör

Region growing algoritması alan bazlı bölütlemeye örnektir. Bu metotta önceden tanımlanan gri ton değerine veya desen kriterlerine göre pikseller veya küçük alanlar gruplandırılır. Bir grup çekirdek nokta olarak seçilir ve bu noktalar

dışa doğru her bir pikseli ilgili çekirdeğe atayarak büyütülür. Burada noktaların çekirdeklere atanmasında noktaların çekirdek ile benzerliklerinde (renk, doku, moment, bağlanabilirlik) değerlerine bakılır [23,24].

Bu algoritmanın çalışma adımları aşağıda verilmiştir:

1. İmge içerisinden çekirdek nokta grubu seçilir.
2. Herhangi bir çekirdek noktasına atanmamış pikseller bir çekirdeğe atanır. Bu işlem tüm pikseller için tekrarlanır ve dolayısıyla çekirdek alanları gitgide büyür.
3. Benzerlik, pikselin yoğunluk değeri ile alanın ortalama değeri (δ) arasındaki farktan yola çıkılarak hesaplanır.
4. Piksel bu farkın en düşük olduğu alana atanır.
5. Bu süreç tüm pikseller bölgelere atanana kadar devam eder [23].

Bu tipteki algoritmalar genellikle aşağıdaki ortak noktalara sahiptirler.

- Bir bölge veya alandaki yoğunluk Gaussian dağılımına uygun olmalıdır.
- Her bir bölge veya alandaki yoğunluk diğerlerinden farklı olmalıdır [25].

Bir alandaki Gaussian tahmin dağılım fonksiyonu (probability distribution function-pdf) denklem 3.6'da verilmiştir:

$$p_{a_i, \sigma_i}(u) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_i^2}} e^{-\frac{(u-a_i)^2}{\sigma_i^2}} \quad (3.6)$$

α = ortalama

σ^2 = standart sapma

Avantajları:

- Aynı özelliklere sahip alanların düzgün bir şekilde ayırt edilmesini sağlar.
- Bölütlenmiş imgeyi net kenar çizgileriyle sunabilir [23].

Bu algoritmanın bazı dezavantajları şöyledir:

- Hesaplama zaman ve harcanan enerji açısından maliyetlidir.

- Gürültü veya yoğunluktaki değişkenlikler deliklere veya aşırı bölütlemeye sebep olur. Aşırı bölütlenmeye örnek bir resim Şekil 3.2.b’de gösterilmiştir [25].



Şekil 3.2. Alan bazlı bölütleme, a) Orijinal imge b) Bölütlenmiş imge

- İmgelerin gölgelerini ayırt edemeyebilir [23,24].

3.1.4. Eşikleme (Threshold)

İmge bölütlemenin temel mantığı eldeki imgeyi istenen özelliklere göre parçalara veya bölümlere ayırmaktır. Thresholding (Eşikleme) bölütlemeyi alanlar arasındaki farklara bakarak yapmaktadır. Bu farklar gri ton seviyelerindeki değişiklikler, kesintiler veya renk farklılıklarından faydalanarak oluşturulabilir [23].

İmge bölütleme yaklaşımları genellikle imge doku özellikleri ve imge gri düzeyine (eşik değerine) göre olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Doku bazlı imge bölütlemenin amacı farklı doku özelliklerine sahip küçük bölgeleri bölütlemektir. Bu çoklu doku özelliklerine sahip nesnelere içeren imgeler için uygundur.

Öte yandan, gri seviyesi eşikleme özellikle arka planında farklı gri seviyelerine ve düzgün parlaklık değerlerine sahip objeler için uygundur. Nesne ile arka planı bölütlemek için uygun bir eşik değeri seçilebilir. Eşiklemenin matematiksel olarak ifade edilmesi denklem 3.7 ile verilmiştir.

$$r_{i,j} = \begin{cases} 1 & p_{i,j} \geq T \\ 0 & p_{i,j} < T \end{cases} \quad (3.7)$$

burada:

r : (i, j) koordinatlarından elde edilen piksel değeri

p : giriş imgesinin piksel değeri

T : eşik değeri

İmge farklı gri düzeylere sahip çoklu nesnelere oluşuyor ise, tek bir eşik değeri belirlemek doğru sonuçlar üretmeyecek ve bölütleme hatalı olacaktır. Çoklu eşikleme (Multiple thresholding) işlemi bu sorunu çözmeye yardımcı olur. Denklem 3.8'de çoklu eşikleme formülü gösterilmiştir [26].

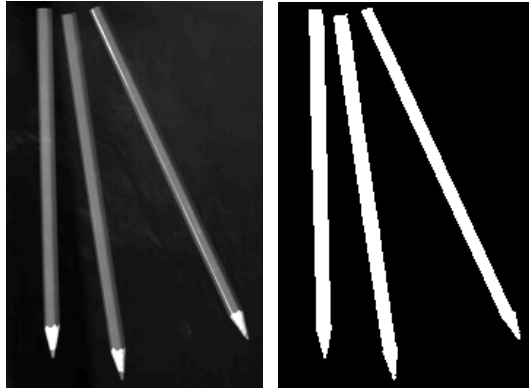
$$r_{i,j} = \begin{cases} = 1 \text{ için} & T_1 < p_{i,j} \leq T_2 \\ = 2 \text{ için} & T_2 < p_{i,j} \leq T_3 \\ = 3 \text{ için} & T_3 < p_{i,j} \leq T_4 \\ = k \text{ için} & T_k < p_{i,j} \leq T_k \\ \text{aksi halde} & = 0 \end{cases} \quad (3.8)$$

Burada, k .bant T_k ile T_{k+1} aralığındaki piksel değerlerine karşılık gelen bir nesne veya bölgedir

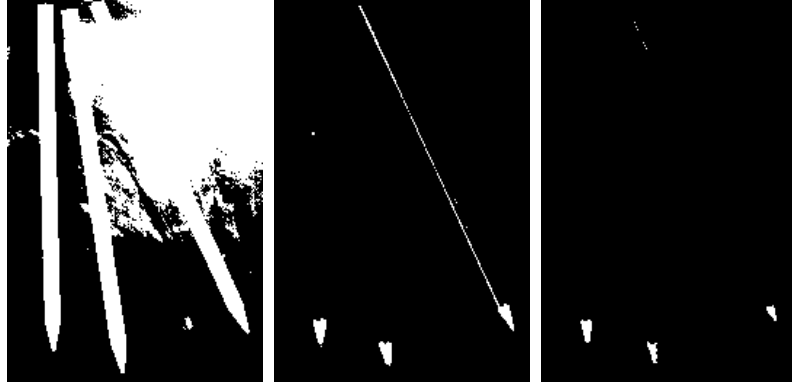
T_k : Gri seviye alt sınır değeri,

T_{k+1} : Gri seviye üst sınır değerini göstermektedir.

Şekil 3.3'te Threshold ile bölütlenmiş bir imge sunulmuştur [27]. Burada sol tarafta orijinal imge bulunmaktadır. İmgedeki kalemler arka plan gri tonlarına göre daha açık renkler içermektedir. Doğru eşik değeri bulunup threshold ile bölütlendiği zaman imge, nesnelere ve arka plan olarak ikiye bölütlenmiştir.



Şekil 3.3. Doğru eşik değeri ile bölütlenmiş imge



Şekil 3.4. Doğru eşik değeri kullanılmaması sonucu elde edilen imgeler

Doğru eşik değerinin kullanılmaması halinde Şekil 3.4'teki gibi hatalı bölütlemeler elde edilebilmektedir [27]. Uygun eşik değerini bulabilmek için en çok kullanılan yöntem kullanıcının interaktif olarak bunu belirlemesidir. Ayrıca kullanıcı histogram yardımıyla da bu eşik değerinin belirlenmesini sağlayabilir.

4. ÖNERİLEN BDT SİSTEMİ

Periferik sinir hasarı olarak bilinen beyin ve omuriliği vücudun geri kalanına bağlayan sinirlerde oluşan hasar, öncelikle travma ve bunun yanı sıra tümörler, inflamatuvar hastalıklar, doğumsal deformiteler ve cerrahi müdahaleler gibi faktörler nedeniyle oluşur. Tedavinin amacı, yaralanmanın olduğu uzak bir bölgede bulunan motor ve duyuşal sinir kaybından kaynaklanan fonksiyon kaybını en aza indirmektir. Yaralanma nedenine bakılmaksızın tam sinir rejenerasyonu oluşmadığından, anormal sinir rejenerasyonu genellikle fonksiyon kaybı ve ağrı ile sonuçlanır.

Sinir hücrelerinin hasar derecesinin ve rejenerasyonun başarısının tespiti, uzmanın görsel değerlendirmesine bağlıdır [6]. Ancak bu yaklaşım kişiye bağımlı, yavaş, hata eğilimli ve tekrar üretilemeyen sonuçlar içerebilir [28].

Bu çalışmada, uzmanların nicel sonuçları değerlendirerek sinir hasarı rejenerasyonu üzerinde en iyi metodu seçmelerine yardımcı olabilecek bir BDT uygulaması geliştirilmiştir. Uygulama, hasarlı sinir bölgelerine otogreft, damar, damar + kıkırdak, kıkırdak greftleri transferi sonucunda oluşan gruplardaki sinir hasarının ilgili iskelet kas dokusunun histolojik imgelerinden elde edilen nicel verilere dayanarak incelenmesini amaçlamaktadır.

Bu çalışmada sinir hasarının ilgili iskelet kas dokusundaki etkilerini tespit edebilmek için kas hücrelerinin aşağıda belirtilen özellikleri incelenmiştir:

a. Kas hücre çekirdeklerinin birim alandaki sayısı

Hücre çekirdeği sayısının gruplar arasında nasıl değiştiğini tespit etmek amacıyla kullanılır.

b. Ortalama açığa (dokuyu oluşturan çoğu bileşenin ortalama açısı) göre çekirdeklerin paralellik oranı

Kontrol grubu (sağlıklı grup) imgelerindeki doku bileşenleri (çekirdek, bağ dokuları, vb.) genellikle birbirlerine paralel olarak konumlanmıştır. Bu nedenle sinirdeki hasarın büyüklüğünün ilgili iskelet kas dokusundaki bileşenlerin paralellik oranıyla olan ilişkisinin incelenmesi yapılacaktır.

c. Hücre çekirdeğinin uzunluğu

Hücre çekirdeklerinin uzunluğu ölçülerek, kontrol grubu ile hasarlı gruplar arasında çekirdek uzunluğu yönünden ilişkinin varlığı incelenecektir.

d. RGB Renk Modelinde Mavi Renk Yoğunluğu

Uygulanan Hematoksile/Eosin boyama yöntemindeki hücre çekirdek rengi olan mavi ve tonları renge sahip hücre çekirdeklerinin renk yoğunluk değerlerinin gruplar arasındaki değişimi incelenecektir.

Yukarıda verilen nicel özellikler ilgili gruplardan elde edildikten sonra, sağlıklı kontrol grubuna en yakın değerlere sahip grubun tespit edilmesi ve değerlendirilmesi yapılacaktır.

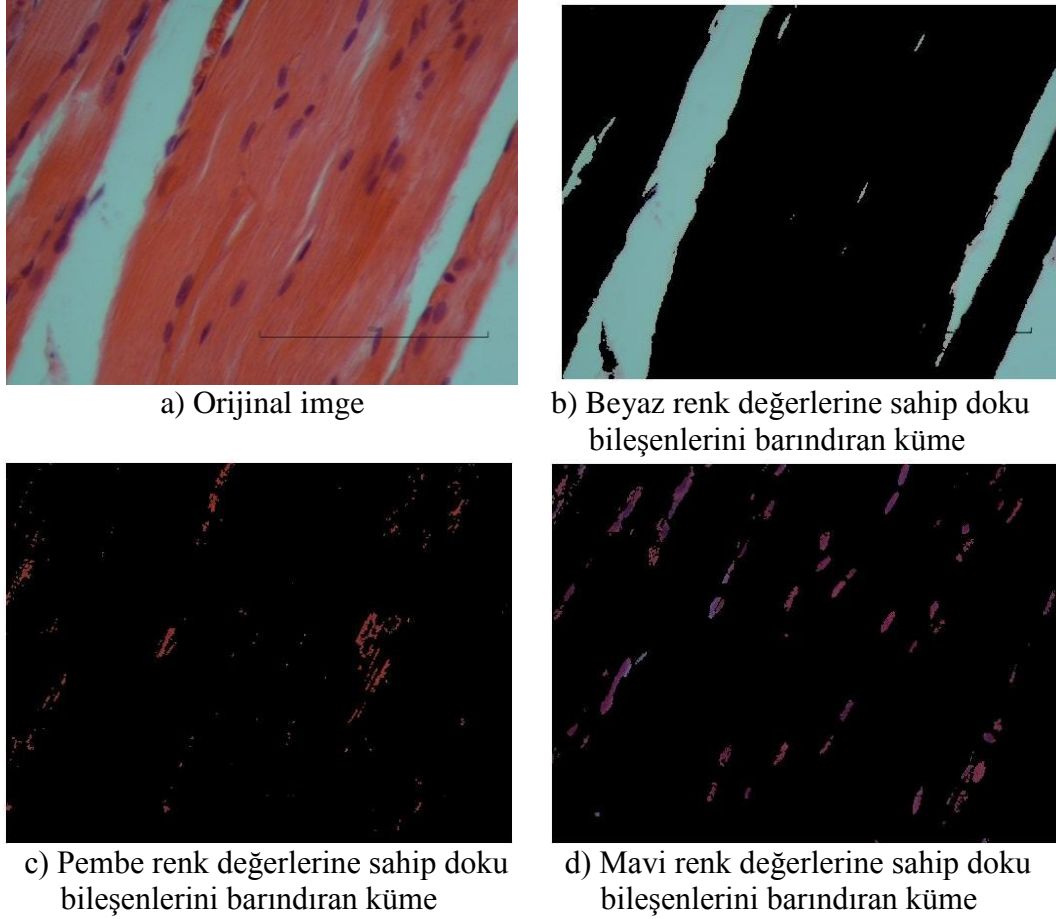
Özelliklerin çıkarılması özel bir hesaplama ve farklı algoritmaların birlikte kullanılmasını gerektirmektedir. Ticari olarak temin edilebilen hücre sayım algoritmaları sadece bazı özelliklerin elde edilmesi için yararlı olacaktır. Ancak bu algoritmalar daha genel bir yaklaşımda yazıldığından dolayı maliyet ve performans gibi dezavantajlara sahiptirler [29]. Uygun algoritmaları barındıran özgün bir yazılım, daha hızlı ve daha iyi sonuçlar sağlayabilir. Ayrıca geliştirilen bu yazılım parametreler üzerinde ayarlamalar yapılmasına izin vererek sistemin farklı parametreler altında değerlendirilmesini sağlayabilir.

4.1. BDT Sisteminde K-Means Algoritmasının Kullanımı

Uygulama içerisinde kullanılacak farklı gruplara ait imgeler incelendiğinde doku bileşenlerinin farklı renkler ile boyandığı görülmektedir. İmgelerdeki farklı renk değerlerine sahip her bir doku bileşeninin, K-means algoritması için bir küme adayı olacağı düşünülmüştür.

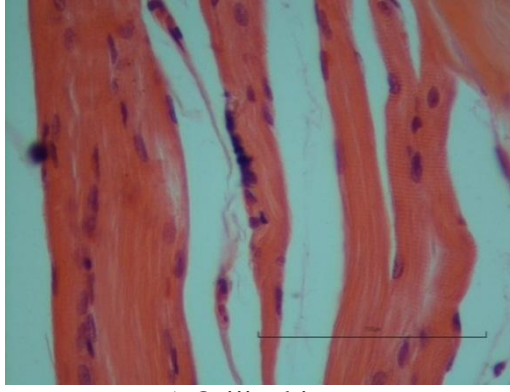
İmgelerde mavi ve tonları renk değerine sahip çekirdekler, pembe renkte hücre sitoplazma alanları ve boyanmamış (beyaz) doku alanları bulunmaktadır. Dolayısıyla, K-means bölütleme algoritmasının doku bileşenlerini renk değerlerine göre üç küme içerisinde bölütlemesi beklenmektedir. Pembe renk değerleri algoritmada hesaplamalarda kullanılmayacağı için imge bir renk filtresinden geçirilerek pembe tonlarındaki piksellerin büyük bir kısmı elimine edilir. Dolayısıyla geriye kalan imge bölütlemeye daha elverişli hale gelir.

K-means bölütleme algoritması ilk olarak Şekil 4.1'de verilen Grup 2'den alınan bir test imgesi üzerinde denenmiştir. Şekil 4.1.b, c ve d'den de görüldüğü üzere algoritma farklı doku bileşenlerini renk değerlerine (beyaz, pembe ve mavi) göre doğru kümeler içerisine bölütleyebilmiştir.



Şekil 4.1. Grup 2'den alınan bir imgenin K-Means ile bölütlenmesi

K-means bölütleme algoritması farklı gruptaki imgeler üzerinde de uygulanmıştır. Ancak, farklı gruptaki imgeler üzerinde K-means algoritmasının doku bileşenlerini doğru kümeler içerisine bölütleyemediği görülmüştür. Şekil 4.2.b ve Şekil 4.2.c'de beyaz renk değerine sahip aynı doku bileşenlerini farklı kümeler içerisinde bölütlenmiştir. Aynı şekilde, Şekil 4.2.d'de ise pembe ve mavi renk değerine sahip doku bileşenlerinin birlikte kümelendiği görülmektedir. Bu durum imgelerin farklı ışık ortamlarında elde edilmesinden ve imge bileşenlerinin boyanmasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.



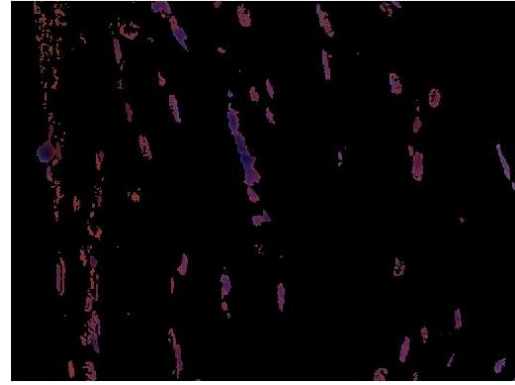
a) Orijinal imge



b) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran birinci küme



c) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran ikinci küme



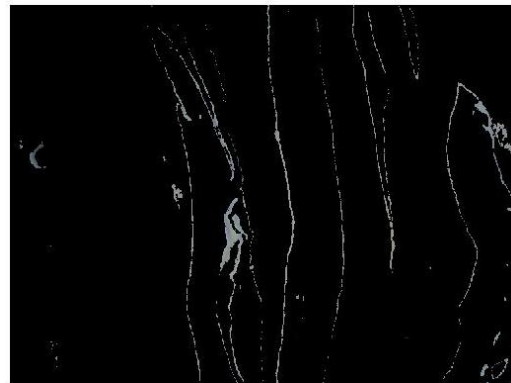
d) Mavi renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran küme

Şekil 4.2. Grup 2'den alınan bir imgenin K-Means ile üç kümeli bölütlenmesi

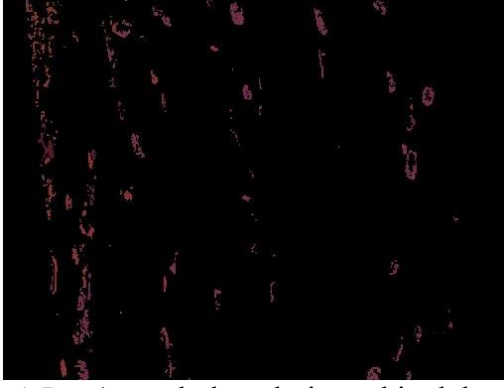
Bu probleme bir çözüm olarak bölütlenecek küme sayısı artırılmıştır. Küme sayısının artırılması, yakın renk değerlerine sahip doku bileşenlerinin farklı küme içerisinde ayrıştırılmasını sağlayacaktır. Şekil 4.2'de verilen imgenin dört grup içerisinde kümelenmesi Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Burada K-means algoritmasının imge bileşenlerini dört küme içerisinde bölütlediği görülmektedir.



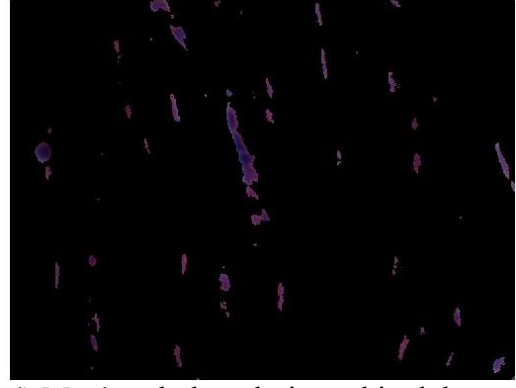
a) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran birinci küme



b) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran ikinci küme



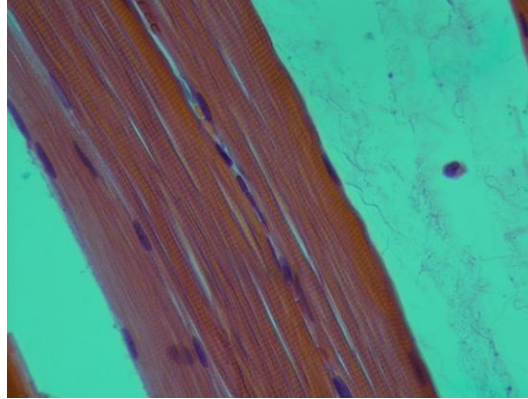
c) Pembe renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran küme



d) Mavi renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran küme

Şekil 4.3. Grup 2'den alınan imgenin K-Means ile dört kümeli bölütlenmesi

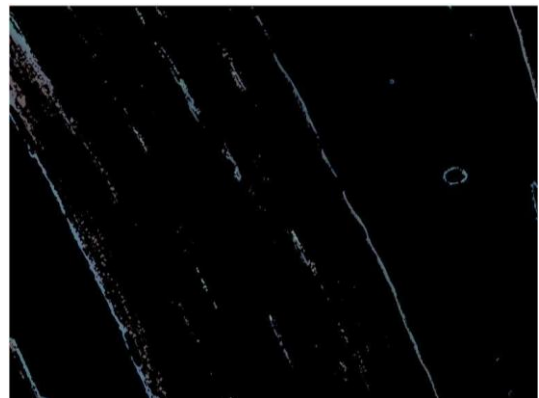
Dört kümeli K-means, test imgelerinin çoğunda doku bileşenlerini başarılı bir şekilde bölütleyebilmektedir. Ancak tüm test imgeleri için dört küme yaklaşımı başarılı sonuçlar üretmemektedir. Şekil 4.4'te kontrol grubundan farklı bir imgenin dört kümeli K-means ile bölütlenmiş versiyonu gösterilmiştir.



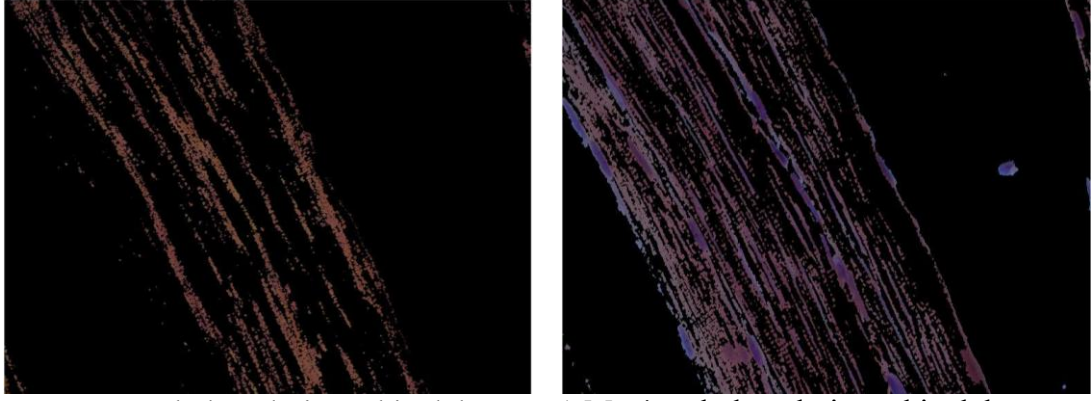
a) Orijinal imge



b) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran birinci küme



c) Beyaz renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran ikinci küme



d) Pembe renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran küme

e) Mavi renk değerlerine sahip doku bileşenlerini barındıran küme

Şekil 4.4. Kontrol grubundan alınan bir imgenin K-Means ile dört kümeli bölütlenmesi

Şekil 4.4.e’de görüldüğü gibi mavi renkli çekirdekler ile diğer doku bileşenleri aynı küme içerisinde bölütlenmiştir. BDT sistemi içerisinde K-means algoritmasının kullanılması durumunda her bir imge için küme sayısının manuel olarak ayarlanması gerekmektedir. Ayrıca Şekil 4.4’te görüldüğü gibi küme sayısı ayarlansa bile, K-means algoritması bazı imgeler için doku bileşenlerini doğru kümeler içerisine bölütleyememektedir.

Bu tez çalışmasında tüm imgeler üzerinde çalışabilecek bir BDT sistemi önerilmiştir.

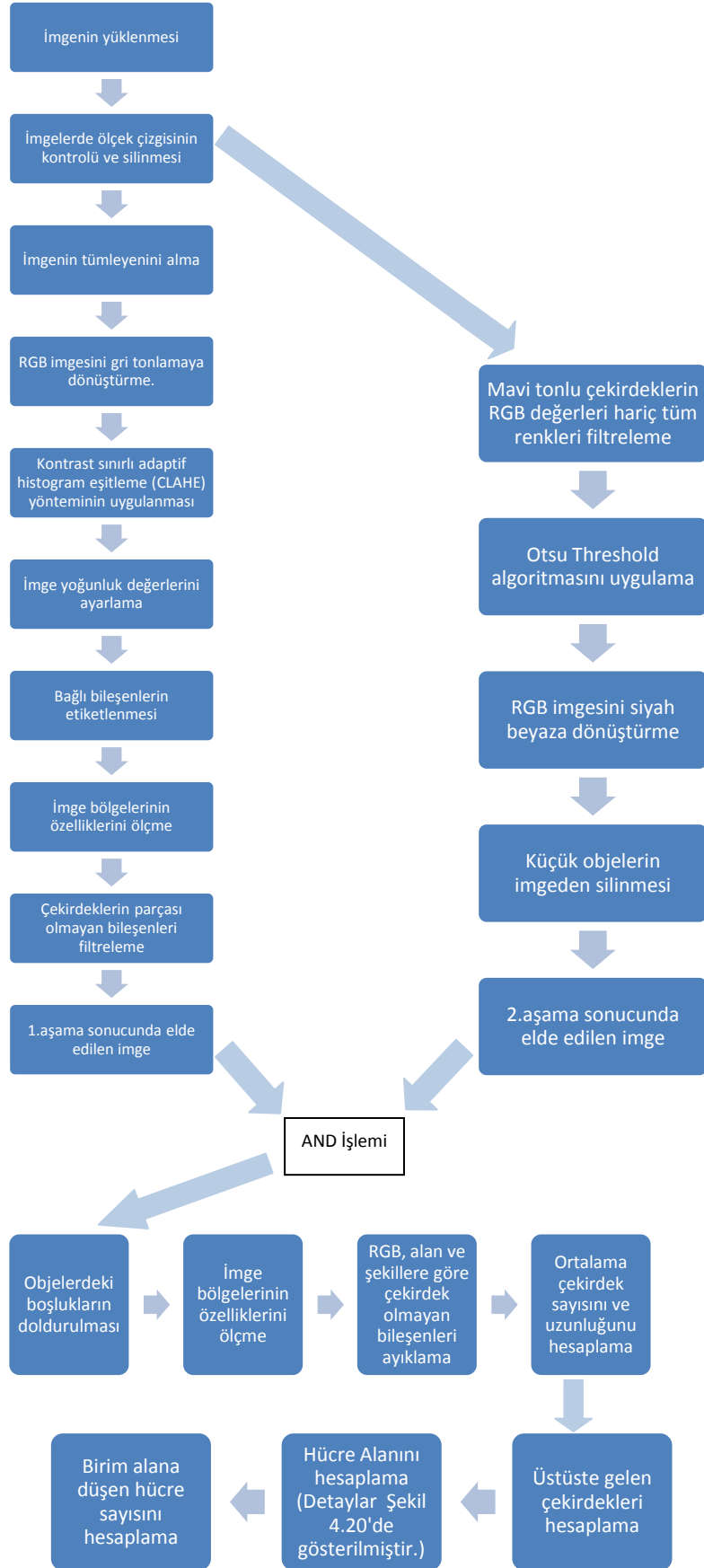
4.2. Önerilen BDT Sistemi

Önerilen BDT sistemi, gruplardaki imgelere ait ortalama hücre çekirdeği sayısı ve uzunlukları, ortalama paralel çekirdek oranı ve RGB renk modelinde ortalama mavi renk yoğunluğu niteliklerini elde etmeyi amaçlar. Önerilen BDT sistemi her bir niteliği elde etmek için imgeler üzerinde bir takım ön işlemler uygular. Her bir niteliği elde etmek için önerilen sistem yapısı ilgili bölüm içerisinde gösterilmiştir.

Önerilen sistemde imgelerin hem RGB formatındaki hem de gri seviyeye dönüştürülmüş formatındaki niteliklerinden faydalanılmıştır. BDT sisteminde ilk olarak imgelerin sisteme yüklenmesi yapılmaktadır. Bir sonraki adımda gruplardaki bazı imgelerde ölçek çizgisi bulunmasından dolayı, bu imgeler üzerinde ölçek çizgisinin silinmesi işlemi gerçekleştirilir. Sonraki adımda, imgelerin RGB ve Gri seviye formatındaki nitelikleri kullanılarak elde edilmek istenen özellikler çeşitli fonksiyonlar ve algoritmalar yardımıyla çıkarılmıştır.

4.3. Ortalama ekirdek Sayımı

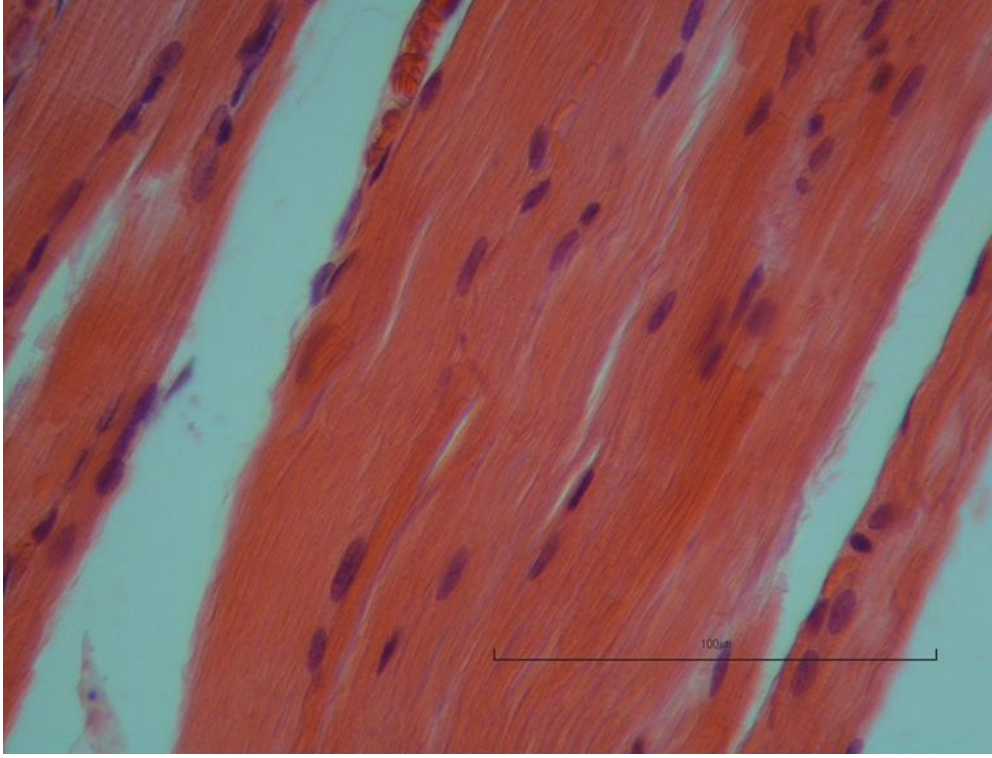
Ortalama ekirdek sayımının elde edilmesi Şekil 4.5'te verilen adımlardan oluşur. İmgenin RGB ve gri seviye formatı kullanılarak doku bileşenlerine ait çevre, alan, ağırlık merkezi, bileşeni çevreleyen dörtgen, ana eksen, ikincil eksen ve oryantasyon gibi doku bileşenlerine ait nitelikler çıkartılır. Daha sonra bu nitelik bilgileri kullanılarak hücre çekirdeklerinin diğere doku bileşenlerinden ayrıştırılması yapılır. Son aşama ise birim alana düşen hücre çekirdeğinin sayımından oluşur. Bu işlemler aşağıda üç temel başlık içerisinde ayrıntılı olarak verilmiştir.



Şekil 4.5. Ortalama hücre sayısı ve uzunluğunu bulmak için kullanılan akış diyagramı

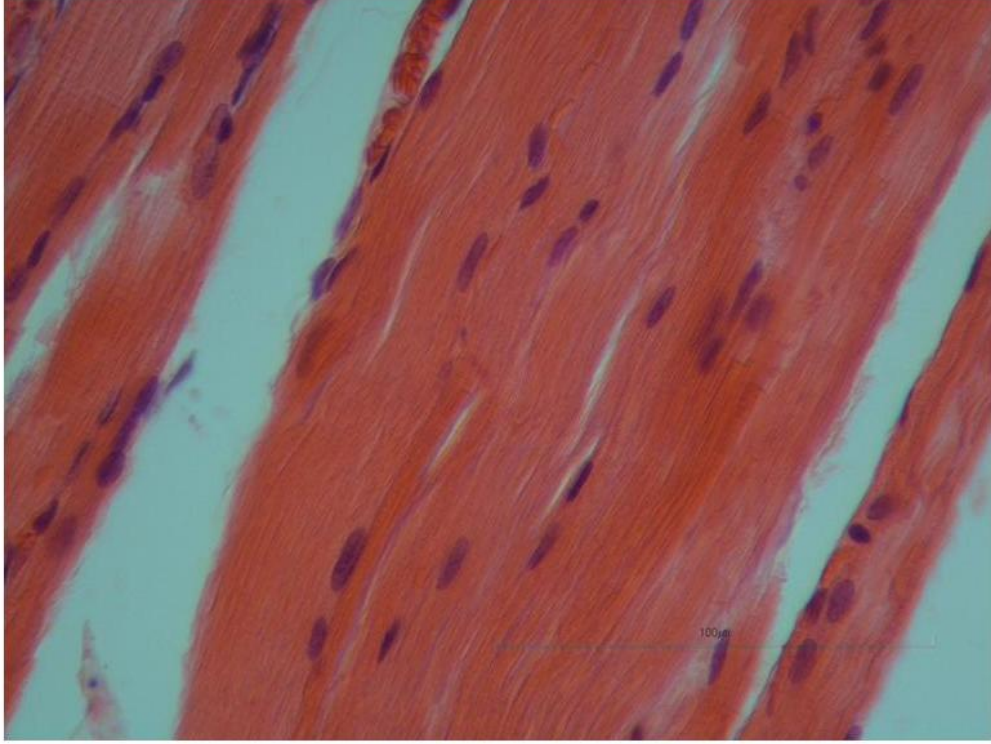
4.3.1. Çekirdek sayımı için gereken ön işlemler

Önerilen BDT sisteminde ilk olarak imgelerin sisteme yüklenmesi yapılır. Ölçek çizgisine sahip bir imge Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Ölçek çizgisi tüm imgelerde bulunmamaktadır.



Şekil 4.6. Grup 2'den alınan bir imge

Uygulama içerisindeki tüm imgelerin aynı özelliklere sahip olması açısından, ölçek çizgisinin imgeler içerisinde silinmesi gereklidir. Bir imge ölçek çizgisine sahip ise bu çizgi her zaman sağ alt köşede olup, piksel koordinatları, çizgi genişliği ve yüksekliği diğer çizgi içeren tüm imgeler ile aynıdır. İmgelerin ölçek çizgisi içerip içermediğinin tespiti, çizginin koordinatlarındaki piksellerin bir piksel yukarıdaki pikseller ile karşılaştırılması ile yapılır. Eğer çizgi varsa, bu çizginin üst pikselleri imgenin bir üst satırındaki pikseller ile aynı renk değerlerine atanırken, alt satırındaki pikseller ise imgenin bir alt satırındaki pikseller ile aynı renk değerine atanır. Bu sayede siyah çizgiden imgenin bir parçasının görünümüne akıcı bir geçiş sağlanmış olur. Ölçek çizgisinin silindiği örnek bir imge Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Şekil 4.6'da gösterilen imgenin ölçek çizgisi kaldırılmış hali

İmgelerde bulunan hücre çekirdeklerinin sayısını hesaplayabilmek için hücre çekirdeklerinin diğer doku bileşenlerinden ayrıştırılması gerekir. Bu ayrıştırma işlemi için doku bileşenlerine ait ayırt edici özellikler belirlenmelidir. Bu özellikler şekil, kontrast ve renk farklılığı niteliklerinde olabilir. Nesnelere ile arka plan arasında yeterli kontrastın olmasının nesnelere algılanabilirliğini artırdığı görülmüştür [30]. Bu kontrast farklılığı hücrelerdeki mavi renk değerine sahip çekirdekleri bölütleme işleminde de kullanılabilir.

Bu çalışmada doku bileşenlerinin renk ve şekilleri çekirdeklerin tespit edilmesinde yeterli değildir. Bundan dolayı doku bileşenleri arasındaki kontrast farklılığından yararlanılacaktır. Morfolojik işlemlerin imgeler üzerinde uygulanması doku bileşenlerinin bölütlenmesindeki doğruluğu artırmaktadır [28]. Bu çalışmada doku bileşenleri arasındaki kontrast değişkenliğini maksimize eden aşağıdaki adımlar uygulanmaktadır:

4.3.1.1. İmgenin tümleyenini alma

Bu işlem her pikselin değerini 255'ten çıkararak pikselin tümleyenini alır. Sonuç olarak, parlak pikseller koyu ve koyu pikseller parlak olur. Şekil 4.8'de tümleyeni alınmış imge gösterilmiştir. Her pikselin RGB sayısal değerleri denklem 4.1'de gösterildiği gibi 255'ten çıkarılır:

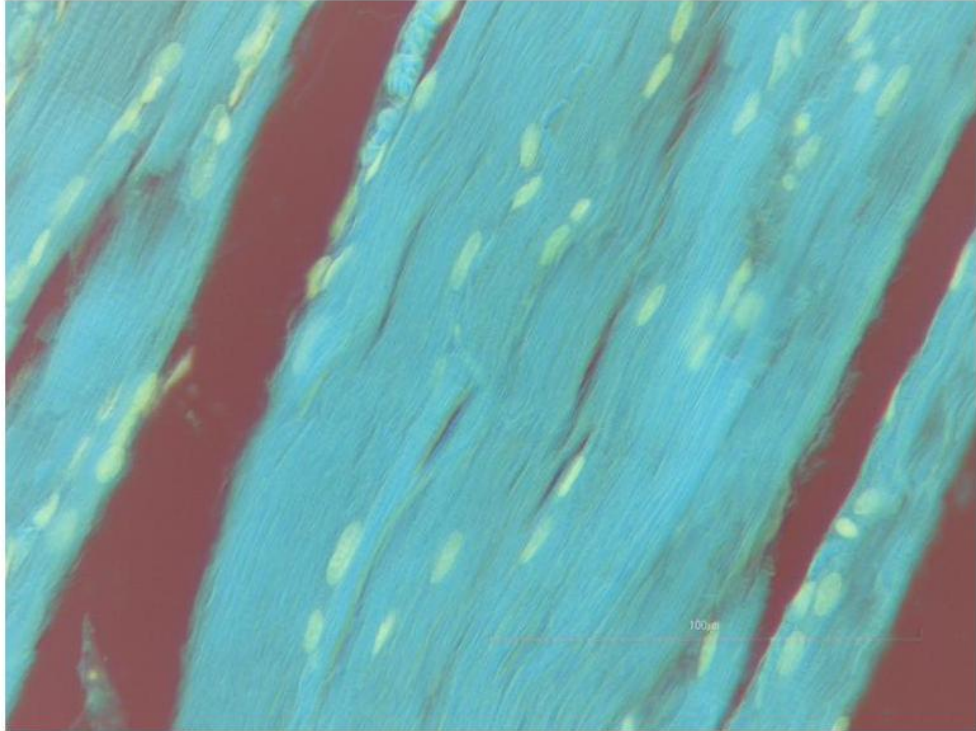
$$\begin{aligned}R_{i,j} &= 255 - R_{i,j} \\G_{i,j} &= 255 - G_{i,j} \\B_{i,j} &= 255 - B_{i,j}\end{aligned}\tag{4.1}$$

burada,

$R_{i,j} = (i, j)$ lokasyonundaki pikselin kırmızı renk değerini,

$G_{i,j} = (i, j)$ lokasyonundaki pikselin yeşil renk değerini,

$B_{i,j} = (i, j)$ lokasyonundaki pikselin mavi renk değerini göstermektedir.



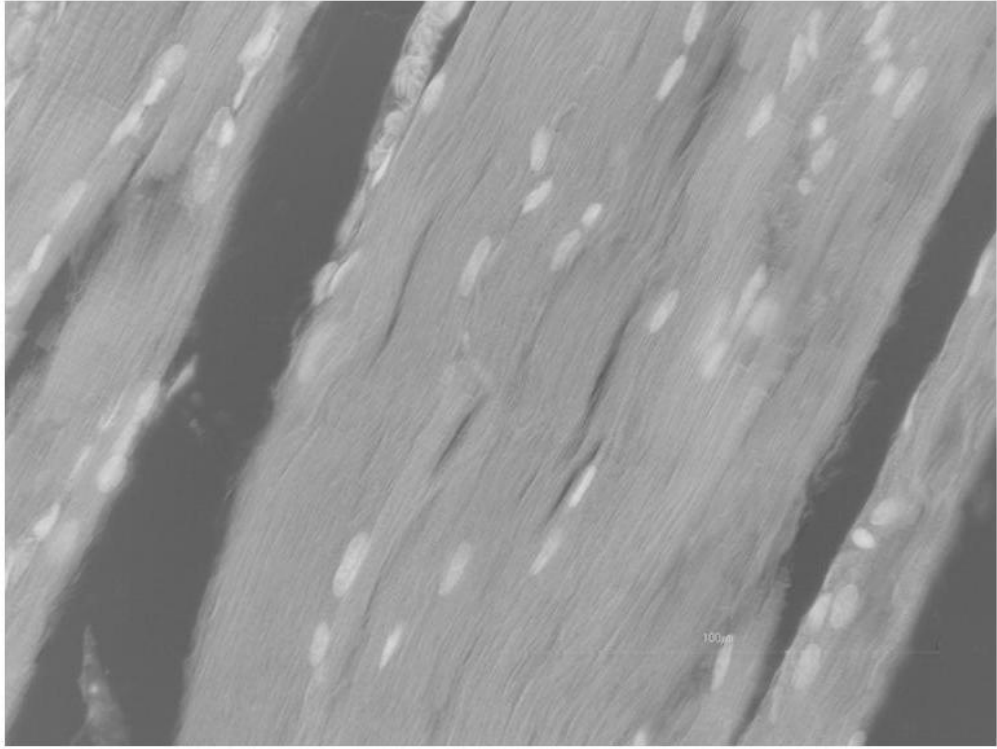
Şekil 4.8. Tümleyeni alınmış imge

4.3.1.2. RGB imgesini gri tonlamaya dönüştürme

Bu aşama, piksellerin tonlarını ve doygunluklarını kaldırarak parlaklıklarını koruma işlemidir. İmgeler, R, G ve B (kırmızı, yeşil ve mavi) bileşenlerinin ağırlıklı toplamı kullanılarak gri tonlamaya dönüştürülür. Bu işlem denklem 4.2 ile verilmiştir.

$$0,2989 * R + 0,5870 * G + 0,1140 * B \quad (4.2)$$

Yaklaşık olarak %29 kırmızı, %58 yeşil ve %11 mavi değerler birleştirilir. Bu işlem sonucu elde edilen piksel değeri 0-255 aralığındadır. Burada 0, siyaha ve 255 beyaza karşılık gelen değeri temsil etmektedir. RGB imgesinin gri tonlamaya dönüştürülmüş hali Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

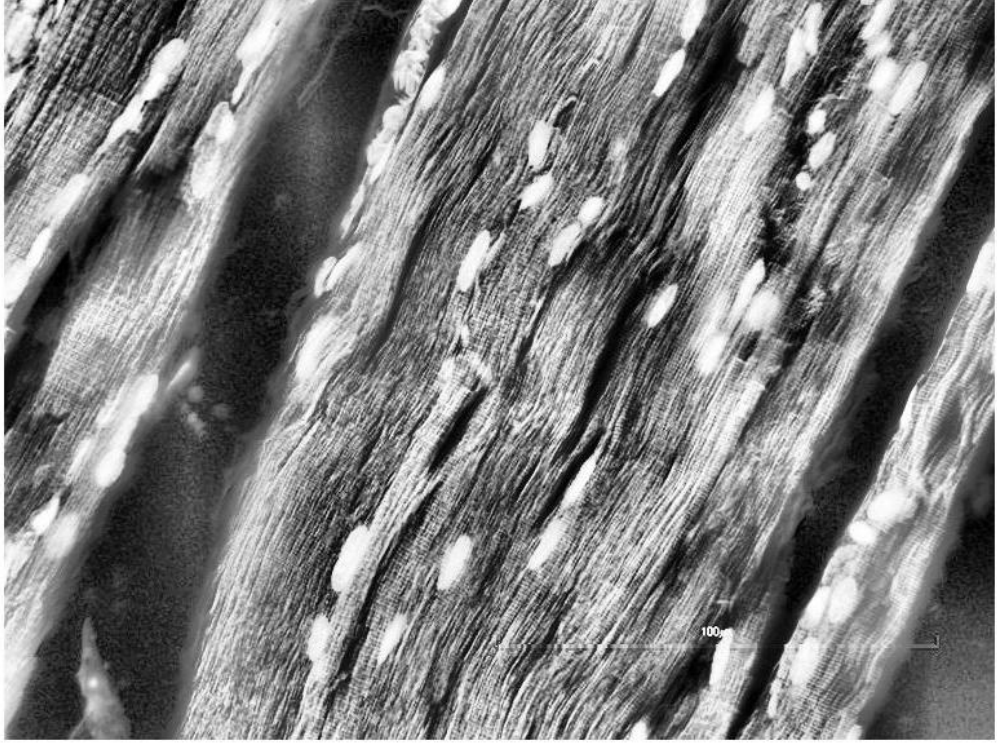


Şekil 4.9. Gri tonlamaya dönüştürülmüş imge

4.3.1.3. Kontrast sınırlı adaptif histogram eşitleme (CLAHE)

Gri tonlamalı görüntünün kontrastını iyileştirmek için Kontrast Sınırlı Adaptif Histogram Eşitleme yöntemi kullanılır. Bu yöntem tüm imge yerine imge

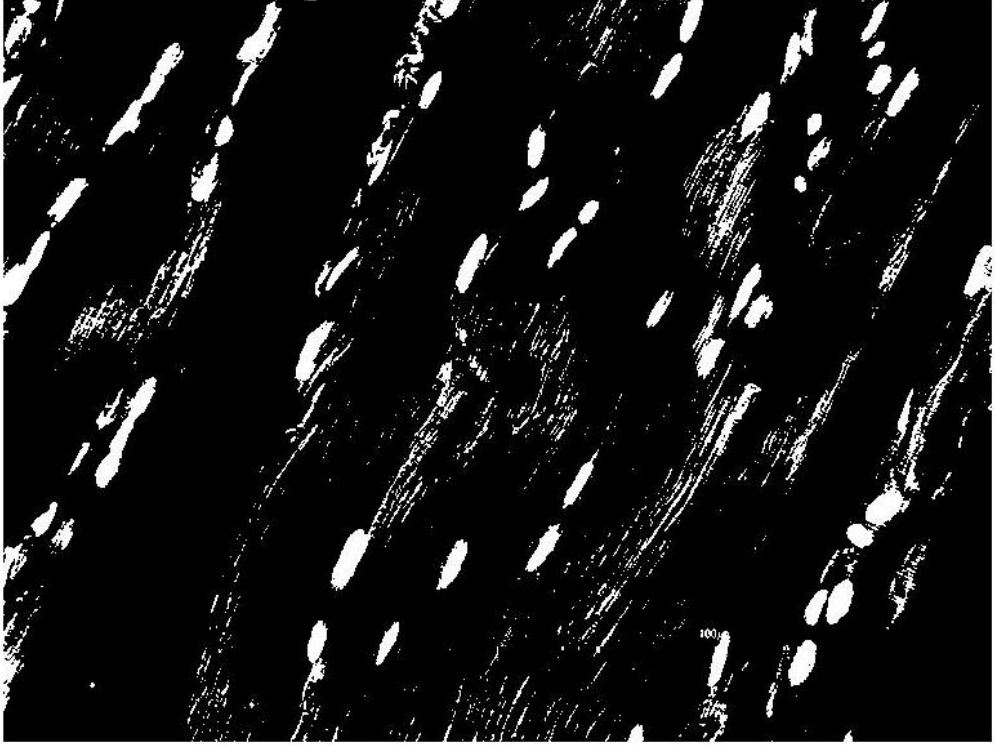
içerisindeki üst üste gelmeyen bitişik küçük dörtgenlerin (tiles) değerlerini dönüştürür. Her dörtgen bölmenin kontrast değeri, komşu dörtgenler ile bilineer interpolasyon yapılarak elde edilir [31]. Bu interpolasyon işlemi esnasında yapay olarak oluşan sınırların ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır. Şekil 4.10'da Kontrast Sınırlı Adaptif Histogram Eşitleme (CLAHE) yöntemi uygulanmış imge gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Kontrast sınırlı adaptif histogram eşitleme (CLAHE) uygulanmış imge

4.3.1.4. İmge yoğunluk değerlerini ayarlama

İmge üzerinde daha iyi bir kontrast elde etmek için, gri tonlamalı imge verilerinin yüzde 1'i görüntünün dönüşümden önce düşük ve yüksek yoğunluklarda doymuş olması şartıyla yeni bir görüntüye dönüştürülür. Şekil 4.11'de kontrast değeri ayarlanmış imge bulunmaktadır.



Şekil 4.11. Kontrast değeri ayarlanmış imge

4.3.1.5. Bağlı bileşenlerin etiketlenmesi

İmge bileşenlerinin özelliklerini elde edebilmek için imgedeki doku bileşenlerini oluşturan piksellerin etraflarındaki pikseller ile komşuluk bilgilerine ihtiyaç duyulur. İmge içerisindeki pikseller, o pikseli çevreleyen pikseller ile karşılaştırılır. Birbirlerine komşu pikseller 1 olarak ve komşuluk göstermeyen pikseller ise 0 olarak etiketlenir.

4.3.1.6. İmge bölgelerinin özelliklerini ölçme

Bir önceki adımdan elde edilen komşuluk bilgileri bilinen pikseller incelenir ve bu piksellerin oluşturduğu bileşenler çıkarılır. Ayrıca ileriki adımlarda kullanılmak üzere bileşenlerin aşağıda belirtilen özellikleri çıkarılır:

Alan: Bileşenin alanında bulunan piksel sayısı.

Bileşeni çevreleyen dörtgen: İmge boyutlarının sayısı Q olan bir $1 \times Q * 2$ vektörünün oluşturduğu bölgeyi içeren en küçük dikdörtgen.

Ağırlık merkezi: Bileşenin kütle merkezini tanımlayan $1 \times Q$ vektörü. Burada ağırlık merkezi'nin ilk elemanı kütle merkezinin yatay eksenini (x eksenini) ve ikinci elemanı ise kütle merkezinin dikey eksenini (y eksenini) oluşturmaktadır.

Açı: x-ekseni ve bileşen ile aynı ikinci momentlere sahip elipsin büyük eksenini arasındaki açı (-90 ile 90 derece arasında).

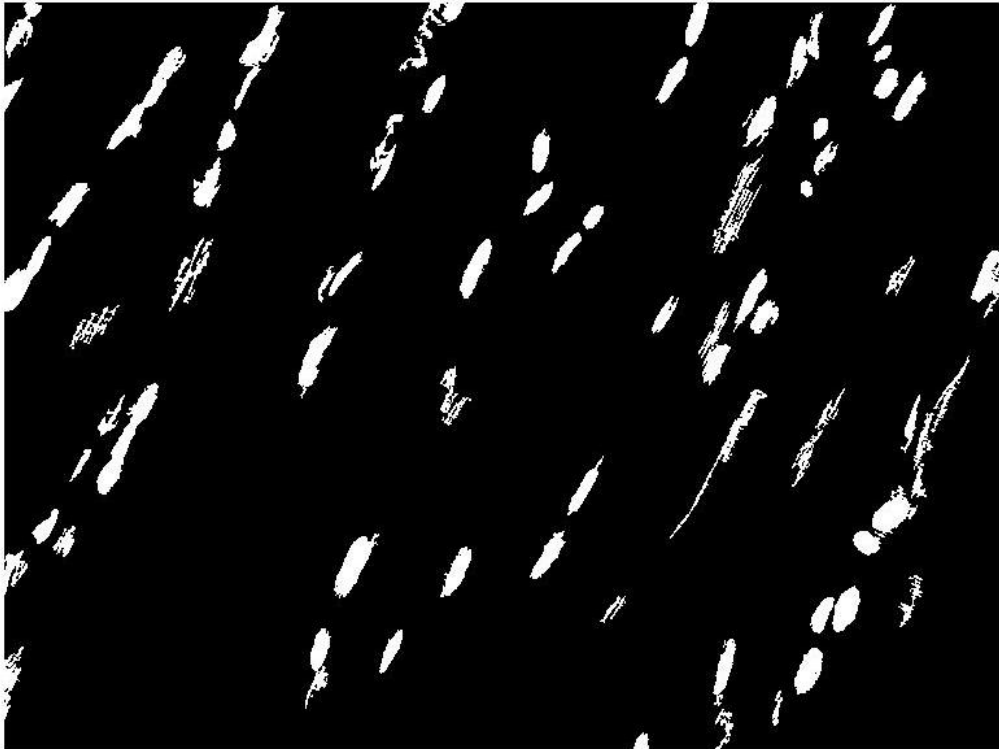
Devamlılık: Bileşenin dışbükey (convex) alanının bileşen alanına oranı.

Ana eksen uzunluğu: Bileşen ile aynı normalize ikinci merkezi momentlere sahip elipsin büyük ekseninin uzunluğu.

İkincil eksen uzunluğu: Bileşen ile aynı normalize ikinci merkezi momentlere sahip elipsin küçük ekseninin uzunluğu [32,33].

4.3.1.7. Çekirdek olmayan bileşenleri filtreleme

Çevre, alan, ana eksen uzunluğu, ikincil eksen uzunluğu ve devamlılık özellikleri kullanılarak çekirdek olmayan bileşenler imge içerisinden elimine edilir. Elde edilen imge Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Bu işlem ile akış diyagramının ilk aşaması (akış diyagramının sol tarafı) tamamlanmış olmaktadır.

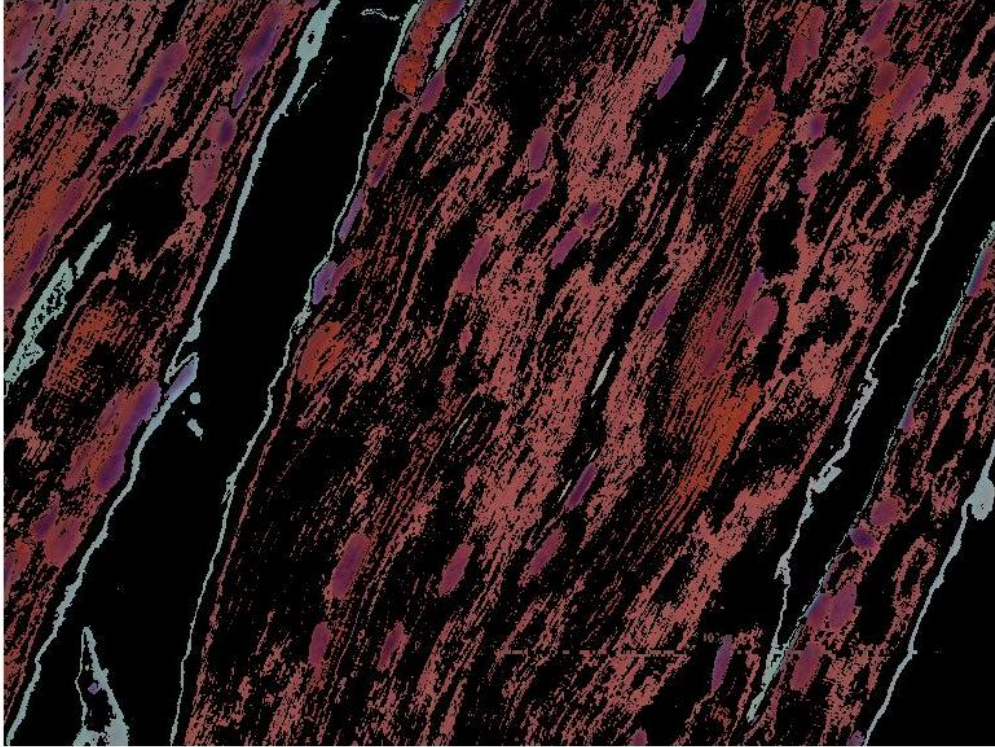


Şekil 4.12. Çekirdeğe ait olmayan bileşenleri kaldırmak için uygulanan işlemlerden sonraki imge

Çekirdek sayımının ön işleminin sonraki aşamasında, akış diyagramının ikinci aşaması çalıştırılır. Bu aşama, ölçek çizgisi kaldırılmış orijinal imgenin sisteme yüklenmesiyle başlatılır.

4.3.1.8. Hücre çekirdeklerinin RGB renk değerlerine göre filtrelenmesi

İmgeler içerisinde mavi tonlarındaki renk değerlerine sahip olmayan pikseller bir renk filtresiyle taranarak elimine edilir. Bu işlemin sonucunda elde edilen imge Şekil 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4.13.Filtre kullanılarak elde edilen imge

Bu imge Şekil 4.5'teki akış diyagramının ilk aşamasındaki işlemler sonucu elde edilen Şekil 4.12'da verilen imge ile AND operatörü kullanılarak birleştirilecektir. İmgelerin AND operatörü ile birleştirilebilmesi için Şekil 4.13'te verilen imgenin siyah-beyaz imge formatına dönüştürülmesi gerekmektedir. Dönüşümden önce, bir eşik değerinin seçilmesi gerekir. Bu eşik değerinin üzerindeki pikseller beyaz ve altındakiler ise siyah renk olacaktır. Eşik değerini bulmak için Otsu algoritması kullanılmıştır.

Otsu Threshold Algoritması:

Otsu Threshold Algoritması (OTA), iki sınıfın varyanslarının ağırlıklı toplamı olarak tanımlanan sınıf içi varyansı minimize eden eşik değerini arar [13]. Genel olarak formülasyon denklem 4.3'te verilmiştir.

$$\sigma_w^2(t) = \omega_1(t)\sigma_1^2(t) + \omega_2(t)\sigma_2^2(t) \quad (4.3)$$

ω_i : olasılık

t : eşik

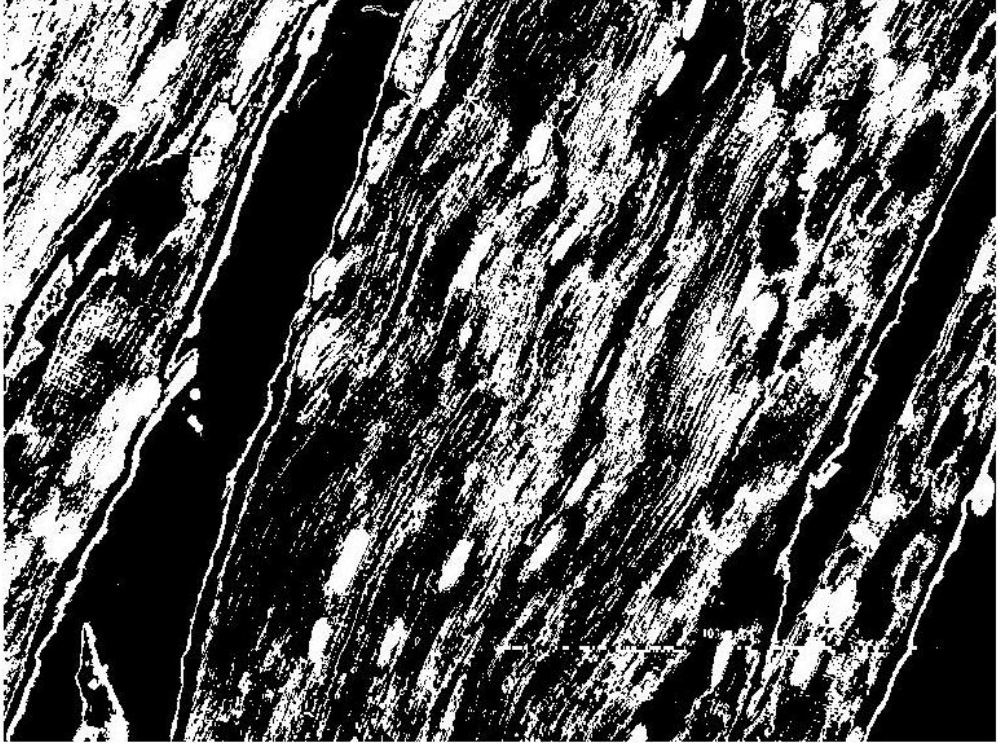
σ_i^2 : varyans [34]

OTA'dan maksimum verim elde etmek için aşağıdaki üç koşulun yerine getirilmesi gerekir:

- a) Ön plan nesnelerin gri seviyelerinde minimum değişkenlik,
- b) Arka plan gri seviyelerinde minimum değişkenlik,
- c) Ön plan ve arka plan nesneleri arasındaki gri seviye değerlerinde maksimum değişkenlik [29].

4.3.1.9. RGB imgesini siyah beyaza dönüştürme

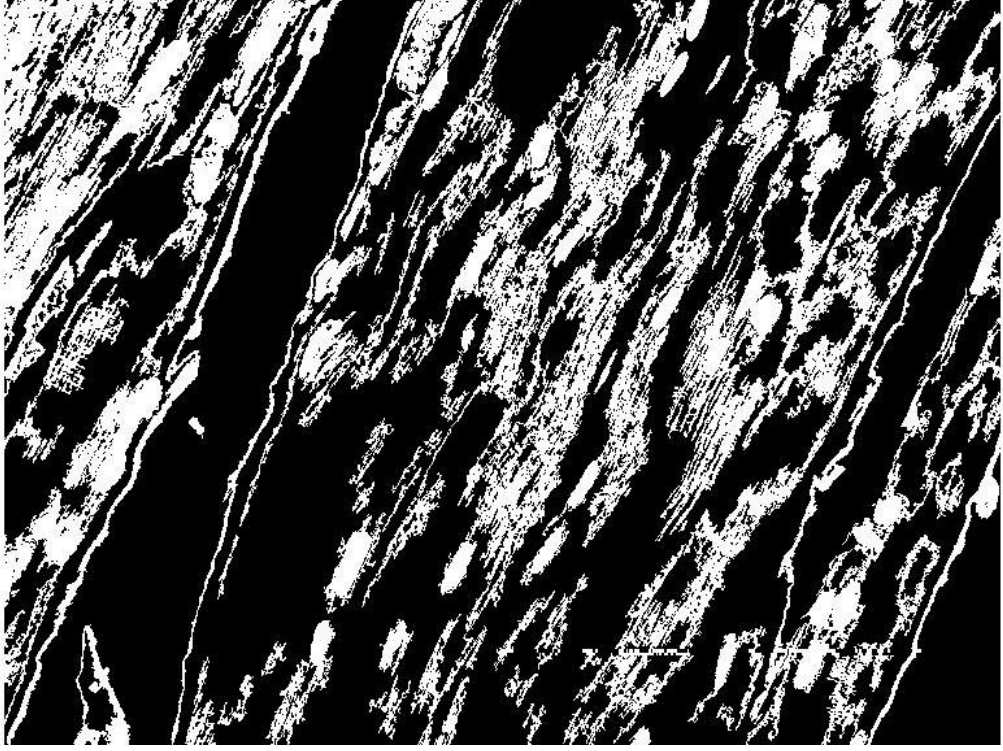
Otsu algoritmasıyla elde edilen eşik değeri kullanılarak imge siyah-beyaz imge formatına dönüştürülür. Elde edilen imge Şekil 4.14'te gösterilmiştir.



Şekil 4.14. İmgenin, siyah beyaz imge formatına dönüştürülmüş hali

4.3.1.10. İmge içerisinde gürültü bileşenlerinin silinmesi

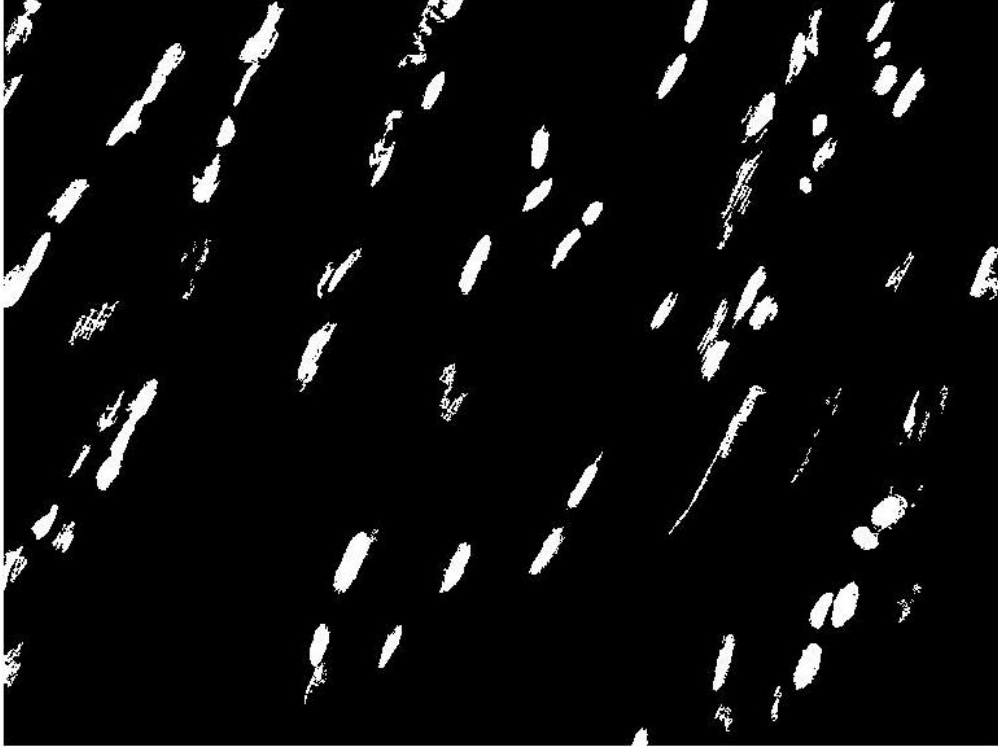
İmge içerisinde mavi renk tonlarında olup, ancak hücre çekirdeği olmayan doku bileşenleri bulunmaktadır. Bu bileşenler gürültü bileşenleri olarak tanımlanmıştır. İmge içerisinde çekirdek boyutundan çok küçük alana sahip bileşenler gürültü bileşenleri olarak tanımlanır ve silinir. Elde edilen imge Şekil 4.15’te gösterilmiştir.



Şekil 4.15. 2. aşama sonucunda elde edilen imge

4.3.1.11. 1.ve 2. aşama sonucunda elde edilen imgelerin birleştirilmesi

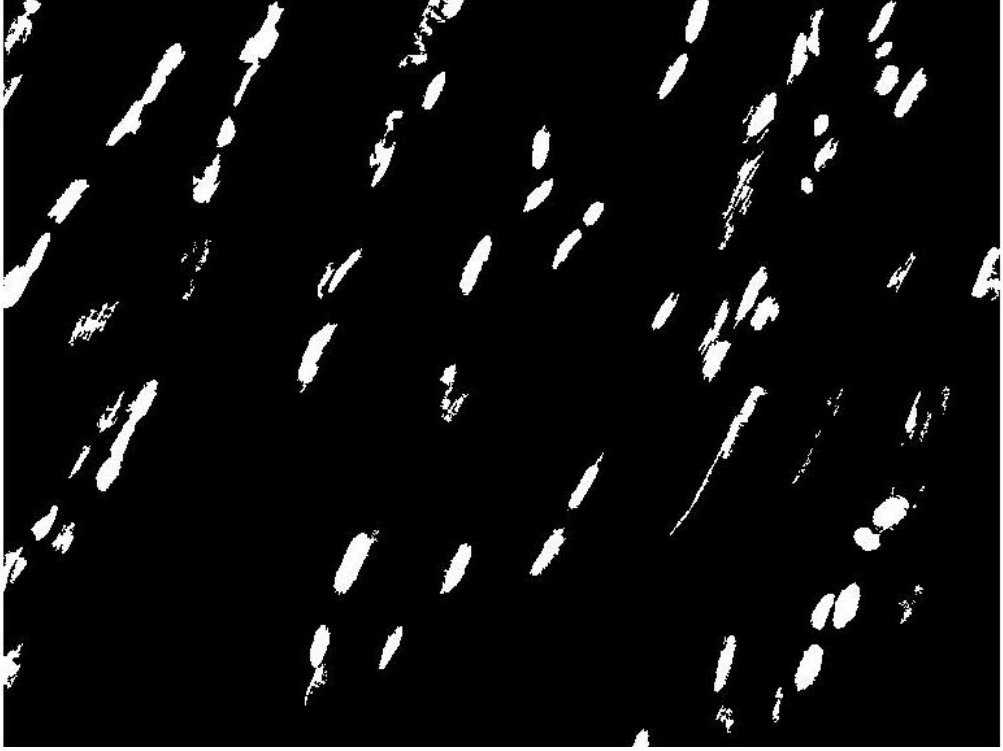
Şekil 4.12 ile Şekil 4.13'te verilen imgelerin AND operatörüyle birleştirilmesi sonucunda elde edilen imge Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. 1. ve 2. aşama sonucunda elde edilen imgeler arasındaki AND operasyonunun sonucu

4.3.1.12. Bileşenlerdeki boşlukların doldurulması

Hücre çekirdeklerinin daha doğru tanımlanabilmesi için çekirdeği oluşturan bileşenlerin boşluklardan arındırılması gerekmektedir. Bu yüzden çekirdeklerin içindeki boş pikseller beyaz renk ile doldurulur. Şekil 4.17 hücre çekirdeklerinin piksellerinin doldurulmuş halini göstermektedir.



Şekil 4.17. Hücre çekirdeklerindeki boşlukların doldurulması sonucu oluşan imge

4.3.2. Çekirdek sayımı için özellik çıkarımı

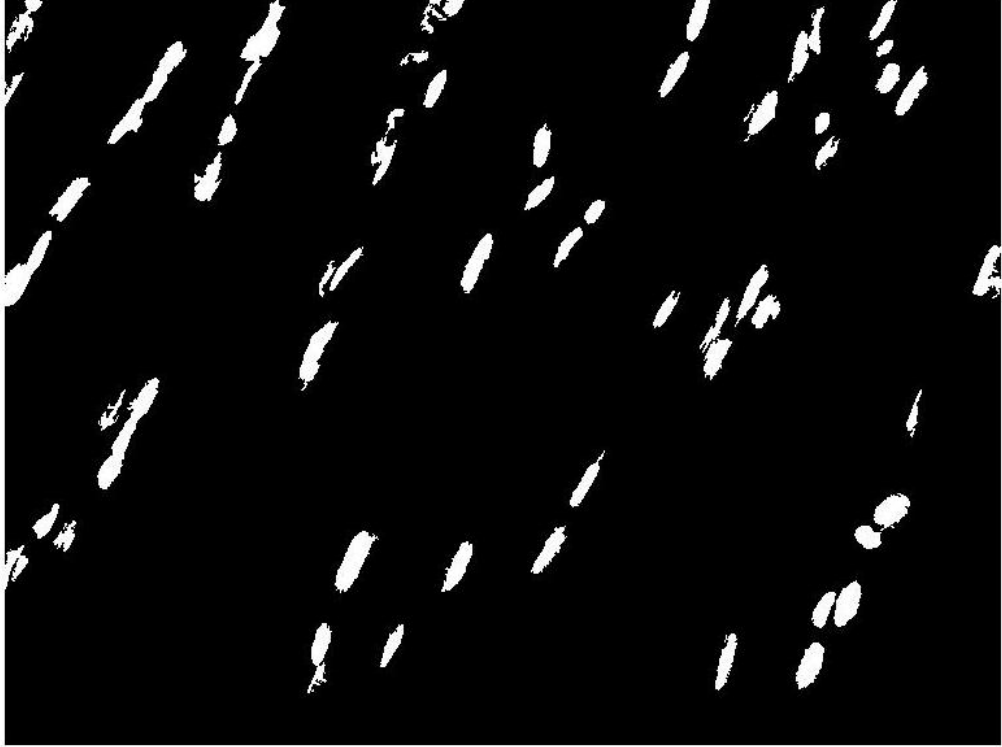
4.3.2.1. İmge bileşenlerinin özelliklerini çıkarma

Ön işlemler tamamlandıktan sonra, özellik çıkarım aşaması başlatılır. Hücre çekirdek sayısı, paralel hücre çekirdeği oranı ve ortalama hücre çekirdeği uzunluğu niteliklerini hesaplayabilmek için, imge bileşenlerinin çevre, alan, ağırlık merkezi, bileşeni çevreleyen dörtgen, ana eksen uzunluğu, ikincil eksen uzunluğu ve açı değeri gibi özellikleri çıkartılır.

4.3.2.2. RGB, alan ve şekil özelliklerini kullanarak hücre çekirdeği olmayan bileşenleri ayıklama

Çevre ve alan özellikleri imgeyi, arka plan, gürültü, ölçek çizgisi ve kas hücrelerine ait olmayan diğer bileşenlerden filtrelemek için kullanılır. İmgeler içerisindeki hücre çekirdekleri mavi renk ile boyanmaktadır. Mavi renk RGB değerleri kullanılarak filtre edilen imgelerde hücre çekirdeklerinin yanı sıra mavi renk içeren diğer doku bileşenleri de bulanabilmektedir. Bu bileşenleri hücre çekirdeklerinden ayırt edebilmek için bileşenlerin merkez noktaları tespit edilir ve

merkez noktasından sekiz yöne beş piksel kaydırılarak bu piksellerin mavi renk değerleri kontrol edilir. Bu noktalar incelenen bileşenin tam olarak hücre çekirdeği olup olmadığını tespit etmek için kullanılır. Bu filtreyi geçen bileşenler hücre çekirdeği olarak işaretlenir. Şekil 4.17’de hücre çekirdeği olmayan ancak mavi renk değerlerine sahip bileşenlere uygulanan filtre sonucu elde edilen imge Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Elde edilen imge büyük oranda sadece hücre çekirdeği içermektedir.

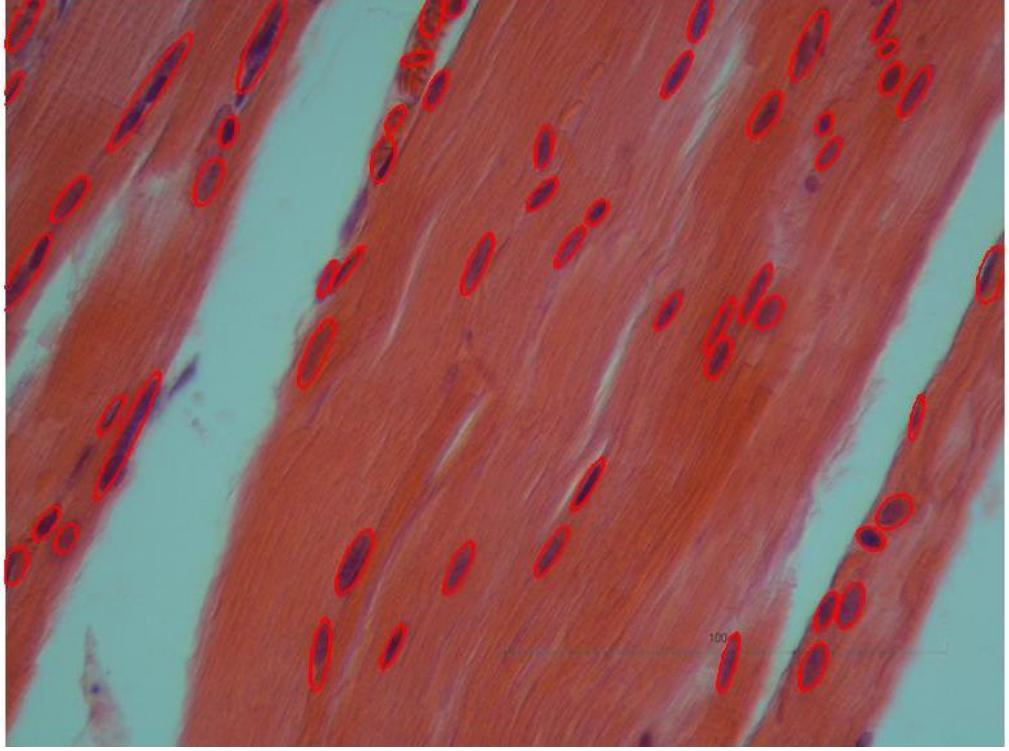


Şekil 4.18. Hücre çekirdeklerini içeren diğer bileşenler, arka plan ve gürültüden arındırılmış imge

4.3.2.3. Ortalama hücre çekirdek sayısını ve uzunluğunu hesaplama

İmge filtrelenip sadece hücre çekirdeklerini barındıran imge elde edildiğinde;

- İmge içerisindeki hücre çekirdekleri sayılır.
- Bir hücre çekirdeğinin ana eksenini, çekirdek uzunluğu olarak kaydedilerek ortalama çekirdek uzunluğu parametresi hesaplanır.
- Hücre çekirdeğinin x eksenini ile yaptığı açı hesaplanır.
- Şekil 4.19’da gösterildiği gibi, tespit edilen çekirdekler kırmızı daire içine alınarak gösterilir.



Şekil 4.19. Tespit edilen çekirdekler orijinal imge üzerinde kırmızı daire ile gösterilmiştir

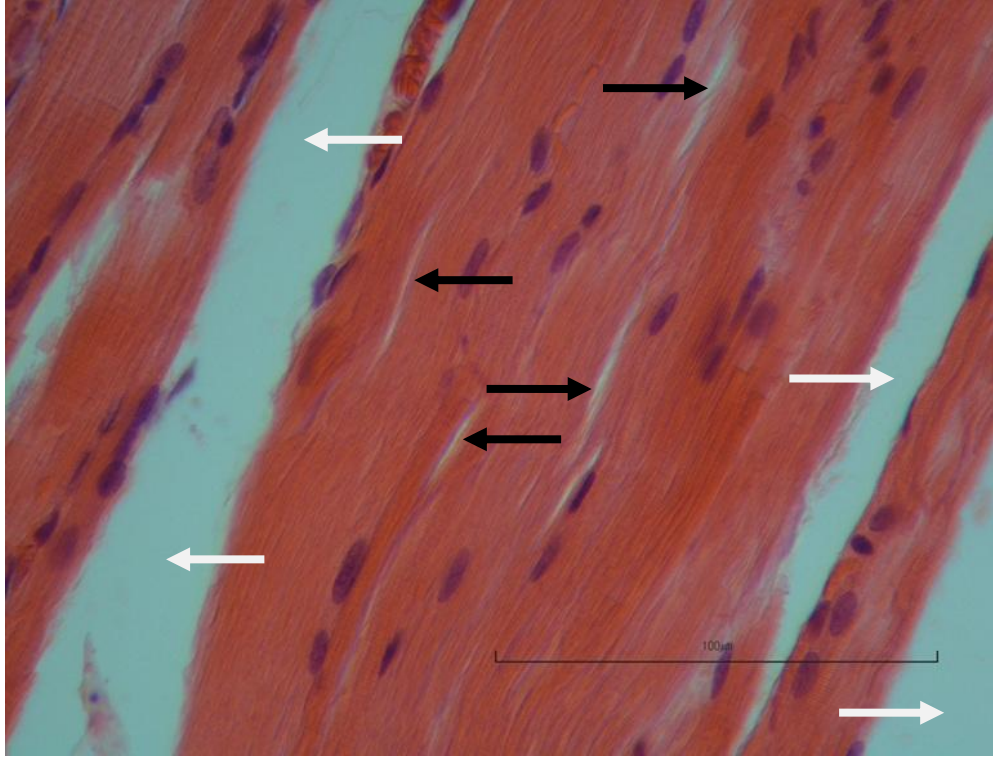
4.3.2.4. Üst üste gelen çekirdekleri hesaplama

Hücre çekirdeklerinin sayısı hesaplanırken, üst üste gelen çekirdekler ve çok büyük algılanan hücre çekirdeklerinin de dikkate alınması gerekir. Hücre çekirdeklerinin sayısının doğru sayılabilmesi için, imge içerisindeki hücrelerin çekirdek uzunluklarının ortalaması hesaplanır. Daha sonra her bir çekirdeğin uzunluğu, tek tek ortalama ile karşılaştırılır. Algılanan çekirdek uzunluğu ortalamanın iki katı veya daha fazla uzunlukta ise, hücre çekirdeği sayısı buna göre artırılır. Böylece hücre çekirdeklerinin sayımındaki doğruluk artırılır.

4.3.3. Hüresel Olmayan Alanları Çıkarma

4.3.3.1. Çekirdek sayısının doku alanına oranını hesaplama

Önerilen BDT sistemi imgelerdeki dokular üzerinde bulunan çekirdeklerin sayısını hesaplar. Farklı imgeler farklı doku alanları içerirler ve birçok imge, Şekil 4.20’te beyaz oklar ile gösterilmiş doku parçası olmayan alanları içerir.

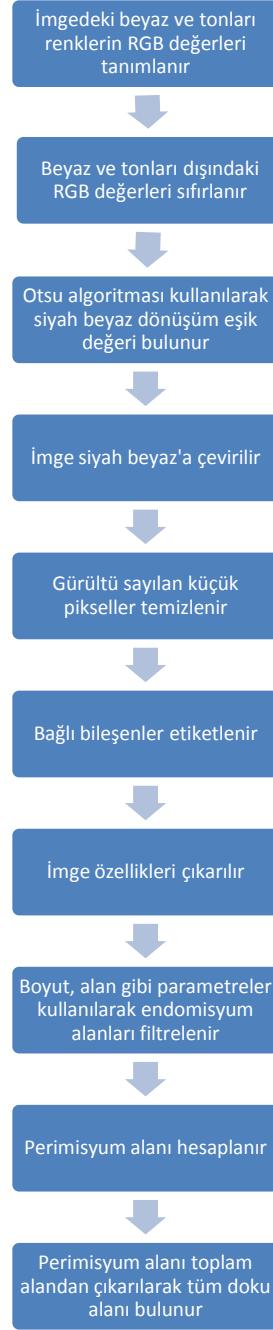


Şekil 4.20. Perimisyum alanları beyaz, endomisyum alanları ise siyah oklar ile gösterilmiştir

Şekilde görülen beyaz tonlarındaki renk değerlerine sahip alanlar kas dokusundan farklı olarak bağ dokusundan oluşur. Küçük beyaz alanlara endomisyum (her kas lifini saran katman, Şekil 4.20’de siyah oklar ile gösterilmiştir) ve nispeten daha geniş olan beyaz alanlar ise perimisyum (kas lif gruplarını saran katman, Şekil 4.20’de beyaz oklar ile gösterilmiştir) olarak adlandırılır. Endomisyum, kas hücreleri etrafındaki oldukça ince yapıda bağ dokusu alanları olup, ışık mikroskopundaki kullanılan mevcut büyütme değerlerinde hücre sınırlarından bağımsız olarak ayırt edilememektedir. Perimisyum ise kas hücre demetleri etrafında endomisyumdan daha geniş bağ dokusu alanlar olup mevcut büyütme değerlerinde kas dokusundan ayrımı mümkündür. Bu nedenle imgeler içerisindeki perimisyum alanları çıkarılacaktır.

İmge içerisindeki perimisyum alanlarının tespit edilip elimine edilmesi ile kas dokusu alanı hesaplanabilir. Her imge farklı doku alanına sahip olduğundan, çekirdek sayısı birim doku alanına düşen çekirdek olarak ifade edilmelidir. Tüm imgeye düşen çekirdek sayısını bulmaktan ziyade birim kas dokusu alanına düşen çekirdek sayısını hesaplamak daha doğru bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir. Bu değer genellikle 0.000001 ile 0,00015 arasında değişmektedir. Bu ondalık değer

okuma kolaylığı açısından 1 milyon ile çarpılarak normalize edilir. Genel olarak, kas doku alanına düşen çekirdeklerin oranı 1.000.000 piksel kare doku alanına düşen çekirdek olarak ifade edilmiştir. Perimisyum alanını bulmak için takip edilen adımlar Şekil 4.21'deki akış diyagramında gösterilmiştir.



Şekil 4.21. Perimisyum alanlarını hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı

Perimisyum alanlarının renkleri (gri / beyaz tonları) diğer doku bileşenlerinden farklı olduğundan, bu renklerin RGB değerleri eşikleme algoritmasında ayırt edici özellik olarak kullanılabilir.

Ancak, dokuların endomisyum alanları perimisyum alanları ile benzer RGB renk değerlerini paylaşmaktadır. Bu nedenle; alan, bileşeni çevreleyen dörtgen, ikincil eksen uzunluğu ve bağlı piksellerin devamlılıkları parametreleri perimisyum alanlarını endomisyum alanlarından ayırştırmak için kullanılabilir. Perimisyum alanlarını hesaplamak ve elimine etmek için adımlar aşığıdaki gibidir:

- Perimisyum alanları RGB renk modeli kullanan bir eşikleme (thresholding) algoritması ile tespit edilir.
- İmgeyi siyah-beyaz'a dönüştürmek için Otsu yöntemi kullanılarak eşik değeri bulunur. (Global image thresholding)
- Bulunan eşik değeri kullanılarak imge siyah beyaza dönüştürülür.
- Elde edilen imgedeki bileşenlerinin alan, bileşeni çevreleyen dörtgen, ikincil eksen uzunluğu ve bağlı piksellerin devamlılıkları parametreleri çıkarılır. Elde edilen değerler bir eşik değeri ile karşılaştırılarak endomisyum alanları elimine edilir ve imge sadece perimisyum alanlarını barındırır.

Şekil 4.22 sadece perimisyum alanını barındıran bir imgeyi göstermektedir.



Şekil 4.22. İmgedeki perimisyum alanları

- Bu alan imgedeki dokuların toplam alanını hesaplamak için tüm imge alanından çıkartılır. Bu hesaplama denklem 4.4 ile verilmiştir.

$$Doku Alanı = (R \times C) - A \text{ (Piksel kare olarak)} \quad (4.4)$$

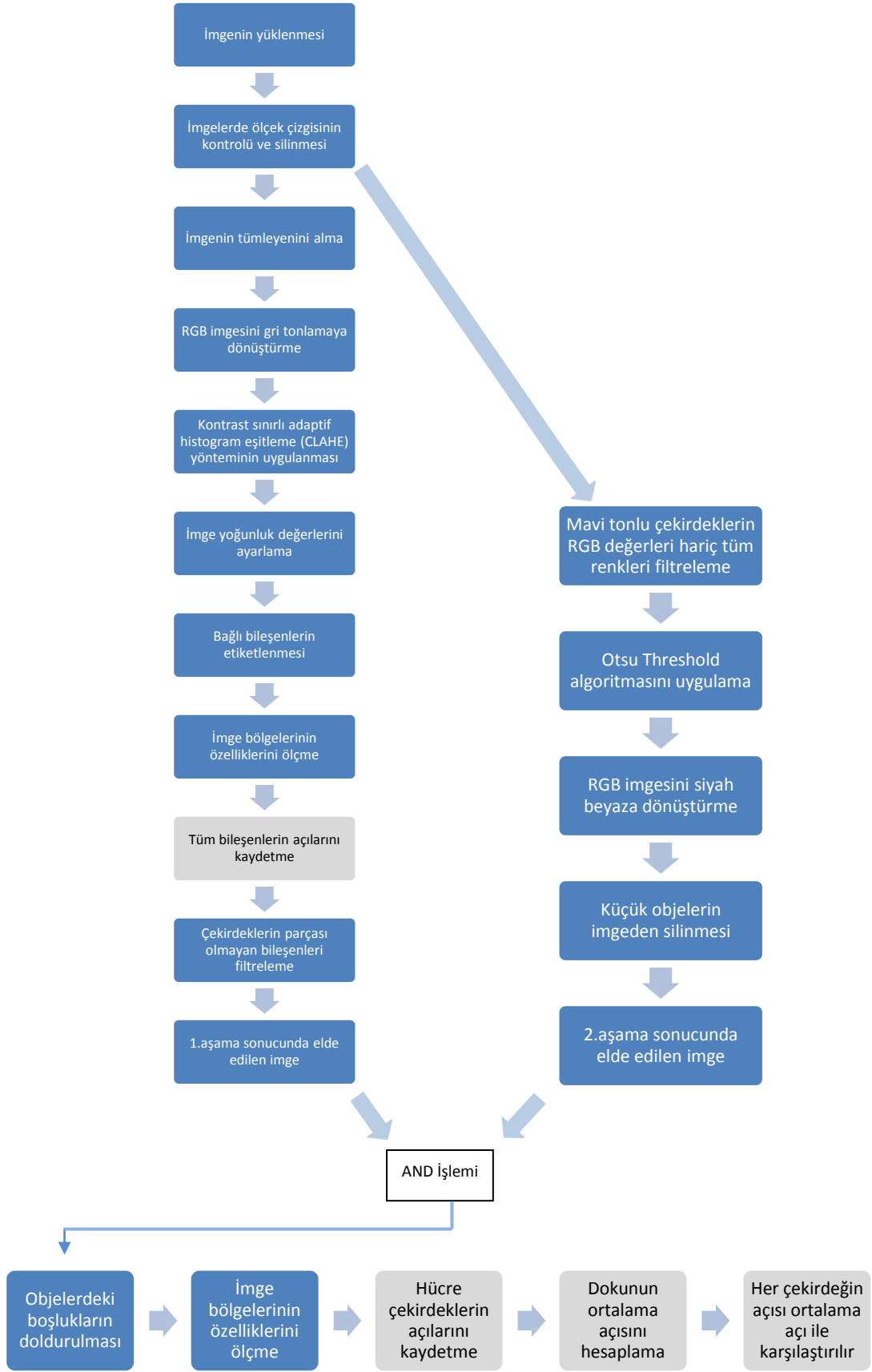
A = Arka plan alanı (Piksel kare olarak)

R = İmge satırları (Piksel olarak)

C = İmge sütunları (Piksel olarak)

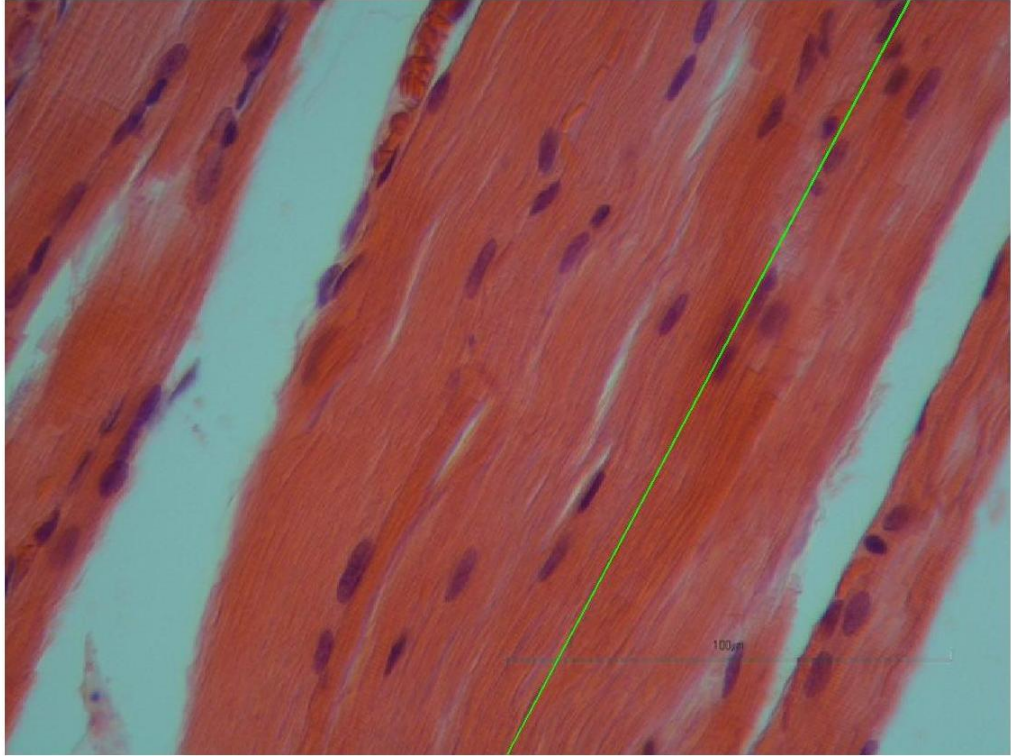
4.4. Ortalama Paralel Çekirdek Oranı

İmge içerisindeki doku bileşenleri incelendiğinde, çoğu bileşenin belirli bir açı derecesinde eğimli oldukları görülmektedir. Bileşenlerin paralel olduğu bu açı hesaplanarak dokudaki hücre çekirdeklerinin bu açıyla olan ilişkisi incelenecektir. Bu ilişkinin gruplar arasında herhangi bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Şekil 4.23 önerilen algoritmanın akış diyagramını göstermektedir. Akış diyagramında mavi adımların işlevleri bölüm 4.3.1 içerisinde açıklanmıştır.



Şekil 4.23. Ortalama paralel çekirdek oranını hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı

Ortalama paralel çekirdek oranı değerini hesaplamak için, tüm doku bileşenlerinin x eksenine ile yaptıkları açı (-90 ile 90 derece) ve bu açılarının imge içerisindeki tekrar sayısı hesaplanır. Bu hesaplama algoritma içerisinde “Tüm bileşenlerin açılarını kaydetme” adımıyla çıkarılır. Elde edilen açı değerleri tekrar sayısına göre çoktan aza doğru sıralanır. En sık görülen beş açı ve frekansları dikkate alınarak ortalama açı değeri hesaplanır. Şekil 4.24’te imgenin hesaplanan ortalama açı değeri yeşil çizgi ile gösterilmiştir.



Şekil 4.24. İmgenin ortalama açısı yeşil çizgi ile gösterilmiştir

Hücre çekirdeklerinin açı değerleri ortalama açı ile karşılaştırılır. Çekirdek açısı ile ortalama açı arasındaki fark 10 derece veya daha az ise, çekirdek ortalama açıya paralel olarak kabul edilir. Denklem 4.5’teki koşul gerçekleştiğinde paralel hücre çekirdeğinin sayısı bir artırılır:

$$(\varphi - \text{tolerans}) < \gamma < (\varphi + \text{tolerans}) \quad (4.5)$$

Burada φ : bileşenin açı değerini; γ : ortalama açı değerini göstermektedir.

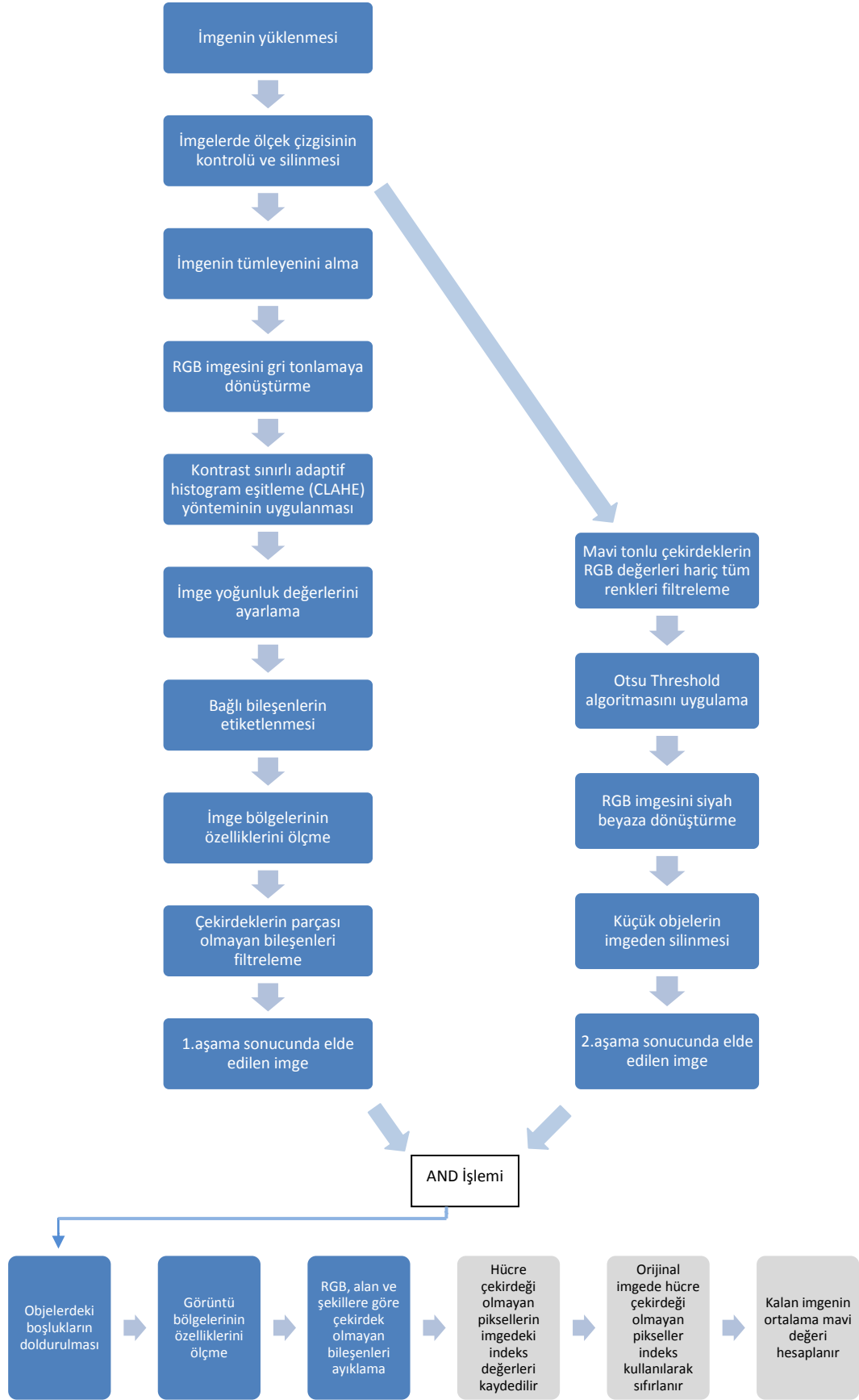
Paralel çekirdek oranı denklem 4.6 kullanılarak hesaplanır:

$$PÇY = 100 \times \left(\frac{PÇS}{TÇS} \right) \quad (4.6)$$

Burada PÇY: paralel çekirdek yüzdesini; PÇS: paralel çekirdek sayısını ve TÇS: toplam çekirdek sayısını göstermektedir.

4.5. RGB Renk Modelinde Mavi Renk Yoğunluğu

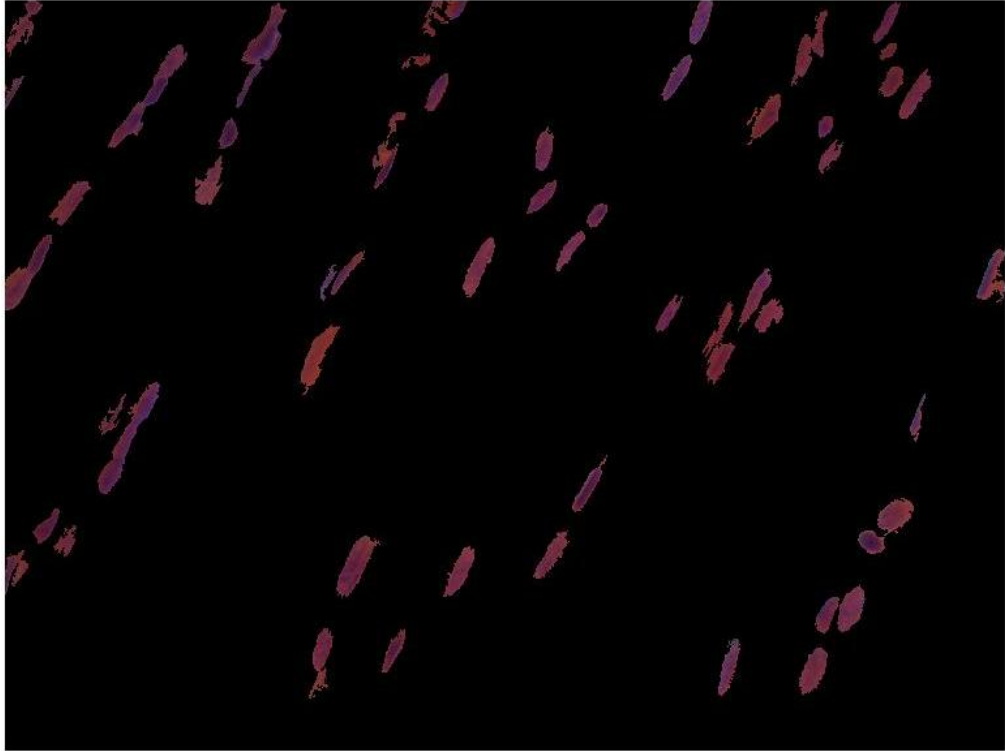
Bu aşama aynı zamanda mavi ve tonlarıyla boyanan hücre çekirdeklerinin farklı yoğunluk değerlerinin, gruplar arasında herhangi bir önemi olup olmadığını araştırmayı amaçlamaktadır. Şekil 4.25, imgelerin ortalama mavi renk yoğunluğunu hesaplamak için önerilen algoritmanın akış diyagramını göstermektedir. Akış diyagramında mavi adımların detayları bölüm 4.3.1 içerisinde açıklanmıştır.



Şekil 4.25. Mavi renk yoğunluğunu hesaplamak için tasarlanan akış diyagramı

- Hücre ekirdeği olmayan bileŗenlerin piksellerinin indeks değerleri çıkarılır.
- Bu değerlerin sıfıra eŗitlenmesiyle sadece mavi ve tonlarında olan hücre çekirdeklerinin değerleri kalır.
- Kalan piksellerin RGB formatında sadece B bileŗeni yani mavi renk değerleri alınır ve mavi renk yoğunluğunun ortalaması hesaplanır.

Bu iŗlemler test imgesine uygulandığında Œekil 4.26'da gösterildiği gibi bir imge oluŗur.



Œekil 4.26. Sadece mavi tonlarına sahip hücre çekirdeklerini gösteren imge

5. DENEYSEL SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

BDT sistemi dört hasarlı ve bir sağlıklı kontrol grubundan oluşan toplamda beş farklı gruptaki histopatolojik imgeler üzerinde çalışmaktadır. Birinci grup kesilmiş sinir segmenti otogreft olarak orijinal sinir parçası yerine konulan dokulardan elde edilen gruptur. İkinci grup hasarlı alan allojenik aort greft (damar) ile doldurulan dokulardan oluşur. Üçüncü grup önce sıçan'ın kulağından bir parça kıkırdak alınarak doğranıp, sonrasında ise allojenik aort greft (damar) içine yerleştirilip, hasarlı bölgeye uygulanmış dokuları barındırmaktadır. Dördüncü grup ise sıçanın kulağından otojen kıkırdak greft alınıp tübülerize edilerek hasarlı bölgeye uygulanmış gruptur.

İmgeler sıçanlardan (Wistar albino) bölüm 2.2.3'te belirtildiği gibi doku hazırlama süreci sonucunda elde edilir. Her bir grupta 106 imge ve toplamda 530 imge bulunmaktadır. İmgelerin çözünürlükleri 768x576 pikseldir.

BDT sisteminin gruplardaki her bir test imgesine uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak incelenmiş olup her bir grup için sonuçların ortalama (\bar{x}) \pm ve standard sapma (s) değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar ortalama (\bar{x}) \pm standard sapma (s) olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiştir. Varyansların homojenliği Levene istatistiği ile hesaplanmıştır. İmgelerdeki doku alanına düşen hücre çekirdeği sayısı (1 milyon piksel kareye düşen), hücre boyu ortalaması, hücrelerin paralellik oranları ve hücrelerin mavi renk yoğunluğu değişkenler açısından 5 grup arası farklılık, tek yönlü varyans analizi ile yapılmıştır. Önemli farklılık tespit edildiğinden çoklu karşılaştırmalar varyanslar homojen olmadığı için Tamhane T2 testi ile yapılmıştır. $p < 0,05$ (tahmin-probability) değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Analizler IBM SPSS Statistics 22.0 programı ile yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 5.1 ile verilmiştir.

Çizelge 5.1. Sonuçların matematiksel gösterimi a: Grup 1'e göre farklı ($p < 0.05$), b: Grup 2'ye göre farklı ($p < 0.05$), c: Grup 3'e göre farklı ($p < 0.05$), d: Grup 4'e göre farklı ($p < 0.05$), e: Kontrol Grubuna göre farklı ($p < 0.05$) f: Sadece aynı renk tonlu imgeler, g: Örnek sayısı 73'e indirgenmiştir (orijinal 106), h: Örnek sayısı 81'e indirgenmiştir (orijinal 106), i: Örnek sayısı 49'a indirgenmiştir (orijinal 106)

Parametrelerin ortalama değerleri	Grup 1	Grup2	Grup3	Grup4	Kontrol Grubu	P değeri
Ortalama Hücre çekirdekleri sayısı	108 $\pm 41^{bcde}$	151 $\pm 35^{acde}$	149 $\pm 49^{abde}$	208 $\pm 65^{abce}$	70 $\pm 26^{abcd}$	<0.0001
Ortalama çekirdek uzunluğu	36 $\pm 3^{bcde}$	37 $\pm 4^{acde}$	38 $\pm 4^{abde}$	37 $\pm 4^{abce}$	43 $\pm 6^{abcd}$	<0.0001
Ortalama paralel çekirdek oranı	62 $\pm 13^{bcde}$	52 $\pm 17^{acde}$	57 $\pm 12^{abde}$	48 $\pm 13^{abce}$	73 $\pm 16^{abcd}$	<0.0001
RGB renk modelinde Mavi renk yoğunluğu	53 $\pm 6^{bcde}$	67 $\pm 9^{acde}$	68 $\pm 12^{abde}$	92 $\pm 13^{abce}$	68 $\pm 22^{abcd}$	<0.0001
Yeniden hesaplanmış RGB renk modelinde Mavi renk yoğunluğu	53 $\pm 6^{bcde}$	67 $\pm 9^{acde}$	63 ^g $\pm 9^{abde}$	97 ^h $\pm 10^{abce}$	47 ⁱ $\pm 9^{abcd}$	<0.0001

Dört parametre üzerinden sadece çekirdek sayısı elle hesaplanabilmektedir. Diğer üç parametreyi hesaplamak için bir bilgisayar destekli algoritma gerekir ve bu parametrelerin elle hesaplanmaları mümkün değildir. Elle sayılan parametrenin doğruluğunu ölçmek için, her gruptan rastgele beş imge seçilip dokudaki hücre çekirdekleri bir uzman tarafından sayılmıştır. Daha sonra bu sayım sonucu, BDT sisteminin ürettiği sonuçlar ile karşılaştırılmış ve aradaki fark yüzde olarak not edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 5.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Rastgele seçilmiş beş imgenin elle ve BDT sistemiyle elde edilen sonuçların karşılaştırılması

Grup ID	Dosya Adı	Manuel olarak Çekirdek sayımı	BDT sistemi Çekirdek sayımı	Manuel Sayım ve BDT arasındaki fark (yüzde olarak)
Grup 1	Image 34	42	43	2,38
Grup 1	image 42	52	53	1,92
Grup 1	image 50	66	61	-7,58
Grup 1	image 58	49	48	-2,04
Grup 1	image 66	63	66	4,76
Grup 2	image 5	65	67	3,08
Grup 2	image 20	75	67	-10,67
Grup 2	image 30	59	55	-6,78
Grup 2	image 38	46	45	-2,17
Grup 2	image 55	81	75	-7,41
Grup 3	image 15	100	99	-1,00
Grup 3	image 25 (2)	34	35	2,94
Grup 3	image 45	65	69	6,15
Grup 3	image 55 (2)	33	28	-15,15
Grup 3	image 64	97	80	-17,53
Grup 4	image 20	106	107	0,94
Grup 4	image 28	112	85	-24,11
Grup 4	image 37 (2)	67	69	2,99
Grup 4	image 40 (2)	48	49	2,08
Grup 4	image 2 (2)	99	96	-3,03
Kontrol	image 2	27	29	7,41
Kontrol	image 17	30	30	0,00
Kontrol	image 14	32	36	12,50
Kontrol	image 20	28	29	3,57
Kontrol	image 40	28	26	-7,14

Hasarın en yoğun olduğu grupta bazı kas hücre çekirdekleri aşırı dilate görünümünde olup olağan şekillerinden ileri derecede sapma göstermektedir ve bu çekirdeklerde mavi renk boyama yoğunluğu oldukça düşük gözlenmiştir. Bu tip çekirdekler çok açık mavi renkli olduğundan BDT sistemi bu çekirdekleri algılayamamaktadır. Bu nedenle, çizelge 5.2'de sunulan bazı manuel sayım ve BDT sistemi sayımları arasında daha büyük fark vardır. Çizelgeye bakıldığında manuel ve otomatik sayma arasında %0 ila %24 arası değişen sonuçlar bulunmaktadır. En büyük fark olan %24 sonucunun bulunduğu görüntünün, yukarıda belirtilen özelliklere haiz hasarlı hücre çekirdeklerine sahip olduğu görülmüştür. Manuel sayım ile BDT sistemi arasındaki sayım farklarının ortalaması aşağıda Çizelge 5.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. El ile ve BDT sistemi ile sayım arasındaki farkın gruplara göre ortalamaları

Grup ID	Manuel Sayım ve BDT sayımı arasındaki farkın ortalaması (yüzde olarak)
Grup 1	% 3,74
Grup 2	% 6,02
Grup 3	% 8,55
Grup 4	% 6,63
Kontrol	% 6,12

6. SONUÇLAR

Sonuçlar incelendiğinde sağlıklı olmayan gruplarda hücre çekirdeklerinin sayısında artış olduğu görülmektedir. Bu, hücrelerin birbirlerine yaklaşımları diğer bir deyişle hücrelerin küçülüp büzüşmelerinden kaynaklanmaktadır. Hasarlı grupların sonuçları kontrol (sağlıklı) grubu ile karşılaştırıldığında sinir otogreft içeren Grup 1'in kontrol grubuna en yakın sonuçlara sahip olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan, Grup 4'ün, ortalama değerlerden en uzak değerleri içerdiği görülmüştür. Ayrıca sonuçlardan Grup 2 ve Grup 3'ün birbirine çok benzer olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar, bu konu üzerinde yapılan benzer bir çalışma ile tutarlılık göstermektedir [6]. “*Comparison of Nerve, Vessel, and Cartilage Grafts in Promoting Peripheral Nerve Regeneration*” başlıklı çalışmada sinir rejenerasyonu açısından sağlıklı gruba en yakın grubun otogreft (grup 1) yani kesilen sinir parçasının tekrar kesilen yere konumlandırılmasından oluşan imgeler grubu olduğu görülmüştür. Öte yandan, sinir rejenerasyonu açısından sağlıklı gruba en uzak değerlere sahip olan grubun hasar sinir bölgesine kıkırdak greft (grup 4) konulan grup olduğu bildirilmektedir.

RGB modelinde mavi renk ortalama yoğunluğu ilk başta birinci ve üçüncü sonuçlar (sırasıyla hücre çekirdekleri sayısının ortalama değerleri ve ortalama paralel çekirdek oranı) ile tutarlı değildi. İncelemeler sonucunda bunun sebebinin imgelerin çok çeşitli parlaklık ve kontrast değerlerine sahip olmaları olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle, benzer parlaklık ve kontrast içeren imgeler gruplandırılmış ve mavi renk yoğunluğu parametresi bu gruplar için tekrar hesaplanmıştır. Yeniden hesaplamadan sonra elde edilen sonuçlar, birinci ve üçüncü deney sonuçları ile tutarlıdır. Bu nedenle, RGB modelinde Mavi Renk ortalama yoğunluğunun bir sistem parametresi olarak bu çalışmanın bulgularına katkıda bulunduğunu söyleyebiliriz.

Sonuçlar dört parametreden üçünün gruplar arasında belirleyici özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu parametreler: birim kas doku alanındaki hücre çekirdekleri sayısı, ortalama paralel çekirdek oranı ve RGB renk modelinde mavi renk yoğunluğu. Ortalama hücre çekirdeği uzunluğu değerlerinin gruplar arasında herhangi bir belirleyicilik göstermediği anlaşılmıştır. Bu parametre tüm gruplarda oldukça benzerlik göstermiştir. Bu yüzden sağlıklı gruba en yakın olan grubun bulunmasında bu parametre göz önünde bulundurulmamıştır.

Önerilen BDT sistemi, her bir grup için, hücre çekirdeklerinin ortalama sayısı, ortalama uzunluğu, paralellik oranı ve mavi yoğunluğu parametreleri hakkında nicel değerler sağlayarak, grupların performansı hakkında öznel karar vermeyi ortadan kaldırarak uzmana objektif değerlendirme imkânı sunmaktadır. Ayrıca önerilen BDT sistemi tanılama sürecinde doktorlara daha fazla güven sağlamakta, iş yükünü azaltarak bu süreci hızlandırmaktadır.

Önerilen BDT sistemi, sonuçlar bölümünde görüldüğü gibi iyi bir performans ile çalışmaktadır. Her bir grup için parametrelerin ve toleransların el ile ayarlanması durumunda, gruplar için sonuçların hassasiyeti artacaktır.

7. KAYNAKLAR

- [1] Metin N. Gurcan, Laura E. Boucheron, Ali Can, Anant Madabhushi, Nasir M. Rajpoot, and Bulent Yener, *Histopathological Image Analysis: A Review* **IEEE Reviews In Biomedical Engineering**, 2 (2009) 147.
- [2] Karthikeyan Ganesan, U. Rajendra Acharya, Chua Kuang Chua, *Computer-Aided Breast Cancer Detection Using, Mammograms: A Review* **IEEE Reviews In Biomedical Engineering**, 6 (2013) 77.
- [3] Pasquale Foggia, Gennaro Percannella, Paolo Soda, and Mario Vento, *Benchmarking HEP-2 Cells Classification Methods* **IEEE Transactions On Medical Imaging**, 32:10 (2013) 1878.
- [4] A.Tartar, N. Kılıç, A.Akan, *A New Method for Pulmonary Nodule Detection using Decision Trees*, 35th Annual International Conference of the IEEE EMBS, Osaka, Japan, 3-7 July, (2013) 7355.
- [5] Nikhil S. Narayan¹, Pina Marziliano¹ and Christopher G.L. Hobbs, *Automatic Removal of Manually Induced Artefacts in Ultrasound Images of Thyroid Gland*, 35th Annual International Conference of the IEEE EMBS, Osaka, Japan, 3-7 July, (2013) 3399.
- [6] Cemal Fırat, MD, Yılmaz Geyik, MD, Ahmet Hamdi Aytekin, MD, Mehmet Gül, PhD, Suat Kamışlı, MD, Birgül Yiğitcan, PhD and Cemal Özcan, MD *Comparison of Nerve, Vessel, and Cartilage Grafts in Promoting Peripheral Nerve Regeneration*”, **Annals of Plastic Surgery**, (2013) 5.
- [7] Mostafa Mohamed A. Mohamed, Behrouz Far, *A Fast Technique for White Blood Cells Nuclei Automatic Segmentation Based on Gram-Schmidt Orthogonalization*, IEEE 24th International Conference on Tools with Artificial Intelligence, IEEE, Athens, Greece, (Volume:1), 7-9 Nov, (2012) 947.
- [8] Cheng Lu, and Mrinal Mandal, *Toward Automatic Mitotic Cell Detection and Segmentation in Multispectral Histopathological Images*, **IEEE Journal Of Biomedical And Health Informatics**, IEEE, Vol. 18, No. 2, March (2014) 594
- [9] Anonymous, <http://sinaubiologi.com/wp-content/uploads/2013/11/struktur-otot-lurik.png> (on-line access on 02.06.2014).
- [10] L.Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Robert O.Kelley, *Temel Histoloji Barış Kitabevi*, (1993) 231-253.
- [11] Dr. Aliye ERKOÇAK, *Genel Histoloji* Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, (1975) 259-275.
- [12] Ayşe Yüzbaşıoğlu, *Dejenerasyon sürecindeki kas dokusunda housekeeping genlerin ekspresyon düzeyinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi BiyoTeknoloji Enstitüsü, Ankara, 2008.
- [13] Mehmet Sezgin, Bülent Sankur, *Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation*, **Journal of Electronic Imaging**, January (2004) 13:1 149.
- [14] H. P. Ng, S. H. Ong, K. W. C. Foong, P. S. Goh, and W. L. Nowinski, *Medical image segmentation using K-means clustering and improved watershed algorithm*, Image Analysis and Interpretation, 2006 IEEE Southwest Symposium, Denver, CO, 26-28 March (2006) 61–65.

- [15] L. Shafarenko, M. Petrou, and J. Kittler, *Automatic watershed segmentation of randomly textured color images*, **IEEE Transactions on Image Processing**, **IEEE**, 6:11, Nov. (1997) 1530–1544.
- [16] K.-S. Chuang, H.-L. Tzeng, S. Chen, J. Wu, and T.-J. Chen, *Fuzzy c-means clustering with spatial information for image segmentation*, **Computerized Medical Imaging and Graphics**, 30:1 (2006) 9–15.
- [17] D.-Q. Zhang and S.-C. Chen, *A novel kernelized fuzzy c-means algorithm with application in medical image segmentation*, **Artificial Intelligence in Medicine**, 32:1 (2004) 37–50.
- [18] T. W. Ridler and S. Calvard, *Picture thresholding using an iterative selection method*, **IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics**, 8:8 August (1978) 630–632.
- [19] G.Karthigai Lakshmi, K.Krishnaveni, *Multiple feature extraction from Cervical cytology images by Gaussian mixture model*” Computing and Communication Technologies (WCCCT), 2014 World Congress, IEEE, Trichirappalli, India, Feb 27-March 1 (2014) 309.
- [20] Jian Zhu, Hanshi Wang, *An improved K-means Clustering Algorithm*, Information Management and Engineering (ICIME), The 2nd IEEE International Conference, IEEE, Chengdu, China, 16-18 April, (2010) 190.
- [21] S. Waheed R. A. Moffitt Q. Chaudry, A. N. Young, and M.D. Wang, *Computer Aided Histopathological Classification of Cancer Subtypes*, Bioinformatics and Bioengineering, Proceedings of the 7th IEEE International Conference. IEEE, Boston, MA, 14-17 Oct (2007) 505.
- [22] Vasif V. Nabiyev, Tolga Karadeniz, *Periferik Yayma Sonuçlarının Bilgisayarda Yorumlanması* 1. Mühendislik ve Teknoloji Sempozyumu, Çankaya Üniversitesi / ANKARA, 24-25 Nisan (2008) 59-69.
- [23] Manoj Kumar V, Sumithra M G, *An improved region growing based segmentation algorithm for brain MRF*”, **Elixir International Journal**, (2013) 14120.
- [24] Rafael C. Gonzalez, Richard E.Woods, *Digital Image Processing*, Addison-Wesley, 1993.
- [25] Tranos Zuva, Oludayo O. Olugbara, Sunday O. Ojo, Seleman M. Ngwira, *Image Segmentation, Available Techniques, Developments and Open Issues*, **Canadian Journal on Image Processing and Computer Vision**, 2:3 March (2011) 23-25.
- [26] Neeraj Sharma and Lalit M. Aggarwal, *Automated medical image segmentation techniques*, **Journal of Medical Physics**, 35:1 Jan-Mar (2010) 3–14.
- [27] Anonymous, <http://www.cs.uu.nl/docs/vakken/ibv/reader/chapter10.pdf> (on-line access on 18.06.2014).
- [28] Dr. L. B. Mahanta, Kangkana Bora *Analysis of Malignant Cervical Cells Based on N/C Ratio Using Pap Smear Images* **International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering**, 2:11 November (2012) 342.
- [29] Baraa K Al-Khazraji, Philip J Medeiros, Nicole M Novielli, Dwayne N Jackson, *An automated cell-counting algorithm for fluorescently-stained cells in migration assays*, **Biological Procedures Online**, 13:9 October (2011) 1-2.
- [30] Ranjeet Singh Tomar, Tripty Singh, Dr Sulochana Wadhvani and Dr. Sarita Singh Bhadoria, *Analysis of Breast Cancer Using Image Processing Techniques*,

- Third UKSim European Symposium on Computer Modeling and Simulation, IEEE, Athens, Greece, 25-27 Nov (2009) 252.
- [31] Zuiderveld, Karel. *Graphic Gems IV*. Academic Press Professional, San Diego, CA, 1994, 476.
- [32] Mathworks, <http://www.mathworks.com/help/images/ref/regionprops.html> (online access on 06.06.2014).
- [33] Saima Rathore, Mutawarra Hussain, Ahmad Ali, and Asifullah Khan, *A Recent Survey on Colon Cancer Detection Techniques*, **IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics**, IEEE,10:3 May/June (2013) 551.
- [34] Danilo Medeiros Eler, Rogério Eduardo Garcia, *Using Otsu's Threshold Selection Method for Eliminating Terms in Vector Space Model Computation*, 17th International Conference on Information Visualisation, IEEE, London, UK, 16-18 July (2013), 221.

8. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Mustafa NURMUHAMMED

Doğum Yılı: 1982

Adres: Turgut Özal Mah. Yeşilyurt / MALATYA

E-Posta: mustafamn@gmail.com

Lisans: University of Michigan-Dearborn, (Michigan, ABD),
2004, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği

Mesleki Deneyim:

İnönü Üniversitesi Bilgi İşlem D.B.

Haziran 2011– Devam Ediyor Malatya, Türkiye

Mühendis (Bilgisayar)

AES-İC İctaş Enerji Üretim ve Tic A.Ş.

Temmuz 2009 – Mayıs 2011 Ankara, Türkiye

Sistem Mühendisi-Bilgi İşlem Sorumlusu

Industrial Communications (ICOMM) Inc.

Eylül 2006 – Eylül 2008 Wixom, MI, ABD

Ağ Mühendisi / Proje Mühendisi

Computer Integrated Solutions Inc.

Mart 2006 – Haziran 2006 Southfield, MI, ABD

Ağ Yöneticisi

Fusion Tek Inc.

Ekim 2004 – Eylül 2006 Detroit, MI, ABD

Sistem Analiz Uzmanı

Ödüller: AES Global yönetim kurulu üyesi CIO Elizabeth Hackenson tarafından verilen “Global Excellence Award” ödülü - Mart 2011

“High Distinction” (Yüksek Ayrıcalık) ünvanı ile mezun – Mayıs 2004

“Frederick P. and Sharpe Endowed” Bursu 2003-2004 Eğitim yılı